



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



Ministère de l'enseignement supérieur et de la
Recherche scientifique

Université de Jijel

Faculté des sciences

Département de biochimie et de microbiologie

MB 12/06

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme d'études

Supérieurs en biologie

D.E.S.

Option: Microbiologie

THEME

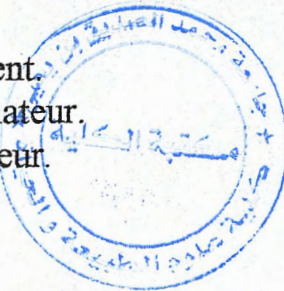
Contribution à l'étude de la cinétique de
croissance de quelques moisissures issues de
produits alimentaires

Le membre de jury:

- ❖ S.Laggoune * Président.
- ❖ H.Khemnauf * Examineur.
- ❖ M. Bouljedri * Encadreur.

Présenté par:

- Boucenna Saida
- Herri Meriem
- Meliani Lamia



* Promotion- 2006- *

دعاء

يا رب لا تحزنني أصاب بالغرور إذا نجت

ولا أصاب باليأس إذا فلتت

بل ذكرني بأن الفضل هو التجارب التي تسبق النجاح

يا رب علمني أن التسامح هو أكبر مراتب القوة

وأن حب الإنتقام هو أول مظاهر الضعف

يا رب إذا جردتني من المال أترك لي الأمل

وإذا جردتني من النجاح

أترك لي قوة العناد حتى أتغلب على الفضل

وإذا جردتني من نعمة الصحة أترك لي نعمة الإيمان

يا رب إذا أساء إلي الناس أعطني شجاعة الإحتذار

وإذا أساء إلي الناس أعطني شجاعة العفو

يا رب إذا نسيتك لا تنساني

آمين

Remerciements

Nous remercions dieu qui nous a donné le courage et la volonté d'avoir réussi dans nos études.

Au terme ce travail, il nous est agréable de remercier tous ceux qui de près ou de loin :

Notre encadreur M^{ieur} Boulgedri Mohamed qui nous a proposé ce sujet de recherche et qui nous a encadré et soutenu par ses conseils, sa compréhension, sa gentillesse et ses connaissances.

Nos remerciements s'adressent également à :

M^{elle} :H. Khennauf

M^{elle} :S. Laggoune

Pour avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et le juger.

Sans oublier M^{ieur} Sebti Mohamed et les personnels du laboratoire de biologie et les personnels de la bibliothèque.

BOUCENNA SAIDA

HERRI MERIEM

MELIANI LAMIA

MERCI

Sommaire

Sommaire

Introduction

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Les moisissures

1- Généralités.....	1
2- Structure de l'appareil végétatif.....	1
2-1- Les moisissures à thalle septé.....	1
2-2- Les moisissures à thalle siphonné (non cloisonné).....	2
3- Classification des moisissures.....	2
3-1- Zygomycètes.....	3
3-2- Ascomycètes.....	4
3-3- Deuteromycètes.....	5
4- La reproduction.....	6
4-1- Reproduction asexuée.....	7
4-2- Reproduction sexuée.....	7

Chapitre II: Croissance et développement des moisissures

1- Croissance apicale.....	9
2- Les Colonies fongiques.....	10
3- Méthodes de mesure de la croissance fongique.....	11
3-1- La méthode de poids sec de mycélium	11
3-2- La méthode photométrique.....	12
3-3- Méthode de dosage le nitrogène cellulaire.....	12
3-4- Croissance linéaire.	12
4- Les conditions de développement des moisissures.	12
4-1- Les éléments nutritifs.....	12
4-2- Les conditions physicochimiques.....	13
4-2-1- Le pH.....	13
4-2-2- La température.....	13
4-2-3- L'oxygène	14
4-2-4- L'humidité.....	15
4-2-5- La lumière.....	15
5- Les nuisances des moisissures.....	15
5-1- Les mycotoxines	15
5-1-1- Définition.....	15

5-1-2- Les différentes mycotoxines.....	16
5-1-2-1- Aflatoxine.....	16
5-1-2-2- Ochratoxine.....	16
5-1-2-3- Patuline.....	16
5-1-2-4- Zéaralénone.....	16
5-1-2-5- Trichothécènes	16
5-2- Biodétérioration d'objets.....	19
5-2-1- Denrées alimentaires.....	19
5-2-1-1- Céréales.....	19
5-2-1-2- Les poudres de lait.....	19
5-2-1-3- Les viandes.....	20
5-2-1-4- Les légumes frais.....	20
5-2-1-5- Les fruits.....	20
5-2-1-6- Les jus des fruits.....	20
5-2-1-7- Les graines oléagineuses.....	20
5-2-2- Produits divers.....	20
5-2-2-1- Textiles.....	20
5-2-2-2- Papier.....	21
5-2-2-3- Bois.....	21
5-3- Pathologie provoquées par les moisissures.	21
5-3-1- Chez l'homme.....	21
5-3-2- Chez les animaux.	22
5-3-3- Chez les végétaux.	23

Deuxième partie : Etude expérimentale

1- Matériel et méthode.....	25
1-1-Matériel.....	25
1-2-Méthode.....	25
1-2-1- L'isolement.....	25
1-2-2- Purification	26
1-2-3- Croissance linéaire des hyphes	26
2- Résultats et discussion	28
2-1- Résultats	28
2-2- Discussion	39

Conclusion

Références bibliographiques.

Liste des tableaux

Tableau I: Les caractéristiques physiques des colonies fongiques de quelques espèce de moisissures.....	11
Tableau II: pH min et pH max pour la croissance de certaines moisissures.....	13
Tableau III: L'exigence thermique pour le développement des moisissures.....	14
Tableau IV: Principales mycotoxines liées à la consommation d'aliments pollués par des moisissures	18
Tableau V: L'identification morphologiques des moisissures.....	26
Tableau VI: Suivi de croissance en diamètre de colonies (mm) à 37 ⁰ C.....	28
Tableau VII: Suivie de croissance en diamètre des colonies (mm) à 25 ⁰ C.....	28
Tableau VIII: Suivie de croissance en diamètre des colonies (mm) à 10 ⁰ C.....	29
Tableau IX: Suivie de croissance en longueur des hyphes (mm) à 37 ⁰ C.....	30
Tableau X: Suivie de croissance en longueur des hyphes (mm) à 25 ⁰ C.....	30
Tableau XI: suivi de croissance en longueur des hyphes (mm) à 10 ⁰ C.....	31
Tableau XII: suivi de développement des ramifications à 37 ⁰ C.....	32
Tableau XIII: suivi de développement des ramifications à 25 ⁰ C.....	32
Tableau XIV: suivi de développement des ramifications à 10 ⁰ C.....	33

