

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 يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : الميكروبيولوجيا التطبيقية
و علوم التغذية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Sciences de
La Nature et de la Vie**
Filière: Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

**Effet de la température et du pH sur la production des
substances antimicrobiennes par *Penicillium chrysogenum***

Membres du Jury

Présidente : Dr. DJABALI S.

Examinateur : Mr. KHENNOUF T.

Encadrante : Dr. AKROUM S.

Présenté par

Mr. BELDJAZIA Abdelkrim.

Mr. KAMAH Abdenacer.



Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

★ Remerciements ★

Tout d'abord, nous rendons grâce au Dieu, le tout-puissant et le Miséricordieux.

Nous remercions tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce projet de fin d'études.

Nous adressons notre profonde reconnaissance à notre encadrante, le Dr. AKROUM, pour ses directives, son temps passé à nous orienter, le partage de ses connaissances, sa confiance et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions. Elle fut d'une aide très précieuse dans les moments les plus délicats.

Nous remercierons aussi les membres de Jury : la présidente Dr. DJABALI et l'examineur Mr. KHENNOUF pour avoir accepté d'évaluer ce travail et apporter leurs précieuses remarques et critiques afin de l'améliorer.

Nous désirons aussi remercier tous nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et particulièrement ceux du département de Microbiologie Appliquée et des Sciences Alimentaires de l'Université de Jijel, qui ont participé à la réussite de nos études universitaires et qui nous ont permis d'arriver à ce stade.

Notre profonde gratitude va aussi à nos très chers parents, qui nous ont toujours réservé de la compréhension, de la tendresse et de l'amour. Nous remercions aussi nos chers sœurs et frères, pour leurs encouragements et leur soutien indéfectible.

De même, nous sommes reconnaissants à nos amis et collègues qui nous ont apporté leur assistance intellectuelle et morale tout au long de nos parcours universitaires.

À tous ces intervenants, nous présentons notre profond respect et notre sincère gratitude.

Table de matières

| | page |
|--|------|
| Liste des abréviations | I |
| Liste des tableaux | II |
| Liste des figures | III |
| Introduction | 1 |
| Chapitre 01 : <i>Penicillium chrysogenum</i> et ses applications industrielles | |
| 1. Présentation de <i>P. chrysogenum</i> | 3 |
| 1.1. Définition du genre <i>Penicillium</i> | 3 |
| 1.2. Définition de <i>P. chrysogenum</i> | 4 |
| 1.3. Morphologie de <i>P. chrysogenum</i> | 4 |
| 2. Intérêts de l'utilisation industrielle des champignons | 6 |
| 3. Utilisations industrielles de <i>P. chrysogenum</i> | 10 |
| Chapitre 02 : Substances antimicrobiennes et les facteurs affectant leur production | |
| 1. Molécules antimicrobiennes produites par <i>P. chrysogenum</i> | 12 |
| 1.1. Pénicillines | 12 |
| 1.2. Céphalosporines | 14 |
| 1.3. Roquefortines | 15 |
| 1.4. Fungisporines | 16 |
| 1.5. Chrysogine | 17 |
| 1.6. Cystine | 18 |
| 1.7. Xanthocilline X | 18 |
| 1.8. Sorbicillinoïdes | 19 |

| | |
|---|----|
| 2. Facteurs qui influencent la production des métabolites antimicrobiens | 20 |
| 2.1. Source de carbone | 21 |
| 2.2. Source d'azote | 21 |
| 2.3. Température | 21 |
| 2.4. pH | 22 |
| 2.5. Agitation | 22 |
| 2.6. Teneur en humidité et activité de l'eau | 22 |
| 2.7. Aération | 22 |
| 2.8. Minéraux | 23 |
| 2.9. Acides gras | 23 |
| 3. Effets du pH et de la température sur les productions de <i>P. chrysogenum</i> | 23 |
| 3.1. Exemples des métabolites produits par <i>P. chrysogenum</i> quand elle est cultivée dans des conditions de pH et de température optimum | 24 |
| 3.2. Productions de <i>P. chrysogenum</i> quand elle est cultivée à pH optimal et température nettement inférieure à l'optimum | 25 |
| 3.3. Métabolites produits par <i>P. chrysogenum</i> quand elle est cultivée à pH et à température défavorables | 26 |
| Conclusion | 28 |
| Références bibliographiques | 29 |
| Glossaire | |

Liste des abréviations

- 6-APA : Acide 6-aminopénicillanique (6-AminoPenicillanic Acid).
- 7-ACA : Acide 7-amino-céphalosporanique (7-AminoCephalosporanic Acid).
- ACVS : δ -(L- α -Amino adipyl) -L Cystéinyl-D-Valine Synthétase.
- CPC : Céphalosporine C.
- CYA : Gélose Czapek à la levure (Czapek Yeast Agar).
- DKP : Diketopiperazine.
- G25N : Gélose au nitrate de glycérol 25% (Glycerol Nitrate agar 25%).
- GR : Glutathion Réductase.
- HTD : Histidyltryptophanyl-dicétopipérazine.
- IAT : Isopénicilline N-acyltransférase.
- IPN : Isopénicilline N.
- IPNS : Isopénicilline N Synthase.
- MDCK : Cellules épithéliales de rein de chien (Madin-Darby Canine Kidney).
- MEA : Gélose à l'extrait de malt (Malt Extract Agar).
- mM : milliMole.
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
- PDA : Gélose au dextrose de pomme de terre (Potato Dextrose Agar).
- Phe : Phénylalanine.
- PKS : Polycétides synthases (Polyketide synthase).
- SDA : Gélose Sabouraud Dextrose (Sabouraud Dextrose Agar).
- SPNR : Synthétases Peptidiques Non Ribosomiques.
- Tyr : Tyrosine.
- Val : Valine.
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

Liste des tableaux

| | page |
|--|------|
| Tableau 1 : Exemples de métabolites produits par les Mycètes et leurs intérêts industriels | 6 |

Liste des figures

| | page |
|---|------|
| Figure 1 : Caractères morphologiques de <i>P. chrysogenum</i> | 3 |
| Figure 2 : Observation microscopique au grossissement x40 de <i>P. chrysogenum</i> coloré au bleu de méthylène | 5 |
| Figure 3 : Aspect macroscopique de <i>P. chrysogenum</i> sur différents milieux de culture | 6 |
| Figure 4 : Biosynthèse des pénicillines | 13 |
| Figure 5 : Structure moléculaire des deux types des pénicillines | 13 |
| Figure 6 : Structure moléculaire de l'amoxicilline | 14 |
| Figure 7 : Biosynthèse de la céphalosporine C | 15 |
| Figure 8 : Voie de biosynthèse de la roquefortine/méléagrine | 16 |
| Figure 9 : Structure moléculaire de la fungisporine | 17 |
| Figure 10 : Structure moléculaire de la chrysogine | 17 |
| Figure 11 : Structure moléculaire de la cystine | 18 |
| Figure 12 : Structure moléculaire de la xanthocilline X | 19 |
| Figure 13 : Biosynthèse des sorbicillinoïdes | 20 |

Introduction

Introduction

Les moisissures sont des microorganismes microscopiques omniprésents dans la nature. Ils ont des effets à la fois positifs et négatifs sur l'environnement et les organismes qui y vivent. Ils sont considérés comme des cellules productrices et sont capables de synthétiser plusieurs substances à activités biologiques (Abd-ElGawad *et al.*, 2020 ; Lončarić *et al.*, 2021).

Penicillium chrysogenum représente l'un de ces champignons. Il se trouve principalement dans le sol et dans les environnements intérieurs (maisons et autres habitations) où il est associé à la détérioration des aliments. La structure de ce dernier est très complexe et son stade de développement affecte directement la production de métabolites primaires et secondaires. Mais, il est facilement contrôlé par des facteurs biotiques et abiotiques au cours des processus de fermentation (Yang, 2007 ; Li *et al.*, 2018).

Ce champignon filamenteux possède une grande importance thérapeutique et pharmaceutique car il est une usine cellulaire prometteuse capable de produire une variété de métabolites à intérêts et est considéré comme une source majeure des pénicillines. Cette dernière représente la plus grande part dans le marché des médicaments anti-infectieux. Cette moisissure est aussi capable de synthétiser d'autres substances secondaires qui sont utilisées dans les domaines médicaux, vétérinaires et agronomiques pour le traitement des différentes maladies. Ces molécules sont utilisées comme agents antimicrobiens, antiviraux, anti-cholestérol, anticancéreux et parfois même cytotoxiques. La production de ces substances est liée au cycle de vie du champignon car elles sont produites en quantité beaucoup plus importante pendant et en fin de croissance. Mais elles sont moins abondantes dans les vieux mycéliums (Domínguez-Santos *et al.*, 2017 ; Guzmán-Chávez *et al.*, 2018 ; Xia *et al.*, 2018). L'espèce *P. chrysogenum* a reçu beaucoup d'attention de la part des scientifiques car elle peut être facilement manipulée génétiquement afin d'optimiser la production des substances à intérêt industriel (Fierro *et al.*, 2022).

Plusieurs paramètres affectent la croissance et la production des métabolites secondaires chez *P. chrysogenum* comme l'aération, la teneur en humidité et la source de carbone. De plus, la température et le degré de pH sont des facteurs critiques pendant la production des substances antimicrobiennes. Dans des valeurs de pH et de température optimales pour la croissance (ou pendant la phase exponentielle), l'espèce active les métabolismes primaires nécessaires pour la croissance et inhibe le métabolisme secondaire. Par contre, quand ces valeurs deviennent défavorables (lors de l'idiophase), *P. chrysogenum* inhibe partiellement ou totalement le métabolisme primaire et déclenche alors le métabolisme secondaire pour la sécrétion des molécules de défense et de résistance au stress. Plusieurs études affirment que le changement des

Introduction

valeurs de pH et de la température affectent directement la croissance mycélienne et les productions de l'espèce (Singh et Chauhan, 2013 ; Kumar *et al.*, 2021 ; Wang *et al.*, 2021).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés exactement à l'effet du pH et de la température sur la biosynthèse des métabolites à activité antimicrobienne par *P. chrysogenum*. Nous avons commencé par faire une recherche sur la structure et l'écologie de l'espèce, puis sur sa culture industrielle et les paramètres qui influencent son métabolisme. Les métabolites produits par *P. chrysogenum* et leur activité anti-infectieuse ont aussi fait l'objet de notre investigation.

Chapitre 01 :

*Penicillium chrysogenum et ses
applications industrielles*

1. Présentation de *P. chrysogenum***1.1. Définition du genre *Penicillium***

Penicillium est un champignon filamenteux imparfait qui appartient au phylum des Ascomycota. Il est largement répandu dans l'environnement et est reconnaissable génétiquement par ses gènes *benA*, *CaM* et *RPB2* (Visagie *et al.*, 2014).

La partie reproductive de *Penicillium* a une forme de pinceau. Et ce dernier peut adopter des formes d'organisation différentes selon le nombre de ramifications entre les sporophores et les conidies. Les sporophores se ramifient en formes très simples ou en formes complexes avec plusieurs niveaux de branchements. Dans ces cas-là, nous avons des modèles globaux symétriques ou asymétriques (Yadav *et al.*, 2018).

Les pénicilles (pinceau) monoverticillés ont un seul verticille qui se termine par des phialides. D'un autre côté, les pénicilles bivercillés possèdent des phialides et des métules, ces dernières peuvent être de longueurs différentes, avec des degrés de divergence variables. Elles sont plus ou moins cylindriques. Les pénicilles terverticillés, quant à eux, possèdent un niveau de ramifications supplémentaire entre le sporophore et les métules. Il y a aussi quelques *Penicillium* qui produisent des pénicilles quaterverticillés (quadriverticillés) comportant un autre niveau de ramification que le modèle des terverticillés (Figure 1). De manière générale, les pinceaux terverticillés et quaterverticillés sont nettement asymétriques (Asthana et Kumar, 2018).

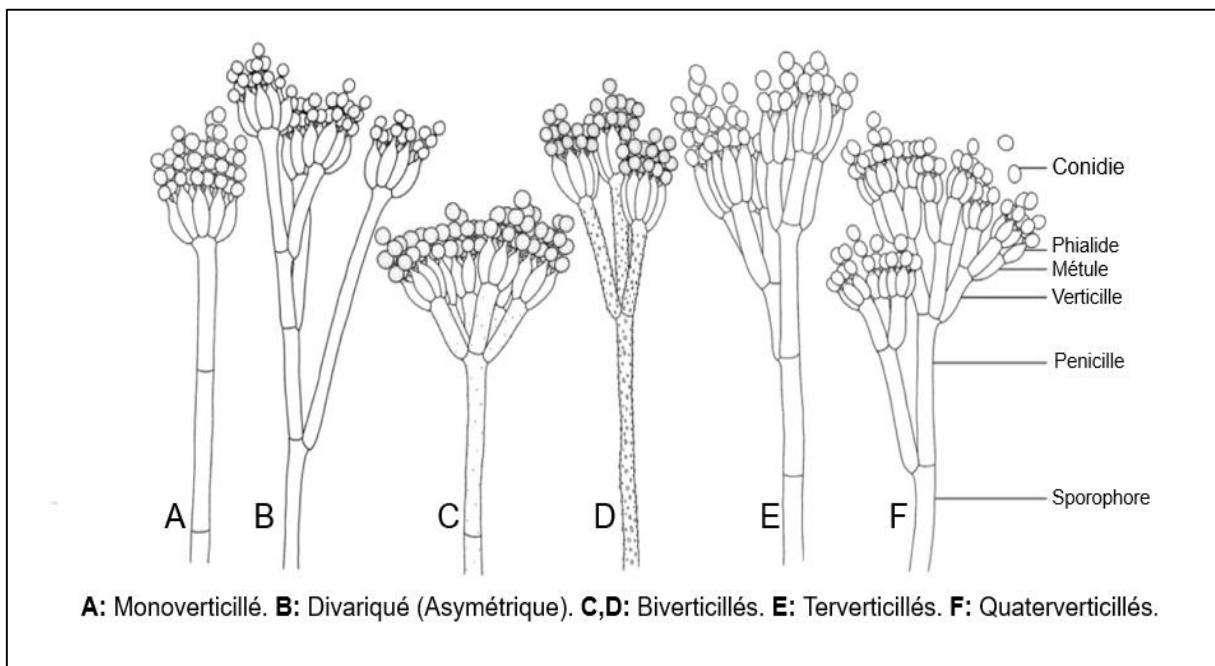


Figure 1 : Caractères morphologiques de *P. chrysogenum* (Asthana et Kumar, 2018).