Liste des figures

Figure 1 : Structure d'une hyphe segmenté.....	2
Figure 2 : Structure d'une hyphe non segmenté.....	2
Figure 3 : Structure morphologique des mucorales.....	3
Figure 4 : Structure morphologique des Ascomycètes.....	4
Figure 5 : Caractères morphologiques des Eurotiales.....	5
Figure 6 : Structure reproductrices des Deutromycètes.....	6
Figure 7 : Biocycle d'un champignon type.....	8
Figure 8 : Schéma de l'extrémité d'un hyphe représentant la croissance en longueur du mycélium.....	10
Figure 9 : Variation du diamètre de colonie en fonction du temps à 37°C.....	28
Figure 10 : Variation du diamètre de colonie en fonction du temps à 25°C.....	29
Figure 11 : Variation du diamètre de colonie en fonction du temps à 10°C.....	29
Figure 12 : Variation de la croissance en longueur des hyphes en fonction du temps à 37°C.....	30
Figure 13 : Variation de la croissance en longueur des hyphes en fonction du temps à 25°C.....	31
Figure 14 : Variation de la croissance en longueur des hyphes en fonction du temps à 10°C.....	31
Figure 15 : Développement des ramifications en fonction du temps à 37°C.....	32
Figure 16 : Développement des ramifications en fonction du temps à 25°C.....	33
Figure 17 : Développement des ramifications en fonction du temps à 10°C.....	33
Figure 18 : Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 37°C.....	34
Figure 19 : Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 25°C.....	34
Figure 20 : Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 10°C.....	35
Figure 21 : Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 37°C.....	35
Figure 22 : Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 25°C.....	36
Figure 23 : Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 10°C.....	36
Figure 24 : Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 37°C.....	37
Figure 25 : Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 25°C.....	37
Figure 26 : Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 10°C.....	38

Introduction

Introduction:

Les moisissures sont des mycètes multicellulaires. Ce sont des organismes filamenteux eucaryotes, qui provoquent l'altération des aliments, comme elles sont capables, au cours de leur développement de synthétiser des substrats toxiques appelés mycotoxines. [1].

Il est donc indispensable de faire un traitement des produits pour inhiber le développement des organismes indésirables tout en préservant la santé des consommateurs.

La croissance des hyphes chez les moisissures est strictement apicale, et suivie d'une ramification qui conduit à la formation d'un mycélium ou thalle. Cette croissance met en jeu la lyse de la paroi apicale et une synthèse de matériel pariétal nouveau. [2]. Le développement fongique est sous la dépendance des éléments nutritif et de conditions physicochimiques tels que l'humidité, le pH, la lumière, l'oxygène et la température, cette dernière intervient dans le métabolisme de la cellule fongique (germination, croissance et fructification).

La croissance des moisissures est optimale à certaines températures, ces dernières sont spécifiques pour chaque genre qu'on appelle la température optimale ce qui expose beaucoup de produits alimentaires aux risques de détérioration et pourriture suite à une croissance rapide des moisissures polluantes.

L'objectif de notre travail est l'étude de la cinétique de croissance de certaines moisissures issues de quelques produits alimentaires,

- dans le premier volet on a fait une analyse bibliographique: la croissance des moisissures et leurs dangers et nuisances.
- Le deuxième volet, on a étudié la croissance de certaines moisissures à des températures différentes au niveau du laboratoire.

On termine par l'interprétation des résultats et une conclusion.

Premiere partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I

Les moisissures

Chapitre I : Les moisissures

1- Généralités :

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des eucaryotes, hétérotrophes, donc obligés de prélever carbone et azote nutritif dans la matière organique. D'une façon générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement. Elles peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût ou, plus gravement, production de mycotoxines. [3]. Les moisissures ont en général un besoin en eau faible par rapport aux autres micro-organismes et elle peuvent se développer sur des aliments à faible activité de l'eau [4].

Les espèces qui colonisent un substrat mort ou inerte sont des "saprophytes" et celles qui se développent au dépend d'autres organismes vivants sont des "parasites". [5].

2- Structure de l'appareil végétatif :

Les moisissures appartiennent à l'embranchement des thallophytes leur appareil végétatif appelé thalle est formé d'une multitude de filaments ramifiés dont l'ensemble constitue le mycélium.

L'appareil végétatif : dépourvu de tiges, de racines et de feuilles –est appelé thalle. Le thalle peut être unicellulaire, dissocié et bourgeonnant (levures) ou filamenteux habituellement limité par une paroi rigide à l'exception du groupe *Gymnomycota* composé d'organismes à structure végétative nues et capables de se mouvoir à l'aide de pseudopodes. [6].

La croissance de mycélium fongique est une croissance terminale (apicale) mais se fait aussi par des ramifications, On trouve chez certaines moisissures des formations mycéliennes particulières : rhizoïdes, structures massives appelées stromas, dont certaines ont un rôle de conservation (sclérotés); d'autres servent de protection aux "organes" de reproduction [4]. On distingue les moisissures à thalle septé et d'autres à thalle siphonné (non cloisonné). [7].

2-1- Les moisissures à thalle septé :

Les champignons supérieurs ont des thalles cloisonnés par la septation transversale de leur paroi cellulaire. Cependant, les septums ainsi formés restent perforés en leur centre, permettant la communication entre les différents compartiments hyphaux [8]. (Figure 1)

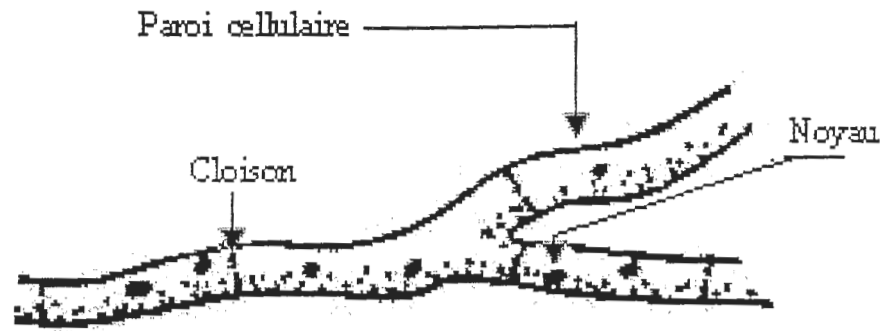


Figure 1 : Structure d'une hyphe segmentée. [9].

C'est le cas des moisissures appartenant à la classe des Ascomycètes et Deuteromycètes caractérisés par la présence de structures fructifères appelées conidiophores produisant des conidies.

2-2- Les moisissures à thalle siphonné (non cloisonné):

Chez les Zygomycètes, les filaments en forme de tubes non cloisonnés, renferment une masse cytoplasmique contenant de nombreux noyaux ; Ce type de mycélium caractérise les champignons inférieurs, il s'agit de filaments non cloisonnés transversalement (Figure 2).

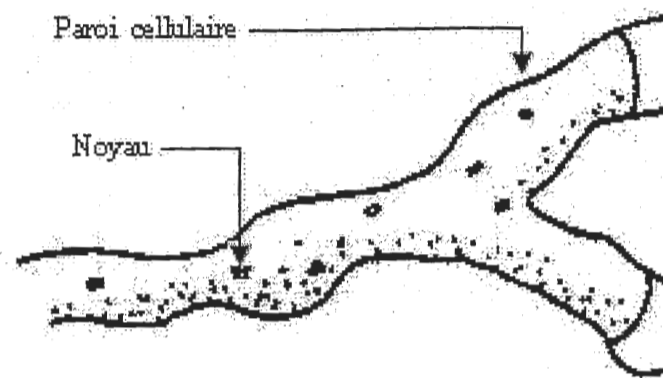


Figure 2 : Structure d'une hyphe non segmentée.[9].

On les appelle siphons, ceux sont des organismes Cœnocytiques. [10].

3- Classification des moisissures :

Les moisissures fréquemment rencontrées dans les industries alimentaires appartiennent à trois classes de champignons. Ces trois classes entrent à la division Amastigomycota qui se caractérise par l'absence de cellules mobiles [6].

3-1- Zygomycètes :

Mycélium sans cloisons, reproduction asexuée le plus souvent par sporocystospores ou parfois par "conidies exogènes ", dans le cas d'une reproduction sexuée par fusion de gamétocystes

Ce groupe se divise en deux ordres dans le cas de -spores asexuées formées dans des sporocystes il s'agit de l'ordre des : Mucorales [6].

❖ Ordre1: mucorales :

Ce sont des moisissures dont les spores sont contenus a l'intérieur d'une cellule renflée (sporangie ou sporocyste) portée a l'extrémité de filaments ou sporangiophores qui se prolongent dans le sporangie par une columelle de forme caractéristique (Figure 3).

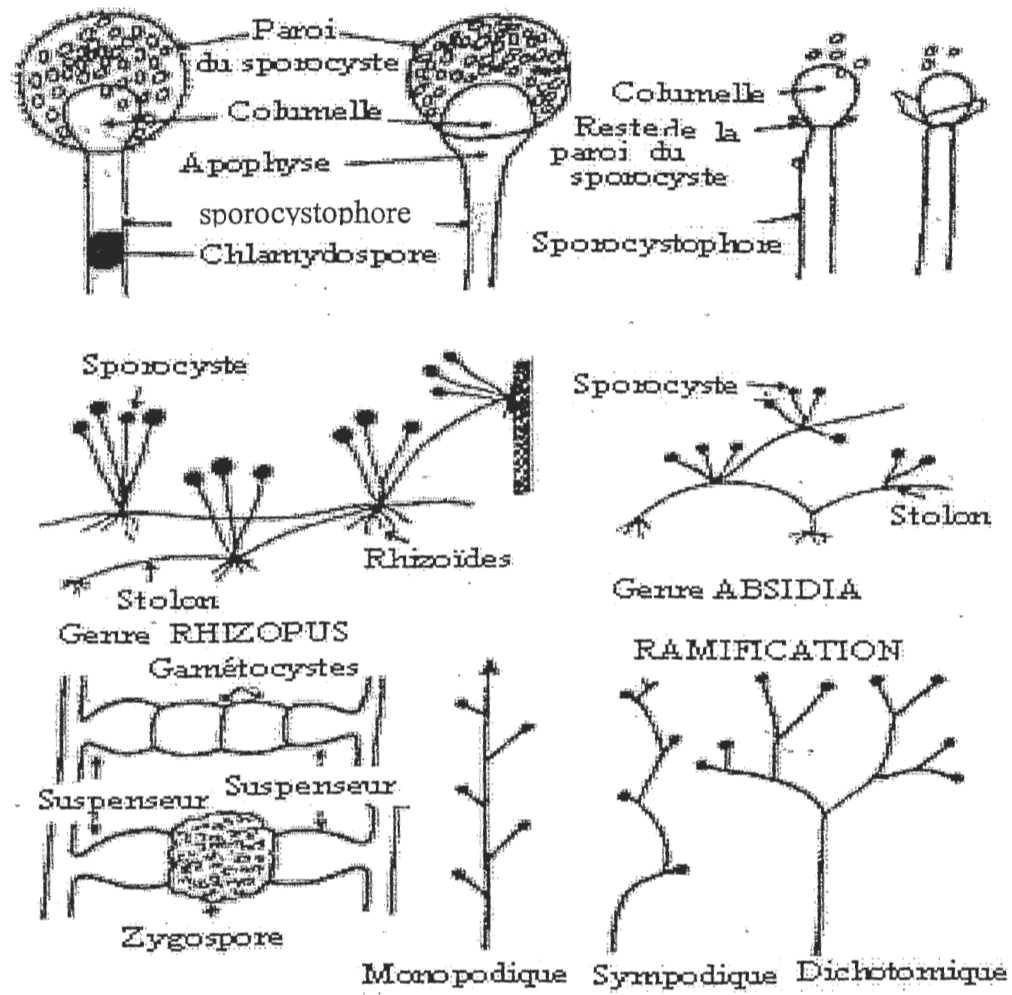


Figure 3 : Structure morphologique des Mucorales. [6].

La reproduction sexuée des mucorales fait intervenir une cystogamie typique avec rapprochement de bourgeons latéraux qui entrent en contact et fusionnent. Certaines espèces sont homothaliques (un mycélium issu d'une spore conduit à la cystogamie) : d'autres espèces sont hétérothaliques (la reproduction sexuée n'intervient que lorsqu'il y a rencontre de mycéliums issus de spores de signes complémentaires). [11].

❖ Ordre 2 : Entomophtorales :

Spores asexuées semblables à des conidies exogènes, projetées à maturité, Champignons saprophytes ou le plus souvent parasite d'insectes. [12].

Entomophthora muae se développe sur les mouches mortes.

Entomophthora virulenta, pathogène pour les hémiptères, lépidoptères et diptères. [13].

3-2- Ascomycètes :

Thalle à mycélium septé ou unicellulaire (levure), reproduction sexuée par formation de spores méiotiques (ascospores) dans des asques ces derniers peuvent être regroupés en plusieurs appareils sporifères. (cleistothèse, périthèse ...) (Figure 4).