1.2. Définition de *P. chrysogenum*

L'espèce *P. chrysogenum* survit généralement dans les régions tempérées, subtropicales et dans les régions sous-glaciaires. Elle est saprophyte et est présente dans la poussière, l'air intérieur des habitats et aussi dans divers environnements extrêmes (supporte une basse ou haute température, différents pH et salinités). Elle peut être isolée du sol, des matériaux de construction humides, des océans, des plantes, des céréales (comme le blé et le maïs) et les aliments en décomposition (Yadav *et al.*, 2018 ; de Menezes *et al.*, 2019).

P. chrysogenum est un champignon asexué qui produit des conidies en chaînette (des spores asexuées). Les souches de *P. chrysogenum* se présentent toutes morphologiquement par des hyphes bien développées qui donnent des conidiophores ramifiés et surmontés de conidies. Ces dernières ont des couleurs différentes selon leur milieu de culture (Yadav *et al.*, 2018 ; Ropars *et al.*, 2020).

Selon Houbraken et Samson (2011), *P. chrysogenum* suit la classification suivante :

- Règne : *Fungi*
- Phylum : Ascomycota
- Classe : Euascomycete
- Ordre : Eurotiales
- Famille : Trichomaceae
- Genre : *Penicillium*
- Espèce : *Penicillium chrysogenum*

1.3. Morphologie de *P. chrysogenum*

La morphologie microscopique de *P. chrysogenum* se caractérise par la présence des hyphes étendues et ramifiées, et par des phialides disposées à la terminaison des conidiophores et portées sur des métules qui donnent l'aspect de grappes. Ces phialides produisent de nombreuses conidies sphériques qui apparaissent en chaînettes pour donner une tête conidienne aux formes de pinceau (Figure 02). Ce dernier est terverticillé et asymétrique (Xia *et al.*, 2018).

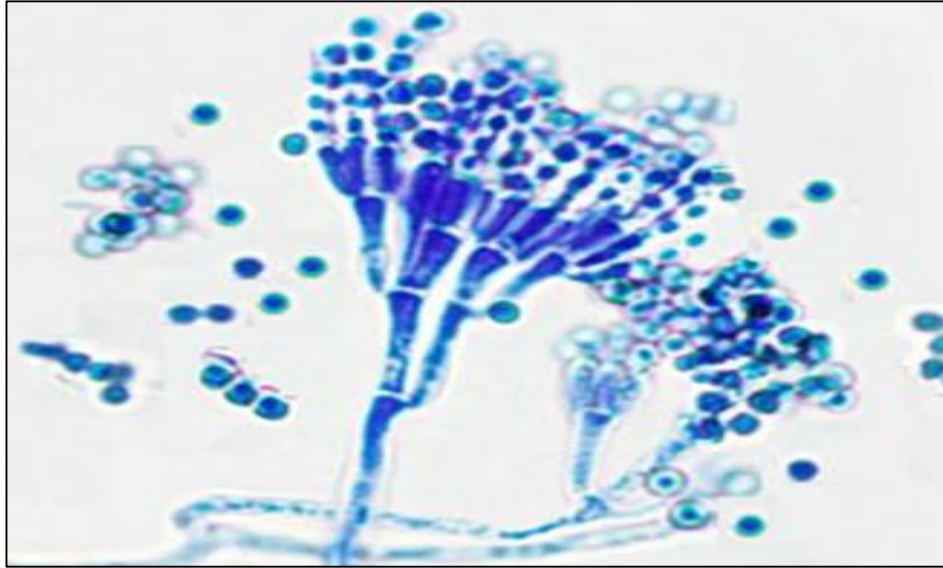


Figure 2 : Observation microscopique au grossissement x40 de *P. chrysogenum* coloré au bleu de méthylène (Sikandar *et al.*, 2020).

La culture de *P. chrysogenum* peut être réalisée sur différents milieux tels que Sabouraud, PDA, CYA, MEA et G25N. En se développant, elle donne des mycéliums colorés différemment et des vitesses de croissance spécifiques à chaque milieu. Après 7 jours d'incubation à 25°C, l'observation de la morphologie et de la couleur peut être indicative de l'espèce (Xia *et al.*, 2018 ; Kolanlarli *et al.*, 2019).

La culture sur le milieu CYA donne des mycéliums fripés d'au moins 35 à 45 mm de diamètre après une semaine d'incubation. Le mycélium tend vers le vert foncé et a une sécrétion d'exsudat transparent ou parfois jaune à verte. Il a une marge blanche qui l'entoure à l'état jeune puis disparaît dans les cultures âgées (Figure 3A) (Alshehri *et al.*, 2020).

Sur le milieu MEA, le mycélium est poudreux et apparaît blanc à jaune avec un diamètre de 25 à 40 mm après 7 jours d'incubation. La conidiogénèse est modérée à dense et de couleur variant du gris-turquoise au vert foncé ou jaunâtre (jaune brun). Le mycélium a une marge grise qui l'entoure (Figure 2B) (Kolanlarli *et al.*, 2019).

Sur le milieu G25N, les mycéliums sont denses, de 18 à 22 mm de diamètre. Ils sont blancs, pâles ou jaunes selon les souches (Figure 3C) (Kolanlarli *et al.*, 2019).

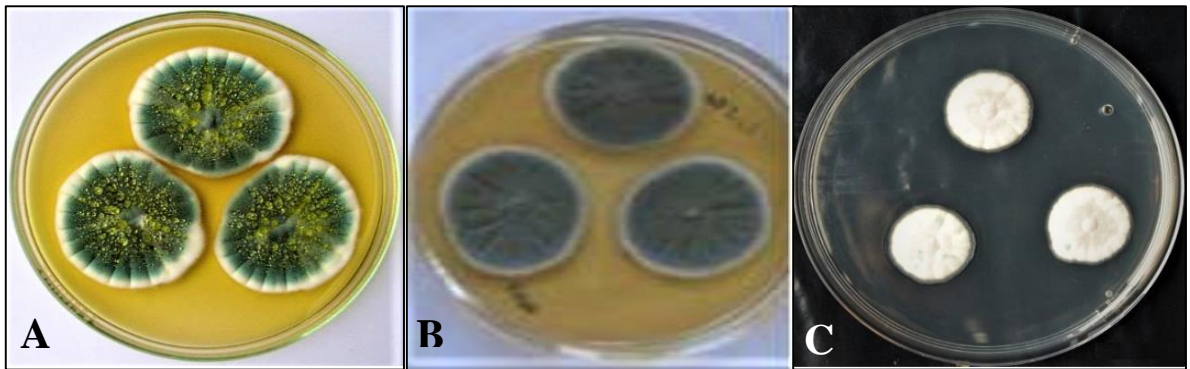


Figure 3 : Aspect macroscopique de *P. chrysogenum* sur différents milieux de culture ; **A** : sur milieu CYA, **B** : sur milieu MEA, **C** : sur milieu G25N (Kolanlarli *et al.*, 2019).

2. Intérêts de l'utilisation industrielle des champignons

Les champignons sont présents dans tous les écosystèmes de la terre ; en effet, chaque environnement renferme une flore diversifiée de Mycètes qui vivent avec les autres microorganismes afin de constituer un équilibre écologique. Les moisissures et les levures représentent les catégories de Mycètes les plus utilisés par l'être humain dans les industries. Ils servent à la fabrication de plusieurs denrées alimentaires comme les levures utilisées pour la fermentation de la farine afin de donner le pain et la fermentation des jus de fruits pour produire les boissons alcoolisées (Liszkowska *et al.*, 2021). Aussi, les moisissures qui permettent l'affinage des fromages de types Roquefort et Camembert, la production des saucissons et la salaison des légumes, dont principalement les olives (Ropars *et al.*, 2020).

Plusieurs champignons sont aussi des producteurs remarquables des métabolites primaires et secondaires tels que les enzymes, les acides, les vitamines, les antibiotiques, etc. Ces productions servent notamment les industries pharmaceutiques, biotechnologiques, alimentaires, agricoles et manufacturières (Tableau 1) (Lata *et al.*, 2019 ; Abd-ElGawad *et al.*, 2020).

Tableau 1 : Exemples de métabolites produits par les Mycètes et leurs intérêts industriels.

| Espèce | Composé produit | Activité du composé | Référence |
|-----------------------|------------------|---------------------|--------------------------------|
| <i>P. chrysogenum</i> | Pénicillines. | Antibiotiques. | Fierro <i>et al.</i> , (2022). |
| | Xanthocilline X. | Anti-cancéreux. | |

| Espèce | Composé produit | Activité du composé | Référence |
|--------------------------|-------------------------------|---|---------------------------------|
| <i>P. brevicompactum</i> | Acide mycophénolique. | Immunosuppresseur. | Vinale <i>et al.</i> , (2020). |
| | Brévianamides A. | Anti-inflammatoires. | |
| <i>P. brasilianum</i> | Isoroquefortine C. | Antifongique. | Fernandez-Bunster, (2021). |
| <i>P. fellutanum</i> | Péniphénylanes A–G. | Cytotoxiques contre les lignées cancéreuses. | |
| <i>P. thymicola</i> | Fumiquinazolines A et B. | Anti-tumoraux. | |
| <i>P. citrinum</i> | Dérivés de benzopyranes. | Antibiotiques. | Zheng <i>et al.</i> , (2016). |
| | Pénitriol G. | Inhibiteur des microorganismes phytopathogènes (agissent contre les protéases). | Sun <i>et al.</i> , (2014). |
| <i>P. copticola</i> | Sesquiterpènes éremophilanes. | Antifongiques. | Fernandez-Bunster, (2021). |
| <i>P. roqueforti</i> | Roquefortine. | Mycotoxine antimicrobienne. | |
| <i>P. coprobium</i> | Pyripyropène. | Anti-cholestérols. | |
| <i>Aspergillus Niger</i> | α -amylase. | Hydrolyseur des polysaccharides (en brasserie, boissons, textile et pâte à papier). | Mohamed <i>et al.</i> , (2021). |
| | Catalase. | Antioxydant (agroalimentaire, textile et production de caoutchouc). | |
| | Cellulase. | Dégrade la cellulose (production de boissons, de détergents, de textiles et de pâtes à papier). | |
| | Esterase. | Hydrolyseur des esters (fabrication de parfums et cosmétiques). | |

| Espèce | Composé produit | Activité du composé | Référence |
|---------------------------------|-----------------------------------|--|---------------------------------|
| <i>A. Niger</i> | Inulinase. | Hydrolyseur de l'inuline (production de l'éthanol). | Mohamed <i>et al.</i> , (2021). |
| | Acide citrique. | Acidifiant et conservateur (additif alimentaire, industries cosmétiques et pharmaceutiques). | |
| <i>A. oryzae</i> | Lipase. | Dégradation des triglycérides (industries alimentaires, détergentes et textiles). | Park <i>et al.</i> , (2017). |
| | Glutaminase. | Hydrolyseur de la glutamine (fermentation de la sauce soja). | |
| | Acide kojique. | Antibiotique, antioxydant et additif alimentaire. | |
| <i>A. melleus</i> | AMP désaminase. | Hydrolyseur de l'AMP (production d'aliments et de boissons). | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Invertase. | Hydrolyseur du saccharose (additif alimentaire et chimique). | Leo <i>et al.</i> , (2021). |
| | Vitamines B1, B2, B3 et B6. | Industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. | |
| | Utilisée telle quelle (biomasse). | Complément alimentaire (industries pharmaceutiques et alimentaires). | |
| <i>S. boulardii</i> | Glutathion. | Antioxydant très puissant (industries pharmaceutiques et thérapeutiques). | Chan <i>et Liu</i> , (2022). |
| | Acide caprique. | Antifongique. | |

| Espèce | Composé produit | Activité du composé | Référence |
|---------------------------------|---------------------------------------|---|------------------------------------|
| | Flavipine. | Antimicrobien (antifongique, anti-algal, anti-nématode, anti-oomycète). | |
| <i>Epicoccum spp</i> | Melleine. | Antibactérien, antifongique, antialgal et antiparasitaire. | Abed, (2021). |
| | Epicoccines A–T et ent-epiccoccine G. | A : active contre <i>Bacillus subtilis</i> ; G-H : inhibiteurs de la réplication du VIH-1 ; E, J, M, S : anti-inflammatoires. | |
| <i>Fusarium verticillioides</i> | Endoglucanase et xylanase. | Hydrolyseurs de la cellulose (production de biocarburants). | de Almeida <i>et al.</i> , (2014). |
| <i>Cordyceps sinensis</i> | Cordycépine. | Anticancéreux et anti-tumoral. | Soltani <i>et al.</i> , (2017). |

Les champignons offrent une productivité élevée grâce à leur grande vitesse de croissance et leur métabolisme très actif et rapide, et ce avec un faible coût de production. En effet, ils sont très peu exigeants et se cultivent parfaitement sur des milieux de routine et dans des conditions physico-chimiques faciles à fournir. De plus, les taux de productions sont très élevés et ce même avec des sources nutritives bon marché ou carrément des déchets industriels comme le lactosérum, les matières amylacées résiduelles, les déchets de papeteries, les rejets domestiques, etc. (Modesto *et al.*, 2021). Les champignons apportent aussi l'avantage de la disponibilité car ils sont ubiquitaires et la possibilité de les réutiliser plusieurs fois pour les différentes productions.

Grace leur métabolisme diversifié, les levures et les moisissures sont capables de produire plusieurs métabolites à intérêt en même temps, comme la production des antibiotiques, des

enzymes du métabolisme secondaire, des exopolysaccharides et les mycotoxines spécifiques à l'espèce. Ces productions peuvent en effet être simultanées quand les sources de carbone et d'azotes sont bien réglées (Rahbar Saadat *et al.*, 2021). Tous ces éléments expliquent le rendement élevé obtenu grâce à l'utilisation des industrielles des mycètes (Kumar *et al.*, 2021).

Parmi les genres de champignons les plus étudiés et explorés, nous pouvons citer le genre *Saccharomyces*. En raison des propriétés physiologiques des espèces de ce genre, les *Saccharomyces* entrent dans la production et la transformation de plusieurs aliments, boissons et même dans la production des biocarburants. *Saccharomyces cerevisiae* est considérée comme un organisme modèle et un outil précieux dans la recherche fondamentale (McFarland, 2017 ; Parapouli *et al.*, 2020).

D'un autre côté, le genre *Aspergillus* a la capacité de produire une grande variété de métabolites bénéfiques tels que les acides organiques, les colorants et les enzymes qui peuvent être inclus dans les industries pharmaceutiques et alimentaires (Abdel-Azeem *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2022).