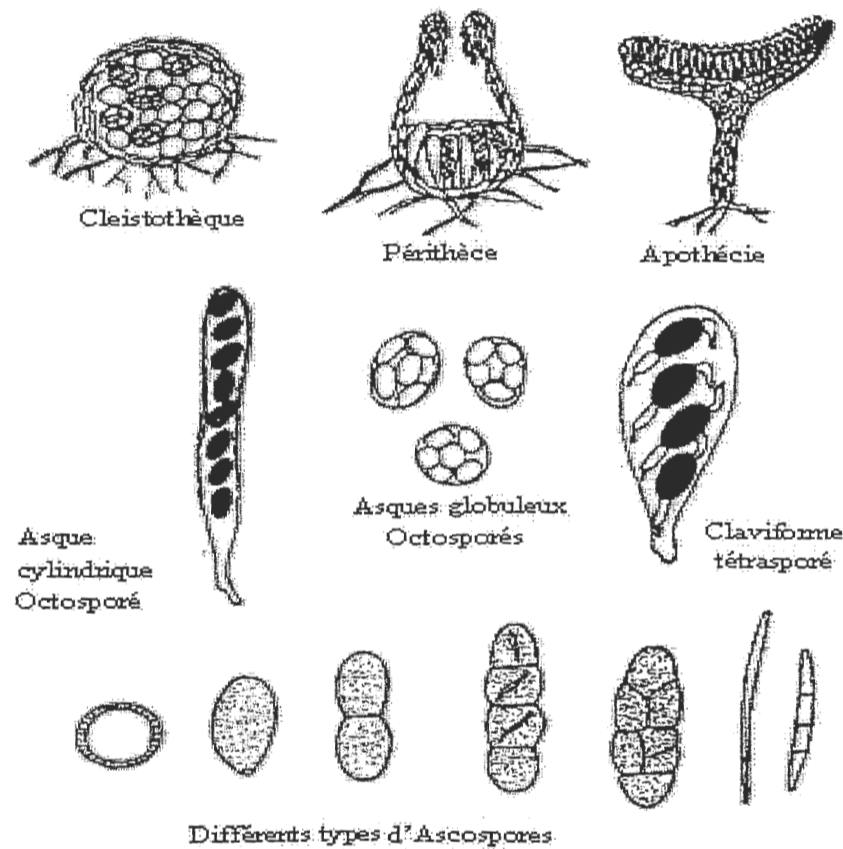


Figure 4 : Structure morphologique des Ascomycètes. [6].

Les Ascomycètes regroupent de nombreux champignons parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures contaminant les produits alimentaires. [14].

❖ **Ordre des Eurotiales :**

Les moisissures décrites dans cet ordre ont une reproduction sexuée (téléomorphe) régulièrement obtenue en culture et appartenant aux Ascomycètes. Ceux-ci sont caractérisés par la formation, après conjugaison sexuée, de spores contenues en nombre régulier (8), dans des asques. Les asques eux-mêmes sont dans une fructification close: le cleistothèce. A maturité, sa paroi se détruit et les ascospores sont libérées. En culture on observe simultanément une reproduction asexuée (Anamorphe). [3]. (Figure 5).

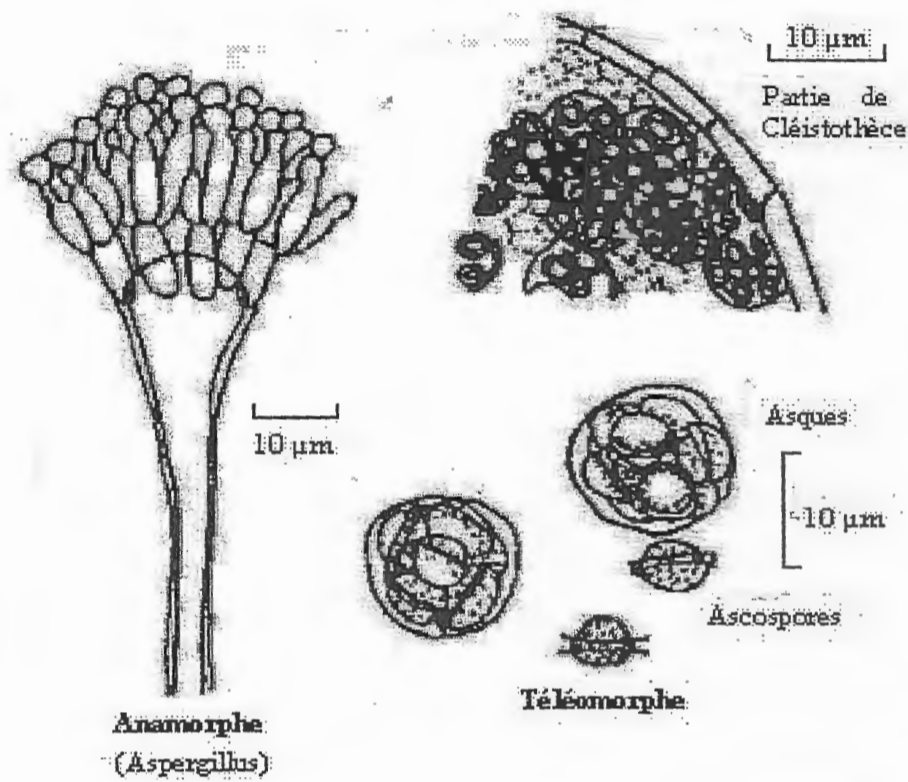


Figure 5 : Caractères morphologiques des Eurotiales. [3].

3-3- Deutéromycètes :

Encore appelées Adélomycètes, *fungi imperfecti* (champignons imparfaits).

La reproduction sexuée n'existe plus ou est inconnue. Certains sont des parasites très communs (*Alternaria...ex*). [15].

La plupart présentent, néanmoins, des similitudes avec les Ascomycètes. Ils se reproduisent uniquement par voie végétative au moyen de spores asexuées groupées en appareil sporifères (Figure 6).

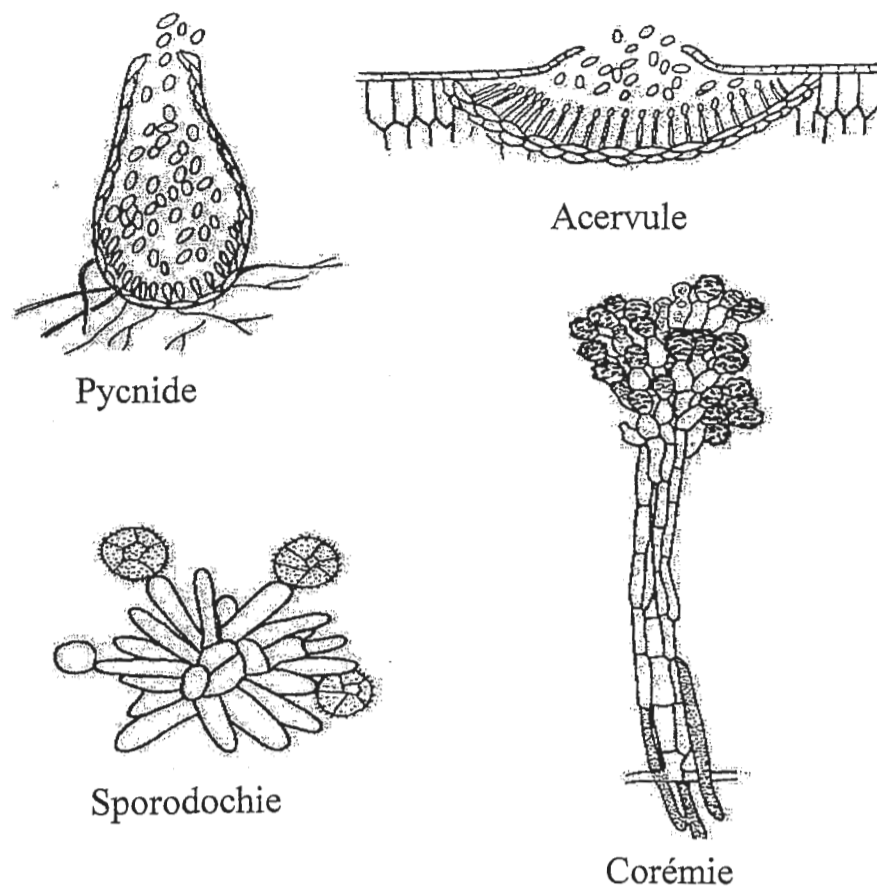


Figure 6 : Structure reproductrices des Deutéromycètes .[6] .

Ou par simple fragmentation du mycélium. [9] Ils sont classés en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. [4] Ce groupe comprend tous les champignons qui ne produisent ni ascospores, ni basidiospores et qui se multiplient au moyen de conidies. Les deutéromycètes se divisent en trois classes:

- Blastomycètes : levures avec ou sans pseudo mycélium.
- Coelomycètes : conidies produites dans des pycnides ou dans des acervules
- Hhyphomycètes: champignons filamenteux, stériles. [6], [16].

4- La reproduction :

Les champignons se multiplient naturellement par des spores (ou conidies) qui sont formées par l'intermédiaire de structures conidiogènes appelées (conidiophore)

Ces derniers prennent naissance à partir de la différenciation du mycélium. Il y'a deux façons de produire des spores : par reproduction sexuée et par reproduction asexuée. [5].

4-1- Reproduction asexuée :

La reproduction asexuée est très répandue et se fait sans recombinaison génétique, selon différents modes : simple fragmentation du mycélium, bourgeonnement (émergence d'une nouvelle cellule de la surface d'une autre cellule) ou plus généralement par la formation de spores, appelées aussi conidies et formées un nombre plus ou moins important dans une structure spécialisée : le sporange. [8].

4-2- Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée implique, comme chez tous les autres organismes eucaryotes sexuellement différenciés, la production et la fusion de cellules sexuelles: les gamètes, issus de partenaires différents et permettant le brassage de leurs caractères génétiques respectifs. [8]. Le cycle biologique de tous les champignons hormis les Deutéromycètes se caractérise par la présence des deux cycles ; sexué et asexué (Figure 7).

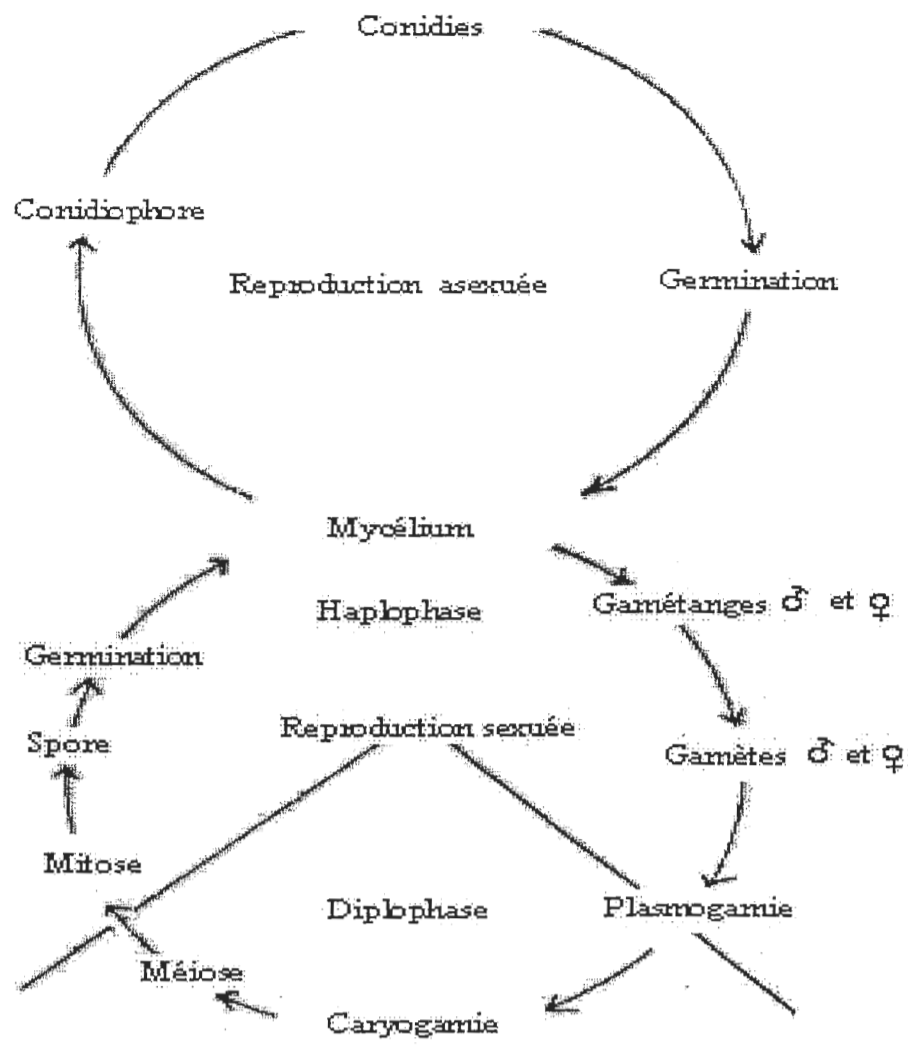


Figure 7 : Biocycle d'un champignon type. [17].

Chez les zygomycètes et les ascomycètes, les gamètes ne sont plus formés. Ce sont des gamétocystes qui fusionnent. Il ya donc cystogamie. Quand les gamétocystes ont le même aspect et ne diffèrent que par le comportement (+et-), on parle cystogamie isogamie. S'ils sont d'aspect différent, cette cystogamie est dite anisogame. [18].

Chapitre II

croissance et développement des moisissures

Chapitre II : Croissance et développement des moisissures.