D'autre part, de nombreuses espèces du genre *Penicillium* sont considérées comme des productrices performantes de métabolites secondaires. Ces espèces ont de ce fait une valeur commerciale, pharmaceutique et biotechnologique très significative. Les métabolites qui sont les plus recherchés chez *Penicillium* sont les antibiotiques, les mycotoxines, les alcaloïdes, les hormones, les polycétides et les dérivés d'acides aminés, etc. Ces composés sont largement utilisés dans les domaines pharmaceutiques et thérapeutiques car ils sont dotés d'activités antimicrobiennes et anticancéreuses ; ainsi que dans les industries alimentaires et agricoles. Ces dernières années, le genre *Penicillium* a été étudié et criblé de manière approfondie pour développer davantage son exploitation industrielle (Grijseels *et al.*, 2017 ; Toghueo *et al.*, 2020).

3. Utilisations industrielles de *P. chrysogenum*

P. chrysogenum est une moisissure qui a un grand intérêt biotechnologique et pharmaceutique. Cette espèce est capable de produire de grandes quantités de substances d'intérêts dans des cultures à grandes échelles. De plus, elle forme des spores et des structures végétatives qui facilitent l'inoculation des grands fermenteurs. *P. chrysogenum* a une croissance rapide et est capable de pousser dans des milieux de culture peu coûteux et très disponibles. Elle a aussi une forte capacité à s'adapter aux changements du milieu et aux conditions de culture. Toutefois, la grande utilisation industrielle de cette espèce s'explique du fait qu'elle soit génétiquement stable et facile à modifier pour augmenter davantage le rendement de ses productions (Fierro *et al.*, 2022).

Ce champignon est considéré comme étant la source industrielle originale et actuelle des antibiotiques β -lactamines naturels et semi-synthétiques ; ainsi que la première source de production des autres nouveaux antibiotiques très efficaces comme la xanthocilline X et la chrysogine. *P. chrysogenum* produit une large gamme de métabolites secondaires tels que les fungisporines (des térapeptides hydrophobes cycliques), l'acide pénitrique, les sorbicillinoïdes, la toxine PR sesquiterpène, les roquefortines et les sidérophores. Ces composés bioactifs sont dotés d'un grand pouvoir antimicrobien, cytotoxique, anti-inflammatoire et antiviral. Ils sont utilisés pour le traitement des nombreuses maladies infectieuses et métaboliques (Guzmán-Chávez *et al.*, 2018 ; Ding *et al.*, 2020 ; Fierro *et al.*, 2022).

D'autre part, *P. chrysogenum* a une capacité élevée de sécréter des enzymes et des protéines d'intérêt pertinent pour la biotechnologie, ce qui le rend cette moisissure attrayante pour la production commerciale des protéines extracellulaires. Nous pouvons citer en particulier, l'utilisation de la proline lors de l'affinage du camembert afin de diminuer la quantité de peptides au goût amer (García-Estrada *et al.*, 2020). Aussi, l'enzyme alcool isoamylique oxydase qui représente un intérêt pertinent pour la production des boissons alcoolisées, le traitement des produits de boulangerie et l'élimination de la saveur désagréable présente parfois dans le lait ou la bière (Jami *et al.*, 2010). Les protéases, les amylases et les lipases sont aussi utilisés dans la production des détergents pour augmenter l'efficacité du lavage (Chandra *et al.*, 2020 ; García-Estrada *et al.*, 2020). Et d'autres enzymes comme les cellulases et les hémicellulases sont utilisées pour les bio-traitements du bois dans le secteur de la fabrication du papier (Jami *et al.*, 2010).

L'espèce *P. chrysogenum* est également utilisée en industries agricoles pour la lutte biologique contre les phyto-pathogènes et dans la biodégradation des déchets agricoles. Elle est aussi un promoteur de bio-remédiation pour les sols contaminés par des métaux lourds et d'autres polluants industriels afin d'améliorer les agroécosystèmes (Xu *et al.*, 2015).

Des études récentes ont démontré que cette moisissure possédait la capacité de produire d'autres composés non détectés auparavant et qui ont de grands intérêts industriels. La manipulation génétique de cette moisissure est le principal outil sur lequel se basent ces découvertes. Ceci pourra améliorer davantage l'utilisation industrielle de ce champignon (Meng *et al.*, 2016 ; Guzmán-Chávez *et al.*, 2018 ; Fierro *et al.*, 2022).

Chapitre 02 :

*Substances antimicrobiennes et
les facteurs affectant leur
production*

1. Molécules antimicrobiennes produites par *P. chrysogenum*

Les métabolites secondaires sont produits par deux types d'enzymes principaux : les synthétases peptidiques non ribosomiques (SPNR) et les polycétides synthases (PKS). Mais, il existe aussi des hybrides Enzymes SPNR-PKS impliqués dans cette production. Le génome de *P. chrysogenum* contient 33 gènes qui codent pour 10 SPNR, 20 PKS, 2 hybrides SPNR-PKS et 1 diméthyl-allyl-tryptophane impliqués dans la synthèse des métabolites secondaires, ce qui explique la grande diversité des molécules produites (Pohl *et al.*, 2020).

1.1. Pénicillines

P. chrysogenum est utilisé pour la production industrielle des pénicillines depuis les années 1940. Les pénicillines sont des antibiotiques appartenant à la classe des bêta-lactamines, elles sont largement utilisées comme médicaments en médecine, et sont produites à grande échelle par la souche sauvage NRRL 1951. Leur biosynthèse est réalisée par des enzymes SPNR codé par 03 gènes qui sont : *pcbAB*, *pcbC* et *penDE*. De façon à ce que le gène *pcbAB* code pour la δ -(L- α -aminoadipyl) -L cystéinyl-D-valine synthétase (ACVS), qui catalyse la condensation de ces trois précurseurs d'acides aminés pour former le tripeptide linéaire L- α -aminoadipyl-L cystéinyl-D-valine. Cette étape est la première de la biosynthèse des pénicillines, tandis que les deux gènes *pcbC* et *penDE* sont les gènes qui codent respectivement pour les enzymes l'isopénicilline N synthase (IPNS) et acyltransférase (IAT). Ces dernières catalysent la formation du cycle bicyclique à partir du tripeptide linéaire, ce qui donne l'isopénicilline N (IPN). Il est ensuite converti en 6-APA puis lié au groupe acyle pour former les pénicillines (Figure 4) (Barreiro *et al.*, 2019 ; Fierro *et al.*, 2022).

Ces antibiotiques sont des agents bactéricides impliqués dans l'étape terminale de la formation du peptidoglycane chez les bactéries Gram-négatives et Gram-positives. Les pénicillines ont un large spectre d'activité ; elles agissent sur des microorganismes aérobie ou anaérobie, coques ou bacille à Gram positif et Gram négatif. Comme exemples, nous pouvons citer *Staphylococcus aureus*, les Staphylocoques à coagulase négative, entérocoques, *Streptococcus viridans*, *S. pneumoniae*, les Streptocoques du groupe A, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Treponema pallidum* et de nombreux autres spirochètes (Bush et Bradford, 2016 ; Lima *et al.*, 2020).

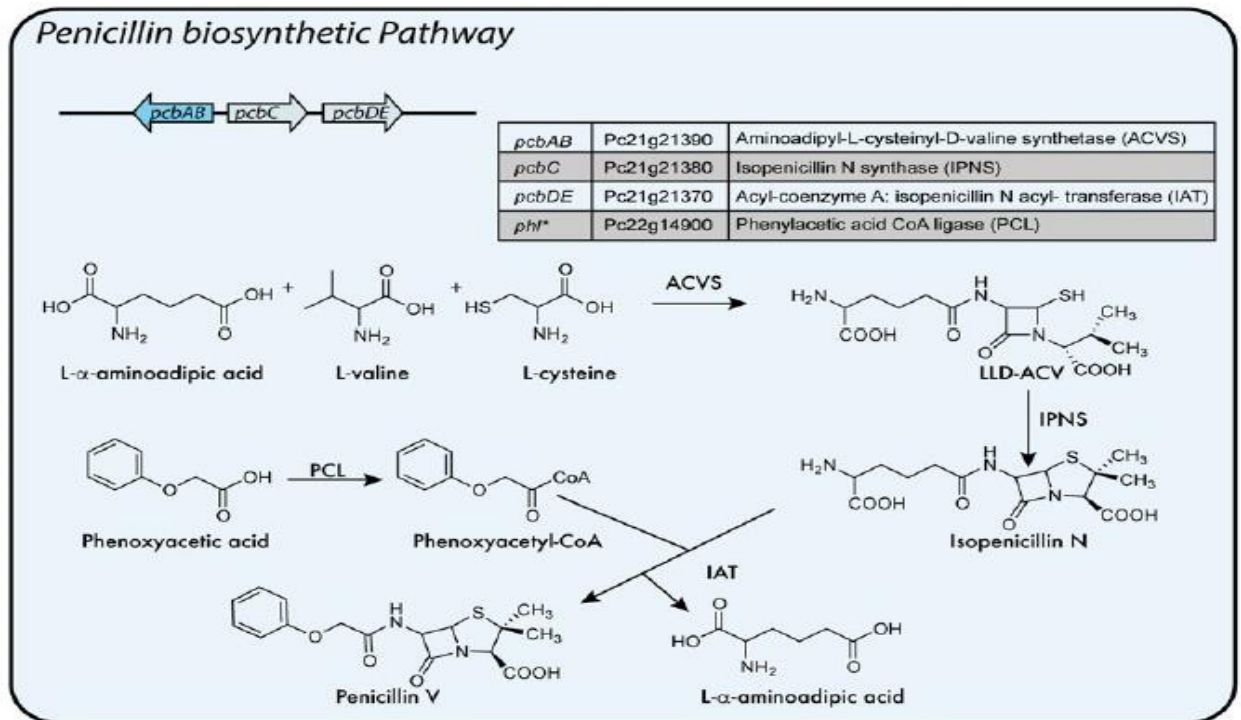


Figure 4 : Biosynthèse des pénicillines (Guzmán-Chávez *et al.*, 2018).

Les deux types des pénicillines naturels les plus utilisés sont la pénicilline G (benzylpénicilline) et la pénicilline V (phénoxyméthylpénicilline) (Figure 5). La pénicilline G possède un large spectre d'activités contre les bactéries Gram-positives (Staphylocoques, Streptocoques et Pneumocoques) et *Bacillus anthracis* ; par contre, les bactéries Gram-négatives sont résistantes. Cette forme de pénicilline est instable en milieu acide ou alcalin et est facilement hydrolysée dans de telles conditions. Elle est utilisée sous forme injectable seulement. D'autre part, la pénicilline V a un spectre d'activité similaire à celui de la pénicilline G, mais elle est utilisée sous forme de sel de potassium. Elle est extrêmement soluble dans l'eau et stable au pH gastrique. Elle est toujours administrée par voie orale (Balsalobre *et al.*, 2019 ; Lima *et al.*, 2020).

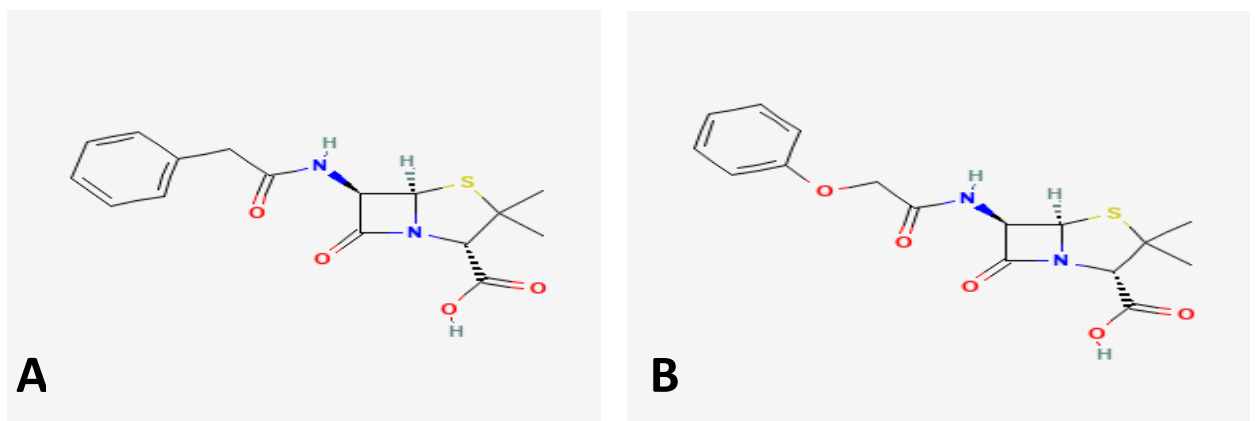


Figure 5 : Structure moléculaire des deux types des pénicillines.

A : Pénicilline G, **B :** Pénicilline V (Lima *et al.*, 2020).

De plus, il y a les pénicillines semi-synthétiques de la classe des aminopénicillines, telles que l'amoxicilline, qui ont été développées par l'ajout d'un groupe « 6-amino » aux pénicillines (Figure 6). Cette modification sert à lutter contre la résistance aux antibiotiques. Ces molécules peuvent être utilisées en association avec l'acide clavulanique, qui est un inhibiteur de la bêta-lactamase, afin d'améliorer l'activité contre une grande variété de bactéries Gram-positives et négatives (Balsalobre *et al.*, 2019 ; Espinosa-Gongora *et al.*, 2020 ; Lima *et al.*, 2020).

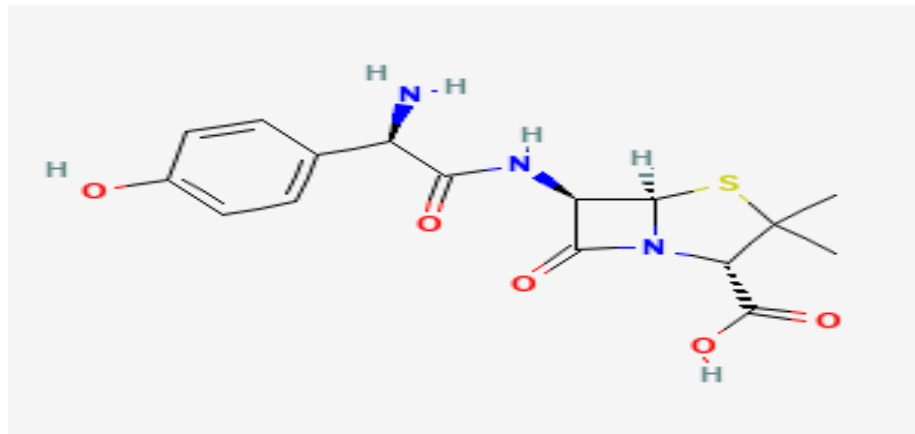


Figure 6 : Structure moléculaire de l'amoxicilline (Lima *et al.*, 2020).