1- Croissance apicale :

La grande majorité des champignons se présentent sous une forme filamenteuse, caractérisée par une structure tubulaire, ramifiée et plurinucléées. Le diamètre des hyphes varie considérablement en fonction des conditions de l'environnement, de leur position dans la colonie et surtout d'une espèce à l'autre de 3-4 μm à plus de 10 μm .

La croissance des hyphes est apicale (il n'existe pas d'allongement de type intercalaire) . Les courants cytoplasmiques sous – jacents (cyclose) exercent une pression dirigée vers l'apex et apportent des corps apicaux (Spitzenkorper) constitués d'un amas de petites vésicules, issues probablement des corps de golgi, et d'éléments courts du réticulum endoplasmique. Les vésicules qui s'en détachent déversent, dans le plasmalemma apicale, les matériaux et les enzymes nécessaires à l'extension d'une zone pariétale qui cède continuellement sous l'effet du cytoplasme en expansion. La zone apicale se caractérise également par l'absence de réticulum endoplasmique, de mitochondries et de noyaux.

La croissance des hyphes nécessite la biosynthèse de composants pariétaux, dont le mieux étudié est la chitine. Le maintien d'une croissance optimale nécessite la conservation d'une polarité de croissance à l'extrémité de l'hyphe, résultant du transport polarisé des vésicules vers l'apex. Le mécanisme à l'origine de ce mouvement probablement électrique, n'est pas élucidé.[9].

La croissance apicale est donc le résultat de deux phénomènes:

L'extension par plastification de la paroi et la rigidification de cette structure. Si les vésicules porteuses d'enzymes sont trop nombreuses pour être toutes utilisées à l'apex (milieu très nutritif par exemple), l'hyphe se ramifie. Les rameaux latéraux apparaissent à quelques dizaines ou centaines de microns de l'apex. Ces ramifications sont soumises au phénomène de dominance apicale. Elles se développent d'autant mieux que les nutriments sont abondants un phénomène de concurrence trophique existe entre l'axe principale et les ramifications primaires puis secondaires ou tertiaires [6] (Figure 8).

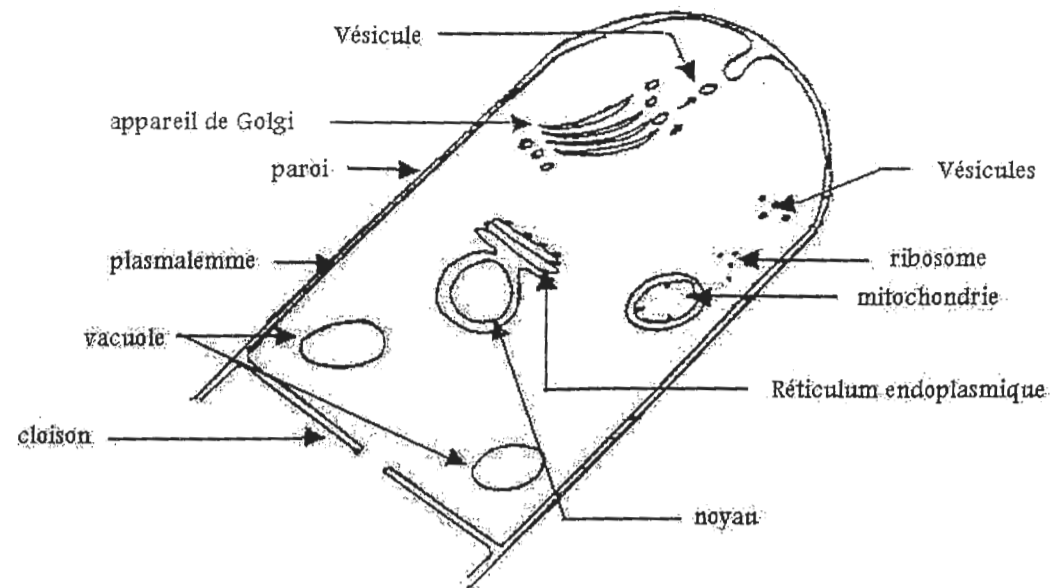


Figure 8 : schéma de l'extrémité d'une hyphe représentant la croissance en longueur du mycélium [19]

2- Les colonies fongiques:

Les colonies fongiques comprennent quatre zones de croissance concentriques.

Dans la zone d'extension de la colonie, la plus périphérique, les ramifications peuvent être monopodiales, sympodiales ou dichotomiques. Plus à l'intérieur se situent la zone de production, où a lieu l'essentiel de l'augmentation de la biomasse puis la zone de fructification, où l'augmentation de biomasse a cessé et où les spores sont formées. En fin, au centre se situe la zone âgée, correspondant à la phase de déclin de croissance. [9].

Tableau I : Les caractéristiques physiques des colonies fongiques de quelques espèces de moisissures. [3].

Espèce	Colonies fongiques
* <i>Absidia corymbifera</i>	* Colonies à croissance rapide, blanches à gris clair, roses
* <i>Mucor racemosus</i>	* Colonies à développement rapide, brun clair, épais, peu denses avec un revers crème.
* <i>Mucor plumbeus</i>	* Colonies grises à gris – noir envieillissant
* <i>Rhizopus stolonifer</i>	* Colonies gris plomb, épaisses.
* <i>Aspergillus flavus</i>	* Colonies granuleuses, plus denses vers le centre et lâches en périphérie , vert –jaune à vert- olive incolore ou beige clair.
* <i>Aspergillus fumigatus</i>	* Colonies bleu- gris à turquoise, veloutées, à bordure blanche, revers incolore à gris- vert pâle.
<i>Penicillium glabrum</i>	* Colonies assez plates, veloutées, gris- vert à vert foncé avec une marge mycélienne blanche, revers variable selon les souches, d'incolore à jaune ou brun.
* <i>Penicillium purpurogenum</i>	* Colonies cotonneuses,vert- gris à vert foncé avec parfois du mycélium jaune ou blanc ; revers variable selon les souches de peu coloré a le plus souvent, rouge foncé

3- Les méthodes de mesure de la croissance fongique :

Il existe différentes méthodes pour mesurer la croissance fongique. Certaines méthodes sont utilisées pour des êtres précisés et ne sont pas applicables sur d'autres êtres, mais en réalité il n'existe pas de méthode valable pour tous les champignons. [20].

3-1- La méthode de poids sec de mycélium:

C'est la méthode la plus utilisée et la meilleur pour mesurer la croissance fongique, les étapes de cette méthode diffèrent selon le type du milieu nutritif et l'espèce fongique, généralement basé sur la séparation de mycélium fongique du milieu nutritif liquide puis laver et sécher dans un récipient propre à poids défini. On peut utiliser le papier filtre séché à poids défini, il faut signaler que la croissance de certains champignons est gélatineuse donc il est difficile de les filtrer c'est pour ça on utilise la méthode de centrifugation, après la séparation du

mycélium, ce dernier est séché à température 90⁰C – 95⁰C plusieurs heures jusqu'à la stabilité du poids.

Dans le cas des colonies fongiques qui développent sur un milieu nutritif solide riche en Agar, la croissance est mesurée par la séparation de croissance superficielle du mycélium au surface de l'Agar, comme on peut éliminer l'Agar associé au mycélium par l'eau chaude. [20].

3-2- La méthode photométrique :

Correspondant les champignons unicellulaires ou ayant des filaments fongiques courts. Cette méthode exige un appareil photométrique qui permet la mesure de l'intensité du rayon optique qui traverse le milieu nutritif plus la croissance fongique augmente, la quantité de lumière qui traverse la suspension cellulaire diminue ; et le rapport entre le poids sec qui se trouve dans un volume déterminé de la suspension cellulaire et l'intensité lumineuse qui traverse les différentes concentrations des solutions est défini par une courbe. [20].

3-3- Méthode de dosage de nitrogène cellulaire:

C'est la méthode la moins utilisée dans le cas des champignons et malgré que le nitrogène entre dans la composition structurel de la chitine de la paroi cellulaire chez les champignons. [20]

3-4- Croissance linéaire :

C'est l'une des méthodes pour la mesure de croissance fongique dans les boîtes de pétrie où on peut mesurer le diamètre ou le périmètre ou la surface de la colonie fongique, dans cette méthode le taux de croissance est exprimé par l'augmentation quotidienne produite.

Il faut signaler que cette méthode néglige l'épaisseur de la colonie fongique donc pour mesurer la croissance superficielle avec précision et de façon correcte et exacte, on utilise le tube de croissance qui nous permet d'éviter la croissance en épaisseur, et la colonie est moins exposée aux contaminations. [20].

4- Les conditions de développement des moisissures :

4-1- Les éléments nutritifs :

Les champignons sont obligés de chercher les éléments nutritifs sur des hôtes vivants ou substrats inertes. Certains produits, les acides aminés par exemple, peuvent pénétrer dans la cellule sans transformation tandis que d'autres tels que l'amidon, la cellulose, les protéines doivent être transformés préalablement par le champignon avant d'être absorbés, cette

transformation nécessite, de la part de la moisissure, un équipement enzymatique adapté.[17], [21].

De faibles teneurs de gaz carbonique (CO₂) sont nécessaires à la germination des spores de l'*Aspergillus niger*, de trop fortes concentrations inhibent leurs développements. [22].

4-2- Les conditions physicochimiques:

Outre les exigences nutritives, le développement fongique est sous la dépendance de conditions physicochimiques dont la nature varie selon l'espèce. Ces facteurs conditionnent également la survie fongique. [23].

4-2-1- Le pH:

Les champignons sont peu sensibles au pH du milieu ils se développent entre 4.5 à 8. [21].

Les optima se situent entre 5.5 et 7.5. [6] Certains tolèrent cependant des pH beaucoup plus acides ou très alcalins. [24].

Tableau N° II: pH min et pH max pour la croissance de certaines moisissures :

Espèce	pH min	pH max
<i>Aspergillus flavus</i>	2	11
<i>Aspergillus ochraceus</i>	2.2	13
<i>Penicillium crustosum</i>	2.2	10
<i>Fusarium graminearum</i>	2.4	10.2

4-2-2- La température:

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne ; elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores. La plupart des moisissures se développent entre 15 et 30°C avec une croissance optimale aux environs de 20 à 25°C. En général, 25°C est une bonne température pour le développement de ces microorganismes. A très basses températures les moisissures ne sont pas tuées : leurs spores survivent et resteront aptes à germer lors du retour à des conditions normales.

Inversement, dans les atmosphères «tropicales» des tunnels de séchage de pâte alimentaires, on observe une microflore fongique très abondante dans laquelle dominent des espèces thermophiles ou thermorésistantes comme l'*Aspergillus flavus* est capable de se développer jusqu'à 57°C. Sans qu'il y ait croissance, on peut avoir survie de spores à des températures très élevées, et même parfois ces chocs thermiques stimulent en suite la germination. [24], [6].

Certaines spores exigent une période de basse température, ou de froid, avant de pouvoir germer, d'autres nécessitent d'être exposées à haute température pendant une courte période. [9].

Le tableau suivant nous donne les limites de température.

Tableau III : L'exigence thermique pour le développement des moisissures. [19].

Les types	Température	Exp: des moisissures
Mésophiles: Maximum: Minimum: Optimum:	< 50 ⁰ C > 0 ⁰ C 15 – 30 ⁰ C	La plupart des moisissures
Thermophiles: Maximum: Minimum: Optimum	50 ⁰ C 20 ⁰ C 35 – 40 ⁰ C	
Thermotolérants: Maximum: Minimum: Optimum	50 ⁰ C > 0 ⁰ C 15 – 40 ⁰ C	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i>
Psychrophiles: Maximum: Minimum: Optimum:	20 ⁰ C < 0 ⁰ C 0 – 17 ⁰ C	<i>Fusarium nivale</i> <i>Cladosporium erbarume</i> <i>Thamnidium elegans</i>
Cryophiles:	Se développent surtout à des températures plus basses que celles des psychrophiles	

4-2-3- L'oxygène :

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies : les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeantes peuvent se développer en profondeur, certains peuvent même supporter une anaérobiose très stricte. [24].

Certaines supportent une forte baisse de pression d'oxygène. Elles sont dites micro-aérophiles, par exemple : *Penicillium roqueforti*, *Penicillium expansum* et l'*Aspergillus niger*, qui supportent jusqu'à 4.2 % d'oxygène. [14].

4-2-4- L'humidité:

Tout le monde sait que les moisissures apparaissent après un accroissement accidentel de l'humidité. En effet, la quantité d'eau disponible dans le substrat et l'ambiance est très importante pour limiter leur développement. Il y a échange permanent entre l'environnement et le support jusqu'à atteindre un point d'équilibre à la surface de ce dernier ou pourra se développer les moisissures. [20]. Pour les aliments, cette valeur est définie comme l'activité de l'eau ou "aw". Elle est approximativement inverse de l'humidité relative. [7]. L'humidité relative minimum qui permet le développement de certaines moisissures dites xérophiles, est de 65 – 70 % (*Eurotium*, *Aspergillus*). [21]. Cependant, la majorité des moisissures préfèrent une "aw" plus élevée, de 0.80 à 0.95 voire même parfois la saturation. [24].