1.2. Céphalosporines

Les céphalosporines sont des antibiotiques qui appartiennent à la famille des bêta-lactamines. Ce sont des médicaments anti-infectieux, parmi les plus couramment utilisés en médecine. Les céphalosporines ont des avantages précieux par rapport à les pénicillines, elles sont plus résistantes à la pénicillinase et sont plus efficaces contre de nombreuses souches résistantes aux pénicillines. De plus, les céphalosporines ont une incidence des effets indésirables inférieure que celle des pénicillines et des autres antibiotiques ou des agents anti-infectieux (Li *et al.*, 2018). *P. chrysogenum* est capable de synthétiser la céphalosporine C (CPC). Cette dernière étant la principale ressource pour la production de l'acide 7-amino-céphalosporanique (7-ACA), qui est un intermédiaire important pour la fabrication de nombreux antibiotiques (Hu et Zhu, 2016).

Il existe deux groupes de gènes impliqués dans la biosynthèse du CPC au cours de la culture de *P. chrysogenum*. Le premier cluster "précoce" composé de *pcbAB-pcbC* et *cefD1-cefD2*. Les deux enzymes responsables des deux premières étapes de la biosynthèse du CPC sont codées par les gènes *pcbAB-pcbC*. Les gènes *cefD1-cefD2* codent pour des protéines qui épimérisent l'isopénicilline N (IPN) en pénicilline N (Figure 7) (Hu et Zhu, 2016).

D'autre part, le cluster "tardif" est constitué des gènes *cefEF* et *cefG*, qui codent pour les enzymes responsables des deux dernières étapes de la biosynthèse (Hu et Zhu, 2016).

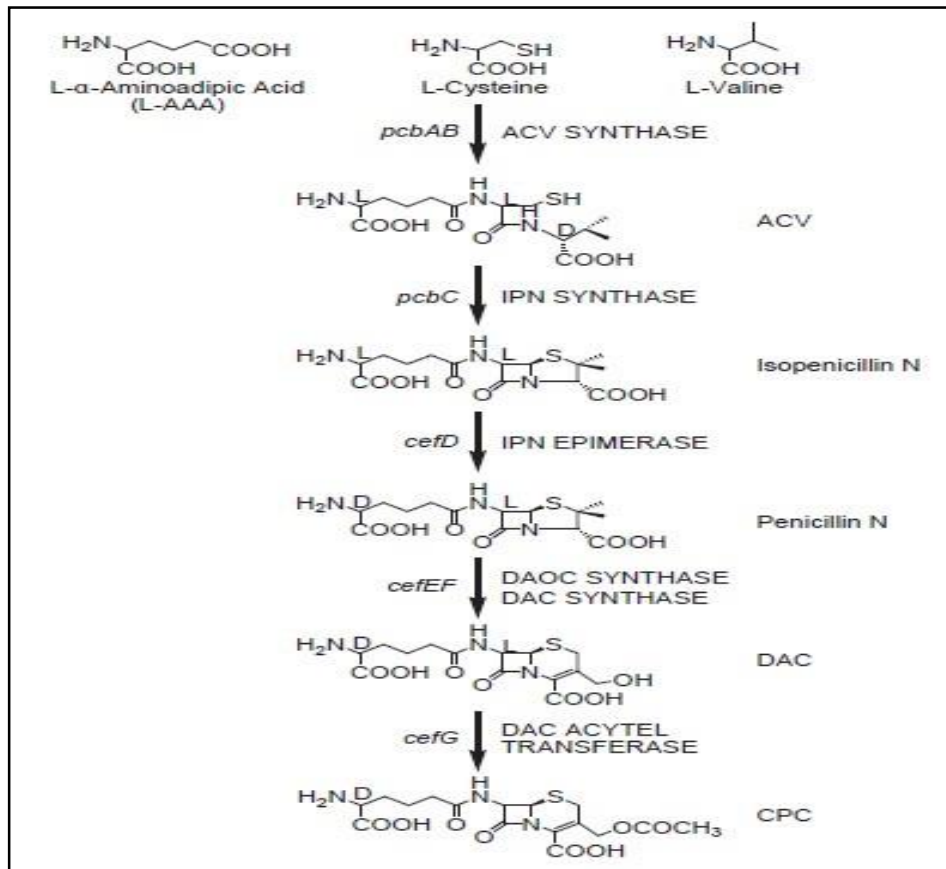


Figure 7 : Biosynthèse de la céphalosporine C (Hu et Zhu, 2016).

1.3. Roquefortines

Les souches de *Penicillium* produisent une grande variété de mycotoxines appelées roquefortines. Ces molécules appartiennent à la famille des alcaloïdes DKP (diketopiperazine) et sont des dérivés de la dicétopipérazine HTD (histidyltryptophanyl-dicétopipérazine) qui est codé par le gène *RoqA* et formée par l'enzyme SPNR. Cette enzyme sert à la condensation de la L-histidine et du L-tryptophane (Figure 8) (Guzmán-Chávez *et al.*, 2018).

La roquefortine C a été isolée pour la première fois à partir de *P. roqueforti*. Puis, elle a été trouvée chez d'autres espèces de *Penicillium* qui poussent sur des céréales fourragères contaminés, les oignons, la bière et le vin. Des isolats naturels de *P. chrysogenum* produisent en plus de la roquefortine C, de petites quantités de roquefortine D (3,12-dihydroroquefortine C) et des traces de glandicolines (A, B) et la méléagrine (García-Estrada *et al.*, 2011).

Les produits les plus abondants comme les roquefortines C et D ont une bonne activité bactériostatique, mais elles sont neurotoxiques. De ce fait, elles sont utilisées dans d'autres domaines que l'industrie pharmaceutique. Ces molécules sont actives contre les bactéries

Gram-positives en inhibant le cytochrome P450. De même, la méléagrine qui est un dérivé de la roquefortine C, possède une bonne activité antibactérienne et antiproliférative avec le même spectre d'activité. Les nouveaux métabolites nommés roquefortine L, roquefortine M et roquefortine N sont ajoutés à la palette de composés cytotoxiques potentiels, ce qui démontre le potentiel des souches industrielles de *P. chrysogenum* à produire de nouveaux composés bioactifs avec des échafaudages chimiques inhabituels (Ries *et al.*, 2013).

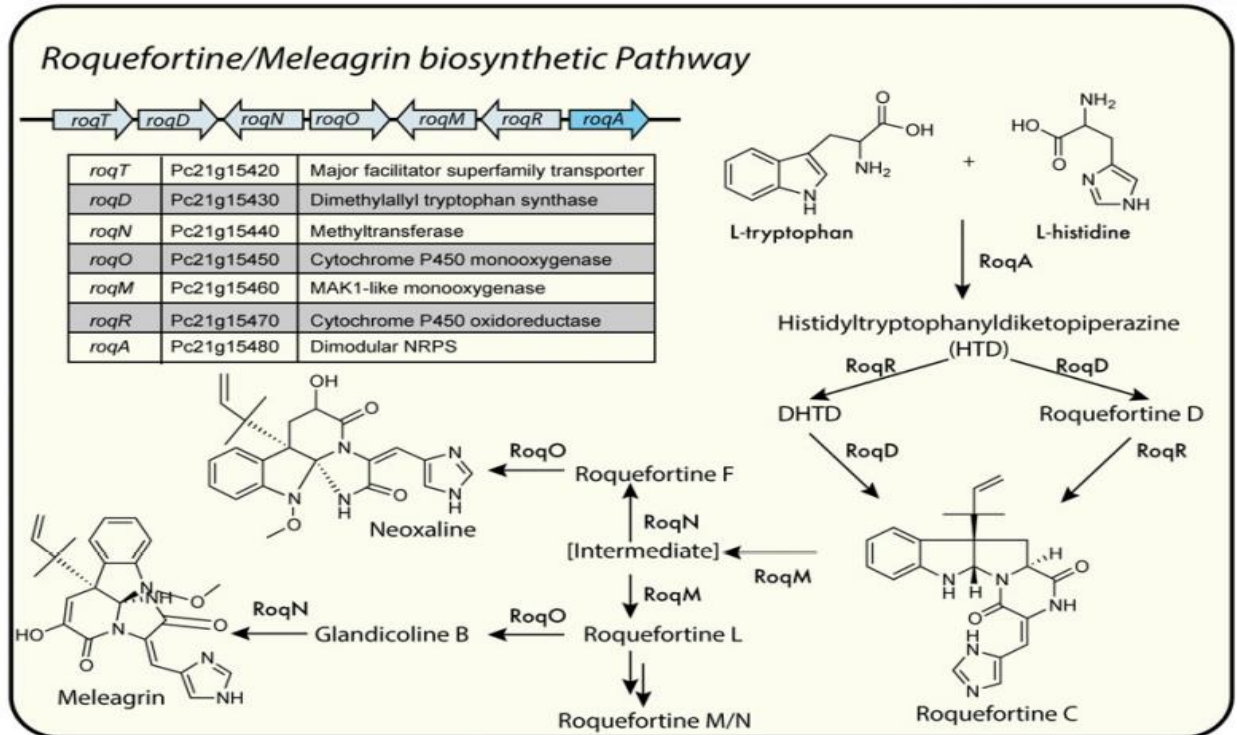


Figure 8 : Voie de biosynthèse de la roquefortine/méléagrine chez *P. chrysogenum* (Guzmán-Chávez *et al.*, 2018).

1.4. Fungisporines

En 1952, les fungisporines ont été observées pour la première fois chez plusieurs espèces de *Penicillium*, ainsi que deux espèces d'*Aspergillus*. La fungisporine A a été détectée et caractérisée précisément comme un térapeptide cyclique dit cyclo (D-Val-L-Val-D-Phe-L-Phe) (Figure 9). Au cours de l'analyse génomique et transcriptomique de *P. chrysogenum* par Ali *et al.*, (2014), un gène de *SPNR* a été découvert. Il s'exprime fortement et exclusivement dans la synthèse des térapeptides de type fungisporines. Ce gène a été nommé *hcpA* ; il est présent chez toutes les espèces de *P. chrysogenum*.

Ces cyclo-tétra-peptides présentent une activité antibactérienne par inhibition du métabolisme bactérien. Ils sont très utilisés dans la fabrication des produits phytosanitaires (Bertinetti *et al.*, 2009). Il est important toutefois de signaler que dans les applications industrielles, la production des fungisporines est indésirable en raison de leurs caractéristiques hautement hydrophobes. Ces

molécules ont tendance à s'agréger et à compliquer le traitement en aval du bouillon de fermentation (Pohl *et al.*, 2020).

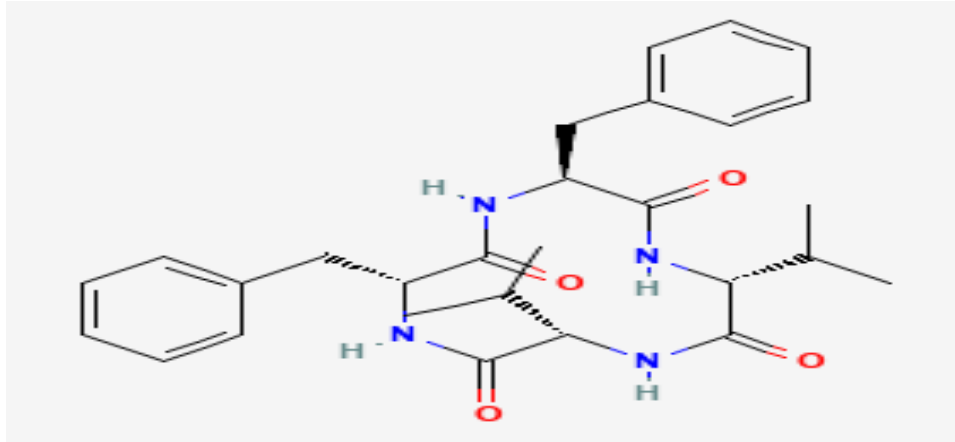


Figure 9 : Structure moléculaire de la fungispoutine (Ali *et al.*, 2014).

1.5. Chrysogine

La chrysogine est un pigment jaune. Sa fonction n'a pas été largement étudiée, mais des études récentes indiquent qu'elle a une bonne activité antimicrobienne (Figure 10). De plus, ce pigment offre une protection pour la moisissure contre les conditions environnementales défavorables (les rayons ultraviolets, la température élevée, etc.). Cette molécule est un métabolite résultant de la condensation de l'acide anthranilique et de l'alanine par la fonction de l'enzyme SPNR dimodulaire. Cette enzyme est codée par le gène biosynthétique *ChyA*. Elle est l'un des métabolites les plus abondants dans les bouillons de culture de *P. chrysogenum* (Viggiano *et al.*, 2018 ; Ramesh *et al.*, 2019 ; Ding *et al.*, 2020).

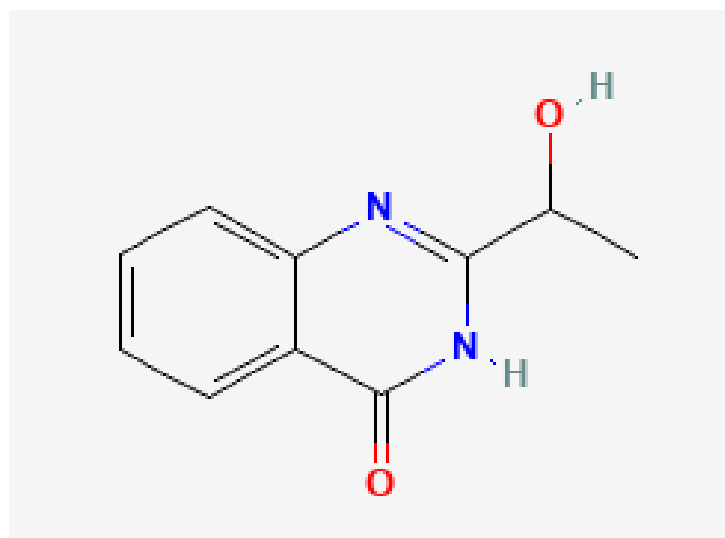
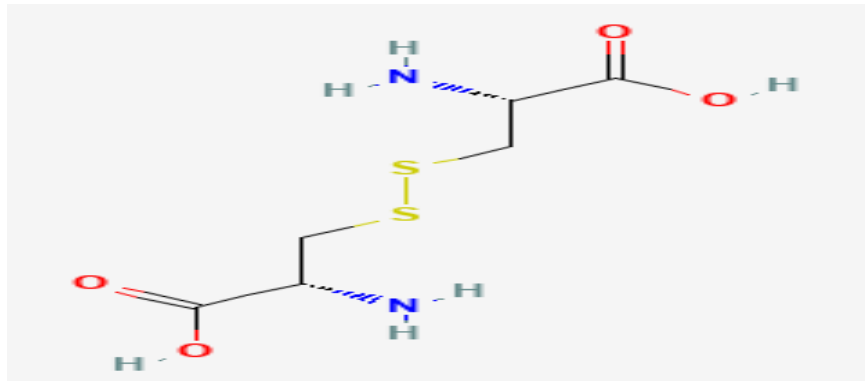


Figure 10 : Structure moléculaire de la chrysogine (Ramesh *et al.*, 2019).

1.6. Cystine

La cystine est formée par la condensation oxydative de deux molécules de cystéine. Cette dernière est un acide aminé qui possède un groupe thiol ($-SH$) (Figure 11). Cette molécule est codée par les deux gènes *cysE* et *cysK*. En solution aqueuse, deux groupes thiol s'oxydent facilement pour former une liaison disulfure ($-S-S-$) (Yang *et al.*, 2021). Certaines études ont démontré que la cystéine et ses dérivés étaient des inhibiteurs potentiels contre les virus et les agents pathogènes des plantes ; et ce, pour leurs activités antivirales et antifongiques testées *in vitro* et *in vivo*. De plus, la cystéine peut être utilisée pour traiter les infections de la cavité buccale telles que la glossite et la gingivite. Cette molécule peut également interagir comme un signal précoce dirigeant la réaction de la plante hôte pour causer des dommages importants aux composants des cellules fongiques (noyau, mitochondries, réticulum endoplasmique, etc.) (Roblin *et al.*, 2018 ; Kondoh et Hirasawa, 2019 ; Yang *et al.*, 2021 ; Egbujor *et al.*, 2022).



1.7. Xanthocilline X

C'est un antibiotique qui appartient à la classe des produits naturels l'isonitriles (également connus sous le nom d'isocyanures) (Figure 12). Il est codé par le gène biosynthétique appelé *Xan* et synthétisé par les SPNR. Cette molécule a été isolée de *P. chrysogenum* en 1948. En plus de son activité sur différents types de bactéries, la xanthocilline X est la plus efficace contre les souches d'*Acinetobacter baumannii* qui ont été classées comme pathogènes critiques avec la plus haute priorité par l'OMS. Et ce, en raison de leur enveloppe à double membrane qui empêche de nombreux antibiotiques de les atteindre. D'autre part, ce produit a démontré un large spectre d'activité contre une variété de bactéries, y compris contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et d'autres bactéries qui dépendent de la biosynthèse de l'hème (Lim *et al.*, 2018).



D'autres études ont démontré un effet synergique de la xanthocilline X avec la gentamicine. La combinaison entre ces deux médicaments antimicrobiens est une stratégie efficace pour lutter contre la résistance bactérienne. D'un autre côté, la xanthocilline X possède aussi des activités antifongiques, antiparasitaires et antivirales. Elle a une faible toxicité sur les cellules humaines et une bonne stabilité métabolique. De plus, elle est dotée d'une bonne bio-activité écologique, économique et pharmaceutique. Sa découverte est projetée pour servir au développement de nouveaux médicaments (Lim *et al.*, 2018 ; Hübner *et al.*, 2021).

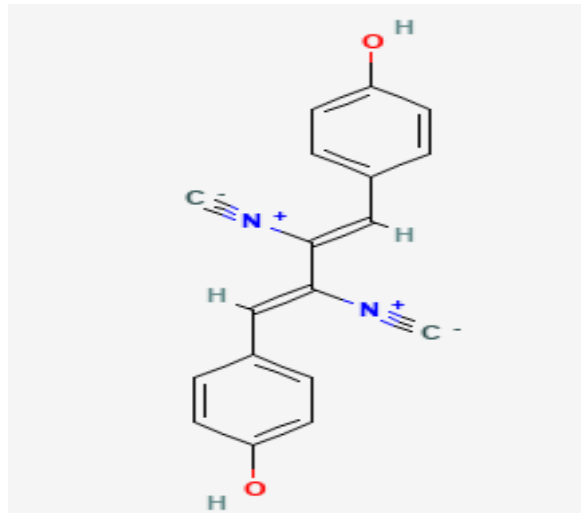


Figure 12 : Structure moléculaire de la xanthocilline X (Hübner *et al.*, 2021).

1.8. Sorbicillinoïdes

Les sorbicillinoïdes ou vertinoïdes sont des pigments jaunes de la famille des hexacétides qui comprend plus de 90 molécules hautement oxygénées. La souche NRRL1951 de *P. chrysogenum* a été signalée comme étant productrice de plus de 10 sorbicillinoïdes. Les premières découvertes de ces molécules avaient comme objectif d'éliminer les pigments jaunes considérés comme contaminants au cours de la production des β -lactamines (Guzmán-Chávez *et al.*, 2017).

Ces molécules sont produites par les deux gènes *PKS* : *SorA* et *SorB* de *P. chrysogenum* (Figure 13). Selon la structure, nous pouvons les classer en quatre groupes : les sorbicillinoïdes monomères, les bisorbicillinoïdes, les trisorbicillinoïdes et les sorbicillinoïdes hybrides. Ces molécules possèdent des activités cytotoxiques, antioxydantes, antimicrobiennes et antivirales. Récemment, l'intérêt des sorbicillinoïdes a été relancé en raison du large spectre de leurs activités et de leur valeur pharmaceutique potentielle (Meng *et al.*, 2016). Par exemple, elles inhibent l'effet cytopathique induit par le VIH-1 et le virus de la grippe A (H1N1) dans cellules épithéliales de rein de chien (MDCK), et inhibent l'accumulation des gouttelettes lipidiques dans les

macrophages, qui est un événement associé à l'initiation de l'athérosclérose. Ces molécules possèdent une activité antifongique par l'inhibition de la biosynthèse des b (1,6) -glucanes. D'autres sorbicillinoïdes, comme l'oxosorbicillinol et le dihydrosorbicillinol, se sont avérés extrêmement actifs sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* (Derntl *et al.*, 2017 ; Guzmán-Chávez *et al.*, 2017).

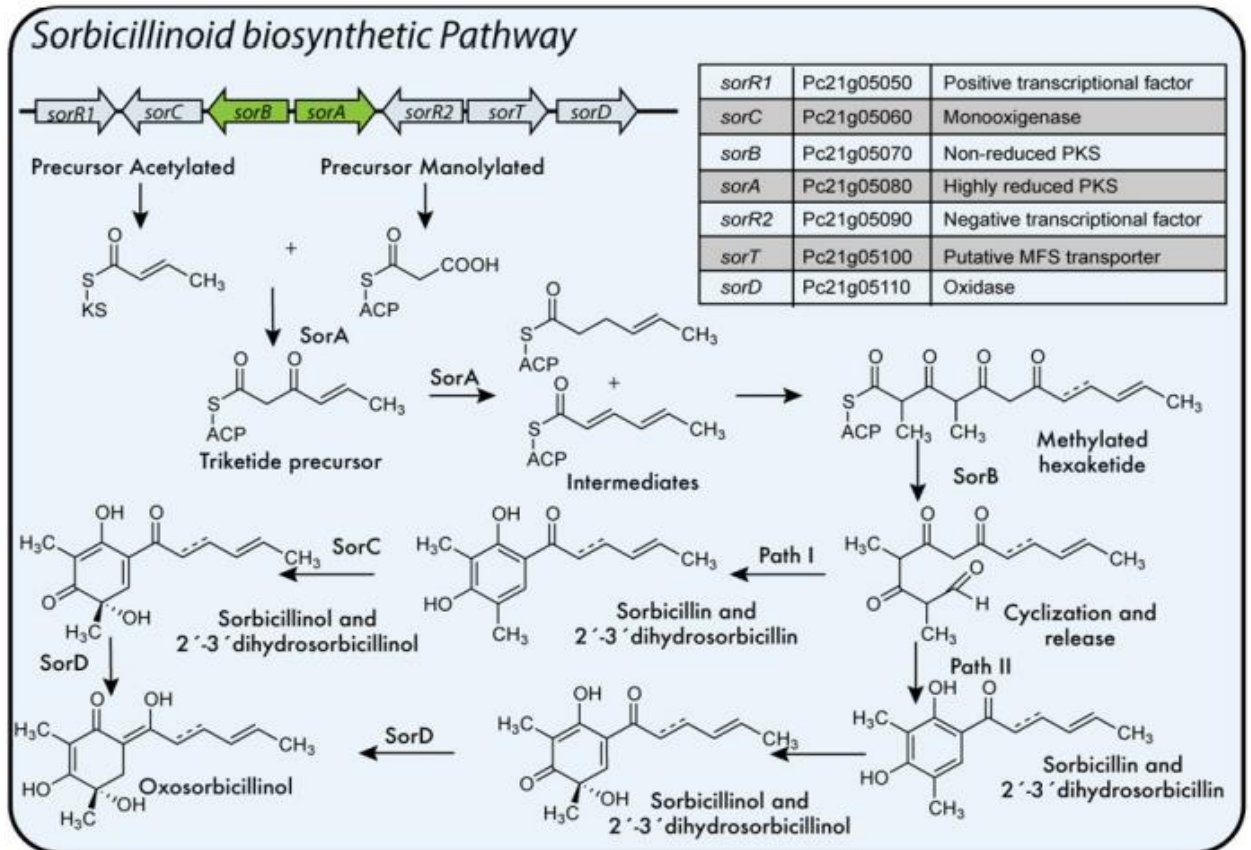


Figure 13 : Biosynthèse des sorbicillinoïdes (Guzmán-Chávez *et al.*, 2018).

En plus des substances susmentionnées, il existe d'autres molécules produites par *P. chrysogenum* qui sont dotées d'une bonne activité antimicrobienne. Parmi elles, les acides sécaloniques (antifongique), la questiomycine (actif contre les bactéries Gram positif et négatif et les levures), la PR-toxine (antifongique mais aussi mortel pour les rats, les souris et les chats), et la citrinine (bactéricide, antifongique et antiprotozoaire chez le bétail) (Berg, 2013 ; Guzmán-Chávez *et al.*, 2018 ; Fierro *et al.*, 2022).

2. Facteurs qui influencent la production des métabolites antimicrobiens

La constitution du milieu de production et les paramètres physico-chimiques jouent un rôle déterminant sur les productions de *P. chrysogenum*. Les facteurs les plus déterminants dans la production des métabolites antimicrobiens sont les suivants :

2.1. Source de carbone

P. chrysogenum est capable de se développer sur plusieurs types de substrats, mais principalement sur les mono et disaccharides tels que le glucose, le fructose et le lactose. Le lactose est la meilleure source de carbone pour la production des métabolites secondaires lors de la fermentation discontinue, et il est considéré étant une source gratuite et disponible à partir des produits laitiers (Schmitz *et al.*, 2013 ; Jónás *et al.*, 2014). Le lactose permet une phase de croissance rapide et maximale avec une bonne stabilité pour l'espèce *P. chrysogenum*. D'un autre côté, le cellobiose (1,4-O-b-D-glucopyranosyl-D-glucose) est de plus en plus utilisé pour sa similarité avec le lactose. En effet, comme ce dernier, la cellobiose représente une source difficile à dégrader au cours de la fermentation ce qui permet de placer la moisissure en idiophase, où la production des métabolites antimicrobiens est maximale (Jónás *et al.*, 2014).

2.2. Source d'azote

Les acides aminés sont souvent utilisés comme source d'azote pour la production des substances secondaires par les moisissures. De plus, ils jouent un rôle très important car ils sont considérés comme étant les principaux procureurs qui régulent la production des antimicrobiens chez *P. chrysogenum*. Parmi les acides aminés utilisés pour la fermentation, la L-lysine, la L-cystéine, la L-valine et l'acide α -aminoadipique sont les plus importants car ils forment le tripeptide δ -l- α -aminoadipyl-l-cysteinyl-d-valine qui est le précurseur commun des β -lactamines et leurs dérivés. D'un autre côté, il y a d'autres types de sources d'azote simples ou complexes qui sont utilisées car elles favorisent la croissance et la formation des métabolites secondaires tels que les sels d'ammonium (NH_4^+), la proline et l'urée (Weber *et al.*, 2012 ; Ziemons *et al.*, 2017 ; Sawant et Vamkudoth, 2022).

2.3. Température

La croissance des microorganismes, la production d'enzymes et la synthèse de métabolites secondaires dépendent de la température. De même, la production des substances antimicrobiennes par *P. chrysogenum* qui exige une température inférieure ou égale à 28°C. Tout changement de température à un effet direct sur le taux de croissance et la production du métabolite recherché ; et ce, de manière positive ou négative. Ces effets peuvent être expliqués par les énergies d'activation des réactions de synthèse et d'hydrolyse des métabolites (Kalai *et al.*, 2014 ; Kumar *et al.*, 2021).

2.4. pH

Tout comme la température, le degré de pH est un facteur critique durant la fermentation car il contribue à croissance fongique et la production des antibiotiques et les autres composés secondaires par *P. chrysogenum*. Lorsque le pH est constant, de préférence égal à 7, les hyphes se développent moyennement et la production des métabolites primaire devient importante. Mais, quand le pH change à des valeurs défavorables à cause des molécules produites (il devient acide par l'ammonium et basique par les nitrates), la moisissure subit une diminution de la longueur des hyphes et la formation des granules intracellulaires, aussi ils peuvent influencer également sur les enzymes qui entraînent à la production des métabolites secondaires (Canteri et Ghoul, 2015 ; Li *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2021).

2.5. Agitation

Pour résoudre le problème de la haute viscosité dans le bouillon de culture des mycéliums, il faut augmenter légèrement la force d'agitation, ceci est le cas pour *P. chrysogenum*. Toutefois, la morphologie mycélienne dépend de l'intensité de l'agitation, mais qu'il n'y a pas de corrélation de ce paramètre avec la production des enzymes nécessaires pour la synthèse des substances antimicrobiennes. La production de ces dernières nécessite une stimulation constante à intensité modérée. Tout changement brusque de la vitesse de l'agitation entraîne une chute brutale de la cadence de production (Veiter et Herwing, 2019 ; Veiter *et al.*, 2020).

2.6. Teneur en humidité et activité de l'eau

L'humidité et la teneur en eau du substrat jouent un rôle essentiel dans la production des métabolites primaires et secondaires. Un niveau optimal d'humidité (60 à 100 %) et d'activité de l'eau (0,78-0,88) est nécessaire pour la croissance et les productions de *P. chrysogenum*. Une faible teneur en humidité entraîne une solubilité réduite des nutriments du substrat et provoque le dessèchement de l'espèce donnant ainsi des touffes mycéliennes. Par contre, des niveaux d'humidité trop élevés entravent le rendement enzymatique (Lattab *et al.*, 2012 ; Kumar *et al.*, 2021).

2.7. Aération

L'oxygène joue un rôle très important dans la fermentation aérobie car il donne une meilleure croissance des cellules et une bonne production des métabolites secondaires. Ce gaz représente un accepteur final des électrons au cours de leur chaîne de transport pour fournir l'ATP par phosphorylation oxydative. Au cours de la production des pénicillines par *P. chrysogenum*, l'O₂ est un précurseur direct dans la deuxième étape dans la voie biosynthèse, de même qu'il joue un

rôle déterminant dans la production des métabolites secondaires de l'espèce. Quand la concentration en O₂ dissout est faible la production des pénicillines diminue ; et au contraire, quand sa concentration est supérieure une augmentation de la production des pénicillines est observée (Yang *et al.*, 2022).

D'un autre côté, le dioxyde de carbone dissout est une variable qui change entre les échelles de bioréacteur et peut donc avoir une influence potentielle sur le processus lorsque l'échelle se modifie. Les effets indésirables du CO₂ sont dus à l'inhibition de la croissance et l'absorption du substrat dans la phase de latence, ce qui provoque des changements morphologiques de l'espèce et la réduction des taux des métabolites antimicrobiens produits (El-Sabbagh *et al.*, 2006 ; El Enshasy, 2022).

2.8. Minéraux

Les minéraux (micronutriments) sont un gradient essentiel pour la croissance des spores et la production des antibiotiques par *P. chrysogenum*. Le milieu de culture doit contenir des concentrations optimales en NaCl, MgSO₄, KH₂PO₄ et K₂HPO₄. Ces ingrédients permettent de lutter contre le stress osmotique, mais ont des effets toxiques pour l'espèce à des concentrations trop élevées (Guedes et Leitão, 2012 ; Mahendiran *et al.*, 2013 ; Vu *et al.*, 2019).

2.9. Acides gras

Les huiles et la graisse sont utilisées comme agents antimousses au cours des productions des substances antimicrobiennes par *P. chrysogenum*. Leur présence dans le bouillon de fermentation est donc primordiale, notamment lors des cultures continues. Mais l'utilisation des acides gras comme substrats par *P. chrysogenum* dépend de la souche. En effet, certaines souches peuvent utiliser les acides gras comme principale source de carbone et/ou comme co-substrats appropriés des sucres afin d'augmenter le taux de production des substances antimicrobiennes. Il est toutefois important de rappeler que les acides gras affectent l'absorption de l'oxygène par *P. chrysogenum* ce qui implique que leur utilisation se fait toujours en quantités contrôlées (Canteri et Ghoul, 2015 ; Kumari *et al.*, 2017).

3. Effets du pH et de la température sur les productions de *P. chrysogenum*

Les champignons diffèrent dans leurs exigences de température et de pH optimales. *P. chrysogenum* est capable de pousser à une température de 10 à 35°C. Cependant, à des températures inférieures à 20°C et supérieures à 35°C, la croissance du champignon diminue de

manière significative, du fait que ces températures affectent directement et de manière négative les métabolismes nécessaires à la croissance des champignons. D'autre part, la diminution du degré d'humidité relative provoque une diminution de la croissance fongique. Des valeurs d'humidité relative entre 30 % et 45 % sont considérées comme critiques pour la croissance de *P. chrysogenum* (Singh et Chauhan, 2013).

3.1. Exemples des métabolites produits par *P. chrysogenum* quand elle est cultivée dans des conditions de pH et de température optimum

Selon les travaux de Singh et Chauhan, (2013), *P. chrysogenum* présente une croissance optimale à pH : 7 après 12 jours d'incubation. Cette croissance maximale a été observée à une température de 28 à 30°C, avec une valeur d'humidité relative égale à 90 %.

Lorsque les conditions de culture sont optimales, *P. chrysogenum* active toutes les enzymes du métabolisme primaire nécessaires à la croissance. Cela provoque une grande dégradation des sources nutritionnelles présentes dans le milieu de culture. Cette capacité de dégradation lui procure une forte compétition alimentaire contre les autres microorganismes présents dans son environnement. De ce fait, *P. chrysogenum* arrive à réduire la croissance de plusieurs microorganismes pathogènes. Pour cette raison, l'espèce est très utilisée en agroalimentaire pour protéger les plantes et les aliments contre les microorganismes dangereux (Álvarez *et al.*, 2021). En effet, *P. chrysogenum* a montrée qu'elle était efficace pour lutter contre la mycotoxine ochratoxine A produite par *P. nordicum* et ceci en réduisant sa production et en inhibant le germe producteur par compétition alimentaire. Il est important de rappeler que l'ochratoxine A a des propriétés néphrotoxiques, hépatotoxiques, immunotoxiques et même cancérogènes. En plus du pH, la température et l'activité de l'eau (A_w) sont des facteurs majeurs pour permettre la compétition alimentaire entre *P. chrysogenum* et les autres microorganismes. Ces deux paramètres doivent être optimums (Álvarez *et al.*, 2021).

P. chrysogenum a la capacité de produire la céphalosporine C lors de la phase exponentielle et stationnaire de la croissance : l'espèce commence à produire les céphalosporines dans les conditions optimales de pH et température et continue cette production même quand les conditions deviennent défavorables (Li *et al.*, 2018).

Long *et al.*, (2012) ont étudié le rôle du gène *glrA* codant pour le glutathion réductase (GR) dans la biosynthèse des céphalosporines par *P. Chrysogenum*. Cette enzyme a un rôle clé dans l'activité antioxydante chez les moisissures. Le milieu de fermentation utilisé lors de la production de la céphalosporine C est le milieu MDFA. Ce dernier a été repris par Shen et ses

collaborateurs (1986) qui lui ont apporté une modification de la composition de la source de carbone en 10 g de glucose, 20 g de glycérol et 36 g de saccharose par litre. La fermentation a été effectuée pendant 5 jours à un pH et une température optimum de 7 et 28 °C respectivement. Ces chercheurs ont démontré que *P. chrysogenum* produisait de bonnes quantités de céphalosporine quand elle était dans ces conditions optimale. D'autres études ont aussi démontré qu'une supplémentation en méthionine pouvait encore augmenter le taux de production quand l'espèce était cultivée dans les mêmes conditions (Long *et al.*, 2012).

Dans une autre investigation réalisée par Li et ces collègues (2018), *P. chrysogenum* était placée dans le bouillon MDFA modifié avec des valeurs de température et pH optimales (28°C et 7 respectivement) afin d'étudier la relation entre l'autophagie et la production de la céphalosporine. Les résultats ont alors démontré que la perturbation du gène *Acatg8*, qui est essentiel pour la formation des autophagosomes et processus autophagique, améliorait la transcription des gènes biosynthétiques des céphalosporines ce qui augmentait la production de CPC. Mais, cette mutation inhibait en même temps la formation des autophagosomes chez *P. chrysogenum* et réduisait la conidiogénèse fongique.

3.2. Productions de *P. chrysogenum* quand elle est cultivée à pH optimal et température nettement inférieure à l'optimum

Certaines études ont démontré que *P. chrysogenum* synthétisait aussi un groupe intéressant de métabolites biologiquement actifs, notamment les alcaloïdes de l'ergot, les dicétopipérazines et les alcaloïdes de la quinoléine, quand elle était cultivée à pH optimal mais à température ambiante (25°C) (Antipova *et al.*, 2011). La production de ces métabolites était favorisée en utilisant un milieu composé de 20 g de saccharose, 5 g de peptone, 5 g d'extrait de levure, 5 g de NaCl, 5 g de Na₂HPO₄ (pour 1 L). En effet, après 14 jours d'incubation, la moisissure produisait simultanément plusieurs alcaloïdes dotés d'activités antimicrobiennes et anticancéreuses (antiprolifératives, antimigratoires et anti-invasives contre un large panel de cellules cancéreuses du sein) (Mady *et al.*, 2016). De plus, les alcaloïdes indoliques méléagrine et roquefortine C sont présentent des propriétés biologiques prometteuses telles que l'activité inhibitrice du cytochrome P450 et inhibitrice de la polymérisation de la tubuline (Antipova *et al.*, 2011).

Murali et ses collaborateurs (2013) ont rapporté dans leurs travaux que *P. chrysogenum* synthétisait des substances antifongiques à une température de 25 ± 2°C et un pH optimal variant entre 6.5 et 7. Ils ont aussi démontré que la température basse favorisait fortement cette production et permettait même d'utiliser l'espèce pour traiter le mildiou causé par *Sclerospora graminicola*. En effet, cette étude expliquait que l'action antifongique appliquée par *P. chrysogenum* sur le

pathogène permettaient aussi d'activer plusieurs gènes de défense chez la plante (*SHC*, *Pr-1*, *LOX* et *POX*). Ces informations confirmaient l'activité antifongique de l'espèce et son importance dans le domaine agronomique.

3.3. Métabolites produits par *P. chrysogenum* quand elle est cultivée à pH et à température défavorables

Les souches de la *P. chrysogenum* sont la source principale de la production des pénicillines. Cet antibiotique est considéré comme le premier antibiotique au monde et reste l'un des médicaments les plus couramment utilisés. La production de cette substance par la moisissure s'effectue en idiophase, soit quand des conditions défavorables de culture sont appliquées (Yang, 2007). Le pH est alors supérieur à 7 et la température plus haute ou plus faible que l'optimale (selon les souches).

Afin de produire les pénicillines, d'autres paramètres doivent être pris en considération pour maintenir les conditions de stress (défavorables), principalement l'ajout de l'urée et de la proline comme sources d'azote complexes, l'asparagine et l'acide glutamique qui sont des précurseurs de l'antibiotique. De même, il est important d'éliminer tous les facteurs qui enclenchent la croissance de l'espèce (NH_3 comme source d'azote, le glucose comme source de carbone, etc.) (Yang, 2007 ; Jónás *et al.*, 2014).

Certaines études ont démontré que la production des pénicillines pouvait être améliorée par des méthodes de manipulations génétiques et génomiques des souches classiques de *P. chrysogenum*. Comme l'amplification du gène *penDE* codant pour l'isopénicilline N-acyltransférase (IAT) par PCR (Weber *et al.*, 2012 ; Fierro *et al.*, 2022).

Les travaux de Domínguez-Santos et ses collaborateurs (2017) ont confirmé qu'une température de 25C° était nécessaire pour la production des pénicillines. Et ce avec une supplémentation du milieu en CaCl_2 et caséine. Le milieu de culture utilisé était le MDFP qui contenait 30g/L lactose, 10 g/L sucrose et 1 g/L de phénylacétate de potassium comme source carbone. Soit des substrats très difficiles à dégrader pour la moisissure afin de la maintenir en idiophase. Ces conditions étaient nécessaires afin de stimuler les gènes biosynthétiques *PcbAB*, *PcbC* et *PenDE*, responsables de la formation des pénicillines.

En plus des antibiotiques, les souches de *P. chrysogenum* sont capables de produire des enzymes de types lipase et lipolase afin de dégrader les déchets de graisses et produire des acides gras à intérêt alimentaire. Ces enzymes du métabolisme secondaire s'activent quand les souches sont cultivées à pH 5 et la température inférieure à 28 C°. Le milieu de culture utilisé est alors le

Czapek-dox qui contient des déchets de graisses prétraités comme source de carbone très complexe. Il renferme aussi une concentration minérale de FeCl_2 égale à 1,25 mM. Les acides palmitiques (C16) et oléiques (C18) sont les principaux acides gras produits (Kumari *et al.*, 2017).

D'un autre côté, *P. chrysogenum* possède la capacité de produire les acides organiques secondaires utilisés en biolixiviation des déchets (opérations bio-hydrométallurgique). Cette activité permet d'extraire les déchets solides industriels, comme le cuivre, et les accumuler à l'intérieur des cellules fongiques (Xia *et al.*, 2018).

Conclusion

P. chrysogenum produit une grande variété de métabolites secondaires bioactifs, tels que les antibiotiques, les terpènes, les enzymes et les protéines. Ces substances ont un large spectre d'application dans divers domaines industriels. *P. chrysogenum* a aussi une grande capacité à produire des molécules antimicrobiennes telles que les pénicillines, les roquefortines, les fungisporines, la cystine, la xanthocilline X, la chrysogine et les sorbicillinoïdes. Ces molécules sont dotées d'une activité antibactérienne, antifongique, antiparasitaire et/ou antivirale.

Plusieurs modifications génétiques ont été apportées à l'espèce afin d'optimiser sa production des substances antimicrobiennes, notamment la délétion des gènes *Acatg8* et *glrA* dans le but d'augmenter la production des céphalosporines et aussi l'amplification du gène *penDE* afin d'améliorer le taux des pénicillines synthétisées.

A un pH et une température optimum pour la croissance (pH = 7 et température entre 28 et 30°C), l'espèce déclenche la production des métabolites primaires, dont les céphalosporines, et opte pour la compétition alimentaire de l'espèce. Ces deux paramètres lui procurent une grande activité antimicrobienne tant dans le domaine thérapeutique qu'agronomique. Notre travail nous a menés à la conclusion que le pH et la température jouaient un rôle important dans la croissance et la production des métabolites par *P. chrysogenum*. En effet, des valeurs défavorables du pH et de la température placent la moisissure en idiophase et stimulent le métabolisme secondaire ainsi que la production des substances de défense, comme les pénicillines, la cystine, les lipases et les lipolases. Ces composés sont synthétisés à un pH variant entre 5 et 7 et une température supérieure ou inférieure à l'optimum. Les sources complexes d'azote et de carbone jouent aussi un rôle important dans la production de ces composés.

Références

bibliographiques

- Abdel-Azeem, A. M., Salem, F. M., Abdel-Azeem, M. A., Nafady, N. A., Mohesien, M. T., Soliman, E. A. (2016). Biodiversity of the genus *Aspergillus* in different habitats. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Ed. Elsevier. Pages 3-28.
- Abd-ElGawad, A. M., Rashad, Y. M., Abdel-Azeem, A. M., Al-Barati, S. A., Assaeed, A. M., Mowafy, A. M. (2020). *Calligonum polygonoides* L. shrubs provide species-specific facilitation for the understory plants in coastal ecosystem. *Biology*, 9(8), 232.
- Abed, R. M. (2021). Exploring fungal biodiversity of genus *Epicoccum* and their biotechnological potential. *Industrially important fungi for sustainable development*. Ed. Springer, Cham. Pages 237-276.
- Ali, H., Ries, M.I., Lankhorst, P.P., van der Hoeven, R.A., Schouten, O.L., Noga, M., Hankemeier, T., van Peij, N.N., Bovenberg, R.A., Vreeken, R.J., Driessen, A.J. (2014). A non-canonical NRPS is involved in the synthesis of fungisporin and related hydrophobic cyclic tetrapeptides in *Penicillium chrysogenum*. *Plos One*, 9(6), e98212.
- Alshehri, S. O., Malatani, R. T., Bogari, H. A., Noor, A. O., Ibrahim, A. K., Elhady, S. S., Abdelhameed, R. F. (2020). Lama-1: a cerebroside isolated from the deep-sea-derived fungus *Penicillium chrysogenum*. *Metabolites*, 10(2), 75.
- Álvarez, M., Núñez, F., Delgado, J., Andrade, M. J., Rodríguez, M., Rodríguez, A. (2021). Competitiveness of three biocontrol candidates against ochratoxigenic *Penicillium nordicum* under dry-cured meat environmental and nutritional conditions. *Fungal Biology*, 125(2), 134-142.
- Antipova, T. V., Zhelifonova, V. P., Baskunov, B. P., Ozerskaya, S. M., Ivanushkina, N. E., Kozlovsky, A. G. (2011). New producers of biologically active compounds—fungal strains of the genus *Penicillium* isolated from permafrost. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 47(3), 288-292.
- Asthana, M., Kumar, A. (2018). Understanding the diversity of *Penicillium* using next-generation sequencing. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Ed. Elsevier. Pages 19-43.
- Balsalobre, L., Blanco, A., Alarcón, T. (2019). Beta-Lactams. *Antibiotic drug resistance*, 57-72.

Références bibliographiques

- Barreiro, C., García-Estrada, C. (2019). Proteomics and *Penicillium chrysogenum*: unveiling the secrets behind penicillin production. *Journal of Proteomics*, 198, 119-131.
- Berg, M. A. (2013). *Penicillium chrysogenum*: genomics of an antibiotics producer. *Genomics of soil-and plant-associated fungi*. Ed. Springer, Berlin, Heidelberg. Pages 229-254.
- Bertinetti, B. V., Peña, N. I., Cabrera, G. M. (2009). An antifungal tetrapeptide from the culture of *Penicillium canescens*. *Chemistry & Biodiversity*, 6(8), 1178-1184.
- Bush, K., Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247.
- Canteri, H., Ghoul, M. (2015). Submerged liquid culture for production of biomass and spores of *Penicillium*. *Food Reviews International*, 31(3), 262-278.
- Chan, M. Z. A., Liu, S. Q. (2022). Fortifying foods with synbiotic and postbiotic preparations of the probiotic yeast, *Saccharomyces boulardii*. *Current Opinion in Food Science*, 43, 216-224.
- Chandra, P., Enespa, Singh, R., Arora, P. K. (2020). Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-42.
- de Almeida, M. N., Guimarães, V. M., Falkoski, D. L., Paes, G. B., Ribeiro, J. I., Jr, Visser, E. M., Alfenas, R. F., Pereira, O. L., de Rezende, S. T. (2014). Optimization of endoglucanase and xylanase activities from *Fusarium verticillioides* for simultaneous saccharification and fermentation of sugarcane bagasse. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(3), 1332–1346.
- de Menezes, G., Amorim, S. S., Gonçalves, V. N., Godinho, V. M., Simões, J. C., Rosa, C. A., Rosa, L. H. (2019). Diversity, distribution, and ecology of fungi in the seasonal snow of antarctica. *Microorganisms*, 7(10), 445.
- Derntl, C., Guzmán-Chávez, F., Mello-de-Sousa, T. M., Busse, H. J., Driessen, A. J., Mach, R. L., Mach-Aigner, A. R. (2017). *In vivo* study of the sorbicillinoid gene cluster in *Trichoderma reesei*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2037.
- Ding, Z., Zhou, H., Wang, X., Huang, H., Wang, H., Zhang, R., Wang, Z., Han, J. (2020). Deletion of the histone deacetylase HdaA in endophytic fungus *Penicillium chrysogenum* Fes1701 induces the complex response of multiple bioactive secondary metabolite production and relevant gene cluster expression. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(16), 3657.

Références bibliographiques

- Domínguez-Santos, R., Kosalková, K., García-Estrada, C., Barreiro, C., Ibáñez, A., Morales, A., Martín, J. F. (2017). Casein phosphopeptides and CaCl₂ increase penicillin production and cause an increment in microbody/peroxisome proteins in *Penicillium chrysogenum*. *Journal of Proteomics*, 156, 52–62.
- Egbujor, M.C., Okoro, U.C., Okafor, S.N., Egu, S.A., Amasiatu, I.S., Ekwuatu, P.I., Umeh, O.R., Ibo, E.M. (2022). Design, synthesis, and molecular docking of cysteine-based sulphonamide derivatives as antimicrobial agents. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 17(1), 99.
- El Enshasy, H. A. (2022). Fungal morphology: a challenge in bioprocess engineering industries for product development. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 35, 100729.
- El-Sabbagh, N., McNeil, B., Harvey, L. M. (2006). Dissolved carbon dioxide effects on growth, nutrient consumption, penicillin synthesis and morphology in batch cultures of *Penicillium chrysogenum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 185-190.
- Espinosa-Gongora, C., Jessen, L.R., Kieler, I.N., Damborg, P., Bjørnvad, C.R., Gudeta, D.D., Pires dos Santos, T., Sablier-Gallis, F., Sayah-Jeanne, S., Corbel, T. Nevière, A. (2020). Impact of oral amoxicillin and amoxicillin/clavulanic acid treatment on bacterial diversity and β-lactam resistance in the canine faecal microbiota. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(2), 351-361.
- Fernandez-Bunster, G. (2021). Diversity, phylogenetic profiling of genus *Penicillium*, and their potential applications. *Industrially important fungi for sustainable development*. Ed. Springer, Cham. Pages 335-361.
- Fierro, F., Vaca, I., Castillo, N. I., García-Rico, R. O., Chávez, R. (2022). *Penicillium chrysogenum*, a vintage model with a cutting-edge profile in biotechnology. *Microorganisms*, 10(3), 573.
- García-Estrada, C., Martín, J. F., Cueto, L., Barreiro, C. (2020). Omics approaches applied to *Penicillium chrysogenum* and penicillin production: revealing the secrets of improved productivity. *Genes*, 11(6), 712.
- García-Estrada, C., Ullán, R. V., Albillos, S. M., Fernández-Bodega, M. Á., Durek, P., von Döhren, H., Martín, J. F. (2011). A single cluster of coregulated genes encodes the biosynthesis of the mycotoxins roquefortine C and meleagrín in *Penicillium chrysogenum*. *Chemistry & Biology*, 18(11), 1499-1512.

Références bibliographiques

- Grijseels, S., Nielsen, J. C., Nielsen, J., Larsen, T. O., Frisvad, J. C., Nielsen, K. F., Frandsen, R., Workman, M. (2017). Physiological characterization of secondary metabolite producing *Penicillium* cell factories. *Fungal Biology and Biotechnology*, 4, 8.
- Guedes, S. F., Leitão, A. L. (2012). Effect of phenolic compounds and osmotic stress on the expression of penicillin biosynthetic genes from *Penicillium chrysogenum* var. *halophenicum* strain. *Journal of Xenobiotics*, 2(1), e2-e2.
- Guzmán-Chávez, F., Salo, O., Nygård, Y., Lankhorst, P. P., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2017). Mechanism and regulation of sorbicillin biosynthesis by *Penicillium chrysogenum*. *Microbial Biotechnology*, 10(4), 958-968.
- Guzmán-Chávez, F., Zwahlen, R. D., Bovenberg, R., Driessen, A. (2018). Engineering of the filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* as cell factory for natural products. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2768.
- Houbraken, J. A. M. P., Samson, R. (2011). Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in Mycology*, 70(1), 1-51.
- Hu, Y., Zhu, B. (2016). Study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, the cephalosporin C producer. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 1(3), 143-149.
- Hübner, I., Shapiro, J.A., Hoßmann, J., Drechsel, J., Hacker, S.M., Rather, P.N., Pieper, D.H., Wuest, W.M., Sieber, S.A. (2021). Broad spectrum antibiotic xanthocillin X effectively kills *Acinetobacter baumannii* via dysregulation of heme biosynthesis. *ACS Central Science*, 7(3), 488-498.
- Jami, M. S., García-Estrada, C., Barreiro, C., Cuadrado, A. A., Salehi-Najafabadi, Z., Martín, J. F. (2010). The *Penicillium chrysogenum* extracellular proteome. Conversion from a food-rotting strain to a versatile cell factory for white biotechnology. *Molecular & Cellular Proteomics*, 9(12), 2729–2744.
- Jónás, Á., Fekete, E., Flipphi, M., Sándor, E., Jäger, S., Molnár, Á. P., Szentirmai, A., Karaffa, L. (2014). Extra- and intracellular lactose catabolism in *Penicillium chrysogenum*: phylogenetic and expression analysis of the putative permease and hydrolase genes. *The Journal of Antibiotics*, 67(7), 489-497.
- Kalai, S., Bensoussan, M., Dantigny, P. (2014). Lag time for germination of *Penicillium chrysogenum* conidia is induced by temperature shifts. *Food Microbiology*, 42, 149–153.

Références bibliographiques

- Kolanlarli, T. K., Ahmet, A. S. A. N., Burhan, Ş. E. N., Ökten, S. (2019). Biodiversity of *Penicillium* species isolated from edirne söğütlük forest soil (Turkey). *Mantar Dergisi*, 10(1), 26-39.
- Kondoh, M., Hirasawa, T. (2019). L-cysteine production by metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(6), 2609-2619.
- Kumar, V., Ahluwalia, V., Saran, S., Kumar, J., Patel, A. K., Singhania, R. R. (2021). Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites: Challenges and solutions. *Bioresource Technology*, 323, 124566.
- Kumari, A., Ahmad, R., Negi, S., Khare, S. K. (2017). Biodegradation of waste grease by *Penicillium chrysogenum* for production of fatty acid. *Bioresource Technology*, 226, 31-38.
- Lata, R. K., Divjot, K., Nath, Y. A. (2019). Endophytic microbiomes: biodiversity, ecological significance and biotechnological applications. *Research Journal of Biotechnology*, 14, 10.
- Lattab, N., Kalai, S., Bensoussan, M., Dantigny, P. (2012). Effect of storage conditions (relative humidity, duration, and temperature) on the germination time of *Aspergillus carbonarius* and *Penicillium chrysogenum*. *International Journal of Food Microbiology*, 160(1), 80–84.
- Leo, V. V., Viswanath, V., Deka, P., Ramji, D. R., Pachuau, L., Carrie, W., Malvi, Y., Singh, G., Singh, B. P. (2021). *Saccharomyces* and their potential applications in food and food processing industries. *Industrially important fungi for sustainable development*. Ed. Springer, Cham. Pages 393-427.
- Li, H., Hu, P., Wang, Y., Pan, Y., Liu, G. (2018). Enhancing the production of cephalosporin C through modulating the autophagic process of *Acremonium chrysogenum*. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 175.
- Li, Q., Lu, J., Zhang, G., Liu, S., Zhou, J., Du, G., Chen, J. (2022). Recent advances in the development of *Aspergillus* for protein production. *Bioresource Technology*, 126768.
- Lim, F.Y., Won, T.H., Raffa, N., Baccile, J.A., Wisecaver, J., Rokas, A., Schroeder, F.C., Keller, N.P. (2018). Fungal isocyanide synthases and xanthocillin biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*. *Mbio*, 9(3), e00785-18.
- Lima, L. M., da Silva, B. N. M., Barbosa, G., Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: an overview from a medicinal chemistry perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 208, 112829.

- Liszkowska, W., Berłowska, J. (2021). Yeast fermentation at low temperatures: adaptation to changing environmental conditions and formation of volatile compounds. *Molecules*, 26(4), 1035.
- Lončarić, A., Šarkanj, B., Gotal, A.-M., Kovač, M., Nevistić, A., Fruk, G., Skendrović Babojelić, M., Babić, J., Miličević, B., Kovač, T. (2021). *Penicillium expansum* impact and patulin accumulation on conventional and traditional apple cultivars. *Toxins*, 13(10), 703.
- Long, L. K., Yang, J., An, Y., Liu, G. (2012). Disruption of a glutathione reductase encoding gene in *Acremonium chrysogenum* leads to reduction of its growth, cephalosporin production and antioxidative ability which is recovered by exogenous methionine. *Fungal Genetics and Biology*, 49(2), 114–122.
- Mady, M. S., Mohyeldin, M. M., Ebrahim, H. Y., Elsayed, H. E., Houssen, W. E., Haggag, E. G., Soliman, R. F., El Sayed, K. A. (2016). The indole alkaloid meleagrins, from the olive tree endophytic fungus *Penicillium chrysogenum*, as a novel lead for the control of c-Met-dependent breast cancer proliferation, migration and invasion. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(2), 113–122.
- Mahendiran, B., Duraisamy, V., Malarselvi, A. M. (2013). Production, optimization, purification, testing anti-microbial and dye decolorizing properties of penicillin G acylase from *Penicillium chrysogenum*. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 1(4), 29-36.
- McFarland, L. V. (2017). Common organisms and probiotics: *Saccharomyces boulardii*. *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology*. Ed. Academic press. Pages 145-164.
- Meng, J., Wang, X., Xu, D., Fu, X., Zhang, X., Lai, D., Zhou, L., Zhang, G. (2016). Sorbicillinoids from fungi and their bioactivities. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(6), 715.
- Modesto, H. R., Lemos, S. G., Dos Santos, M. S., Komatsu, J. S., Gonçalves, M., Carvalho, W. A., Carrilho, E., Labuto, G. (2021). Activated carbon production from industrial yeast residue to boost up circular bioeconomy. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(19), 24694–24705.
- Mohamed, A. H., Balbool, B. A., Abdel-Azeem, A. M. (2021). *Aspergillus* from different habitats and their industrial applications. *Industrially important fungi for sustainable development*. Ed. Springer, Cham. Pages 85-106.
- Murali, M., Sudisha, J., Amruthesh, K. N., Ito, S. I., Shetty, H. S. (2013). Rhizosphere fungus *Penicillium chrysogenum* promotes growth and induces defence-related genes and downy

Références bibliographiques

- mildew disease resistance in pearl millet. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 15(1), 111–118.
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(1), 1.
- Park, H. S., Jun, S. C., Han, K. H., Hong, S. B., Yu, J. H. (2017). Diversity, application, and synthetic biology of industrially important *Aspergillus* fungi. *Advances in Applied Microbiology*, 100, 161–202.
- Pohl, C., Polli, F., Schütze, T., Viggiano, A., Mózsik, L., Jung, S., de Vries, M., Bovenberg, R., Meyer, V., Driessen, A. (2020). A *Penicillium rubens* platform strain for secondary metabolite production. *Scientific Reports*, 10(1), 7630.
- Rahbar Saadat, Y., Yari Khosroushahi, A., Pourghassem Gargari, B. (2021). Yeast exopolysaccharides and their physiological functions. *Folia Microbiologica*, 66(2), 171–182.
- Ramesh, C., Vinithkumar, N. V., Kirubakaran, R., Venil, C. K., Dufossé, L. (2019). Multifaceted applications of microbial pigments: Current knowledge, challenges and future directions for public health implications. *Microorganisms*, 7(7), 186.
- Ries, M. I., Ali, H., Lankhorst, P. P., Hankemeier, T., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J., Vreeken, R. J. (2013). Novel key metabolites reveal further branching of the roquefortine/meleagrins biosynthetic pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 288(52), 37289–37295.
- Roblin, G., Octave, S., Faucher, M., Fleurat-Lessard, P., Berjeaud, J. M. (2018). Cysteine: A multifaceted amino acid involved in signaling, plant resistance and antifungal development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129, 77–89.
- Ropars, J., Caron, T., Lo, Y. C., Bennetot, B., Giraud, T. (2020). La domestication des champignons *Penicillium* du fromage [The domestication of *Penicillium* cheese fungi]. *Comptes rendus. Biologies*, 343(2), 155–176.
- Sawant, A. M., Vamkudoth, K. R. (2022). Biosynthetic process and strain improvement approaches for industrial penicillin production. *Biotechnology Letters*, 1–14.
- Schmitz, K., Peter, V., Meinert, S., Kornfeld, G., Hardiman, T., Wiechert, W., Noack, S. (2013). Simultaneous utilization of glucose and gluconate in *Penicillium chrysogenum* during overflow metabolism. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(12), 3235–3243.

Références bibliographiques

- Shen, Y. Q., Wolfe, S., Demain, A. L. (1986). Levels of isopenicillin N synthetase and deacetoxycephalosporin C synthetase in *Cephalosporium acremonium* producing high and low levels of cephalosporin C. *Bio/technology*, 4(1), 61-64.
- Sikandar, A., Zhang, M., Wang, Y., Zhu, X., Liu, X., Fan, H., Xuan, Y., Chen, L., Duan, Y. (2020). In vitro evaluation of *Penicillium chrysogenum* Snef1216 against *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode). *Scientific Reports*, 10(1), 1-9.
- Singh, P., Chauhan, M. (2013). Influence of environmental factors on the growth of building deteriorating fungi: *Aspergillus flavus* and *Penicillium chrysogenum*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1), 425.
- Soltani, M., Abd Malek, R., Ware, I., Ramli, S., Elsayed, E. A., Aziz, R., El Enshasy, H. A. (2017). Optimization of cordycepin extraction from *Cordyceps militaris* fermentation broth. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 76, 355-361.
- Sun, Y. L., Zhang, X. Y., Zheng, Z. H., Xu, X. Y., Qi, S. H. (2014). Three new polyketides from marine-derived fungus *Penicillium citrinum* SCSGAF 0167. *Natural Product Research*, 28(4), 239-244.
- Toghueo, R., Boyom, F. F. (2020). Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications. *3 Biotech*, 10(3), 107.
- Veiter, L., Herwig, C. (2019). The filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* analysed via flow cytometry-a fast and statistically sound insight into morphology and viability. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(16), 6725-6735.
- Veiter, L., Kager, J., Herwig, C. (2020). Optimal process design space to ensure maximum viability and productivity in *Penicillium chrysogenum* pellets during fed-batch cultivations through morphological and physiological control. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 33.
- Viggiano, A., Salo, O., Ali, H., Szymanski, W., Lankhorst, P.P., Nygård, Y., Bovenberg, R.A., Driessen, A.J. (2018). Pathway for the biosynthesis of the pigment chrysogine by *Penicillium chrysogenum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(4), e02246-17.
- Vinale, F., Salvatore, M. M., Nicoletti, R., Staropoli, A., Manganiello, G., Venneri, T., Borrelli, F., DellaGreca, M., Salvatore, F., Andolfi, A. (2020). Identification of the main metabolites of a marine-derived strain of *Penicillium brevicompactum* Using LC and GC MS Techniques. *Metabolites*, 10(2), 55.

Références bibliographiques

- Visagie, C.M., Houbraeken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H.W., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T., Samson, R.A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343-371.
- Vu, T.X., Vu, H.H., Nguyen, G.T., Vu, H.T., Mai, L.T.D., Pham, D.N., Le, D.H., Nguyen, H.Q., Tran, V.T. (2019). A newly constructed *Agrobacterium*-mediated transformation system revealed the influence of nitrogen sources on the function of the *LaeA* regulator in *Penicillium chrysogenum*. *Fungal Biology*, 123(11), 830-842.
- Wang, X., Zhao, J., Xia, J., Fierro, G., Chu, J., Zhuang, Y. (2021). Impact of altered trehalose metabolism on physiological response of *Penicillium chrysogenum* chemostat cultures during industrially relevant rapid feast/famine conditions. *Processes*, 9(1), 118.
- Weber, S. S., Polli, F., Boer, R., Bovenberg, R. A., Driessen, A. J. (2012). Increased penicillin production in *Penicillium chrysogenum* production strains via balanced overexpression of isopenicillin N acyltransferase. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(19), 7107-7113.
- Xia, M.C., Bao, P., Liu, A.J., Zhang, S.S., Peng, T.J., Shen, L., Yu, R.L., Wu, X.L., Li, J.K., Liu, Y.D., Chen, M. (2018). Isolation and identification of *Penicillium chrysogenum* strain Y5 and its copper extraction characterization from waste printed circuit boards. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 126(1), 78-87.
- Xu, X., Xia, L., Zhu, W., Zhang, Z., Huang, Q., Chen, W. (2015). Role of *Penicillium chrysogenum* XJ-1 in the detoxification and bioremediation of cadmium. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1422.
- Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, V., Sangwan, P., Mishra, S., Panjiar, N., Gupta, V. K., Saxena, A.K. (2018). Biodiversity of the genus *penicillium* in different habitats. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Ed. Elsevier. Pages 3-18.
- Yang, Q., Lin, W., Xu, J., Guo, N., Zhao, J., Wang, G., Wang, Y., Chu, J., Wang, G. (2022). Changes in oxygen availability during glucose-limited chemostat cultivations of *Penicillium chrysogenum* lead to rapid metabolite, flux and productivity responses. *Metabolites*, 12(1), 45.
- Yang, S. T. (2007). Bioprocessing for value-added products from renewable resources. *New technologies and applications*. Elsevier Editions., Pages 447-463.

Références bibliographiques

- Yang, S., Wang, T., Zhou, Y., Shi, L., Lu, A., Wang, Z. (2021). Discovery of cysteine and its derivatives as novel antiviral and antifungal agents. *Molecules*, 26(2), 383.
- Zhang, H. L., Cai, H., Xia, Y., Zhang, P., Xiong, S. W., Gai, J. G. (2020). An l-cystine/l-cysteine impregnated nanofiltration membrane with the superior performance of an anchoring heavy metal in wastewater. *RSC Advances*, 10(6), 3438-3449.
- Zheng, C. J., Huang, G. L., Xu, Y., Song, X. M., Yao, J., Liu, H., Wang, R. P., Sun, X. P. (2016). A new benzopyrans derivatives from a mangrove-derived fungus *Penicillium citrinum* from the south china sea. *Natural Product Research*, 30(7), 821–825.
- Ziemons, S., Koutsantas, K., Becker, K., Dahlmann, T., Kück, U. (2017). Penicillin production in industrial strain *Penicillium chrysogenum* P2niaD18 is not dependent on the copy number of biosynthesis genes. *BMC Biotechnology*, 17(1), 16.

Glossaire

- Acatg8* : Gène qui code pour la protéine responsable de l'autophagie 8.
- BenA* : Gène qui code pour la grande sous-unité du benzoate 1,2-dioxygénase.
- CaM* : Gène qui code pour la calmoduline.
- CefD1* : Gène qui code pour l'isopénicilline N épimérase composant 1.
- CefD2* : Gène qui code pour l'isopénicilline N épimérase composant 2.
- cefEF* : Gène qui code pour la protéine de la biosynthèse de la céphalosporine expandase/hydroxylase.
- cefG* : Gène qui code pour le facteur d'allongement G-1.
- CHT* : Gène qui code pour le transporteur de la choline.
- ChyA* : Gène qui code pour la protéine A de cluster biosynthétique de la chrysogine.
- cysE* : Gène qui code pour la protéine sérine acétyltransférase.
- cysK* : Gène qui code pour la protéine cystéine synthase A.
- H1N1 : Sérotype du virus de la grippe a.
- hcpA* : Gène qui code pour la protéine de type HP1.
- LOX* : Gène qui code pour la lysyl oxydase.
- MDFA : Milieu de production défini par Shen *et al.* (1986).
- MDFP : Milieu de production défini par Domínguez-Santos *et al.* (2017).
- PcbAB* : Gène qui code pour la protéine alpha-aminoadipyl-cystéinyl-valine synthétase.
- PcbC* : Gène qui code pour la protéine PSII 43 kDa.
- PenDE* : Gène qui code pour la protéine acyl-coenzyme A: 6-aminopénicillanique-acide acyltransférase 40 kDa.
- POX* : Gène qui code pour la peroxydase.
- Pr-1* : Gène qui code pour la protéine liée à la pathogénèse 1.
- RoqA* : Gène qui code pour la protéine A de synthèse de la roquefortine/méléagrine.

- RPB2* : Gène qui code pour la sous-unité centrale RPB2 de l'ARN polymérase II dirigée par l'ADN.
- SHC* : Gène qui code pour la protéine de l'adaptateur SHC.
- SorA* : Gène qui code pour la protéine A de cluster biosynthétique sorbicillines.
- SorB* : Gène qui code pour la protéine B de cluster biosynthétique des sorbicillines.
- Xan* : Groupe de gènes de biosynthèse de la xanthocilline.



Effet de la température et du pH sur la production des substances antimicrobiennes par *Penicillium chrysogenum*

Préparé par :
Mr BELDJAZIA Abdelkrim
Mr KAMAH Abdenacer

Résumé : *Penicillium chrysogenum* est une moisissure ubiquiste qui présente une grande importance pharmaceutique et biotechnologique de par sa production d'une grande variété des métabolites bioactifs intéressants. Parmi eux, nous pouvons citer les pénicillines, les céphalosporines, les sorbicillinoïdes, les roquefortines, la xanthocilline et la cystine qui sont dotées d'un grand pouvoir antimicrobien contre les pathogènes, ceci donne de larges applications thérapeutiques à l'espèce. Les facteurs de culture du microorganisme ont un grand pouvoir sur l'orientation de son métabolisme. Ils permettent en effet de favoriser la production des métabolites primaires en trophophase ou secondaires en idiophase. Le pH et la température sont considérés comme étant des facteurs clés lors des productions industrielles de l'espèce. À des valeurs optimales pour la croissance (température entre 28 et 30°C, pH à 7), *P. chrysogenum* inhibe le métabolisme secondaire et favorise la production des céphalosporines, ainsi que la compétition alimentaire contre les autres microorganismes. Ceci représente un grand pouvoir antimicrobien pour l'espèce. D'un autre côté, lorsque les conditions deviennent défavorables, cette moisissure stimule de façon significative la production des composés secondaires de défense telles que les pénicillines, les lipases, les lipolases ainsi que d'autres substances à activité antibactérienne et antifongique. Dans ce travail, nous sommes arrivés à la conclusion que les moindres changements dans les valeurs du pH et de la température pouvaient affecter de manière significative la production des substances antimicrobiennes par *P. chrysogenum*.

Mots clé : *P. chrysogenum* ; culture ; activité antimicrobienne ; intérêt industriel, pH ; température, molécules bioactives.

Abstract: *Penicillium chrysogenum* is a ubiquitous mould that is of great pharmaceutical and biotechnological importance because of its production of a wide variety of interesting bioactive metabolites. Among which we can mention penicillin's, cephalosporins, sorbicillinoids, roquefortines, xanthocillin and cystine which are endowed with a great antimicrobial power against pathogens, this provides broad therapeutic applications to the species. The culture factors of the microorganism have a great power on the orientation of its metabolism. They allow to promote the production of primary metabolites in trophophase or secondary ones in idiophase. PH and temperature are considered key factors in the species' industrial production. At optimal growth values (temperature between 28 and 30°C, pH 7), *P. chrysogenum* inhibits secondary metabolism and fosters the production of cephalosporins, as well as food competition against other microorganisms. This represents a great antimicrobial power for the species. On the other hand, when conditions become unfavourable, this mould significantly stimulates the production of secondary defense compounds such as penicillins, lipases, lipolases and other substances with antibacterial and antifungal activity. In this work, we concluded that the smallest changes in pH and temperature values could significantly affect the production of antimicrobial substances by *P. chrysogenum*.

Keywords: *P. chrysogenum*; culture; antimicrobial activity; industrial interest, pH; temperature, bioactive molecules.

الخلاصة : *Penicillium chrysogenum* هو عفن فطري واسع الانتشار، له أهمية صيدلانية و بيوتكنولوجية كبيرة نظرًا لإنتاجه مجموعة متنوعة من المستقلبات النشطة بيولوجيًا المثيرة للاهتمام والتي نذكر من بينها البنسلينات (les pénicillines)، السيفالوسبورينات (les céphalosporines)، السوربيسيلينويد (les sorbicillinoïdes) ، والروكفورتنينات (les roquefortines) ، لزانثوسيلين (la xanthocilline) والسيسستين (la cystine) الذين لديهم قوة كبيرة مضادة للميكروبات ضد مسببات الأمراض ، وهذا ما يعطي تطبيقات علاجية واسعة لهذا النوع. عوامل استزراع الكائن الدقيق لها قوة كبيرة في تحديد عملية الايض. إنها في الواقع تجعل من الممكن تعزيز إنتاج المستقلبات الأولية في طور التغذية (trophophase) أو المستقلبات الثانوية في طور الإنتاج (Idiophase). يعتبر الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة من العوامل الرئيسية في الإنتاج الصناعية لهذا النوع. عند القيم المثلى للنمو (درجة الحرارة بين 28 و 30 درجة مئوية ، ودرجة الحموضة عند 7) ، يثبط *P. chrysogenum* الأيض الثانوي ويعزز إنتاج السيفالوسبورينات (les céphalosporines) ، وكذلك المنافسة الغذائية ضد الكائنات الحية الدقيقة الأخرى. وهذا يمثل القوة الكبيرة المضادة للميكروبات لهذا النوع. من ناحية أخرى ، عندما تصبح الظروف غير مواتية ، فإن هذا العفن يحفز بشكل كبير إنتاج مركبات الدفاع الثانوية مثل البنسلين (les pénicillines) والليپاز (les lipolases) والليپولاز (les lipolases) والمواد الأخرى ذات النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات. في هذا العمل ، توصلنا إلى استنتاج مفاده أن أدنى تغيرات في قيم الأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة يمكن أن تؤثر بشكل كبير على إنتاج المواد المضادة للميكروبات بواسطة *P. chrysogenum*.

الكلمات المفتاحية : *P. chrysogenum* ؛ استزراع ؛ نشاط مضاد للميكروبات؛ أهمية صناعية ؛ الرقم الهيدروجيني؛ درجة الحرارة ؛ الجزيئات النشطة بيولوجيًا.