4-2- 5- La lumière:

Les radiations du spectre visible (380- 720 nm) n'ont en général pas d'actions sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. Les photopériodes (lumière/obscurité) créent des zonations. Beaucoup de champignons n'exigent pas de la lumière pour sporuler, cependant les photoréponses de la sporulation dans le bleu ont été décrites chez *Penicillium isariiforme*, *Alternaria tomato* et *Stemphylium botryosium*. Le pic maximal d'activité est à 480 nm ou à 410- 425 nm. [6].

5- Nuisances des moisissures:

5-1- Les mycotoxines:

5-1-1- Définition:

Le terme mycotoxine vient du grec « mycose », qui signifie champignon et du latin « toxicum », qui signifie poison. [25]. Les mycotoxines sont des métabolites fongiques toxiques pour l'organisme qui s'en nourrit, qu'il s'agisse de l'homme, de l'animale ou même des plantes. Ces substances toxiques sont des exotoxines excrétées dans le substrat. Ces molécules sont produites par des moisissures saprophytes. [26]. Le contact avec les mycotoxines peut être à l'origine de toxicités aiguës et chroniques allant de la mort à des effets délétères sur le système

nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil respiratoire, ainsi que sur l'appareil digestif. [27].

5-1-2- Les différentes mycotoxines:

5-1-2-1- Aflatoxine:

Aflatoxines : B₁, B₂, G₁, G₂.

Ces toxines sont synthétisés par : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium*. [6]. Elles sont connues comme étant des substances très cancérigènes. [22]. Les denrées alimentaires infectés sont : arachides, grains de céréales, riz, pois, Soja et autres oléagineux, spaghettis, sésames, patates douces. [6].

5-1-2-2- Ochratoxine:

L'ochratoxine A (OTA) Produites par : *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium viridieatum*. [1]. Ces champignons contaminent aisément les grains de céréales stockés. Les dégâts chez l'animal se situent surtout au niveau du rein. [6].

5-1-2-3- Patuline:

Cette mycotoxine est produite par *Penicillium expansum* et certains *Aspergillus*. La patuline est toxique pour le système nerveux et le système immunitaire elle est aussi cancérigène pour certains animaux. Les aliments risqués : les fruits pourris, plus spécifiquement la pomme et le jus de pomme. [28].

5-1-2-4- Zéaralénone:

Mycotoxine produite par certaines espèces de *Fusarium*. [25]. Il s'agit d'effets oestrogéniques, comme les avortements, une perturbation de la reproduction chez le porc et l'aliment à risques est le maïs. [28].

5-1-2-5- Trichothécènes :

Les trichothécènes sont produites par de nombreuses espèces de moisissures : *Fusarium*, *Trichothecium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*. [3]. Les premiers symptômes sont une sensation de brûlure dans la bouche et une gastroentérite, ces symptômes s'estompent en quelques jours, mais l'empoisonnement se poursuit par la destruction de la moelle osseuse. [28]. Les substrats les plus

fréquemment contaminés sont : le maïs, le blé, l'orge, le seigle, l'avoine, le riz, le millet, les légumes secs. [3].

❖ **Autres mycotoxines:**

La liste des mycotoxines connues ne fait que s'allonger par exemple: moniliformine, la fusarinéc, la citrinine, la spordismine, la slaframine, la roquefortine, Alcaloïdes de l'ergot, sterigmatocystines et l'acide pénicillique. [6].

Tableau VI: Principales mycotoxines liées à la consommation d'aliments pollués par des moisissures. [26].

Champignons toxigènes	Toxines	Symptômes
<i>Aspergillus clavatus</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Byssochlamys hivea</i>	Patuline	Hémorragies pulmonaires Dégénérescence des neurones du cortex cérébral
<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	aflatoxines	Hépatite, hépatomes
<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>A. terreus</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>P. verruculosum</i>	Mycotoxines à effets trémorgéniques (pénitremes verrucologènes, fumitremorgine, territre..etc)	
<i>Aspergillus ochroceus</i> <i>Penicillium. viridicatum</i>	Ochratoxines	Lésions rénales
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisines	Nécrose des hémisphères cérébraux, troubles de la locomotion.
<i>Fusarium. graminearum</i> et autres <i>Fusarium</i>	Zéaralénone	Action oestrogène
<i>Fusarium divers Stachybotrys</i> <i>Atramyrothecium roridum</i>	Trichotécènes	Leucopénie inflammation du tractus digestif. Vomissements. Immunosuppresseurs.
<i>Penicillium. citrinum</i>	Citrinine	Lésions rénales
<i>Penicillium islandicum</i> <i>p. verrucosum</i> <i>var. cyclopium</i>	Lutéoskyrine Islanditoxine Acide cyclopiazonique	Hépatome Diarrhées, convulsions
<i>Pithomyces chartarum</i>	<i>Sporidesmine</i>	Oedème cutané

5-2- Biodétériorations d'objets:

Les biodétériorations peuvent être nuisibles ou utiles pour l'homme. Les premières conduisent à l'altération de matériaux, qu'il s'agisse de matières premières, de produit industriel ou de produit agricole. [9]. La diversité des altérations dépend :

- de la nature de l'aliment.
- de la variété des microorganismes en cause.
- des facteurs agissant sur le développement : pH, aw, Eh. [29].



5-2-1-Denrées alimentaires:

Un très grand nombre de Mucorales, Ascomycètes et surtout Hyphomycètes sont capables de détériorer les denrées alimentaires, provoquant des altérations organoleptiques et chimiques avec des risques d'intoxication graves pour les consommateurs. Les activités biodétériorantes dépendent de leurs activités enzymatiques (cellulolyse , lipolyse , protéolyses , etc) , de la nature du substrat , des conditions d'environnement (température , humidité notamment) et de phénomènes de concurrence avec d'autres microorganismes . [6].

5-2-1-1- Céréales:

Les céréales sont contaminées par une mycoflore dite " du champ" qui comprend un grand nombre d'espèces appartenant notamment aux genres *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, etc...

Beaucoup de ces champignons sont fortement cellulolytiques. Au cours du stockage en silo, se développe une flore composée de champignons moins cellulolytiques et plus osmophiles, qui provoque une acidification du substrat; ce sont essentiellement des *Aspergillus* et des *Penicillium*. [6].

5-2-1-2- Les poudres de lait:

Stockées dans de mauvaises conditions sont souvent couvertes par l'efflorescence orangée des *Neurospora*; les beurres rancissent vite sous les effets de l'*Aspergillus repens*; si les fromages possèdent leurs «moisissures utiles»; ils en hébergent d'indésirables (accidents du «poil de chat» causés par *Mucor racemosus* et du «bleu» par des *Penicillium*). [24].

5-2-1-3- Les viandes:

Notamment les viandes sèches (salaisons, etc.), on identifie de nombreuses moisissures: le *Wallemia sebi*, par exemple, confère un aspect peu engageant aux saucissons qu'il colore en brun chocolat là où devrait proliférer une «belle fleur» de levures et moisissures blanches.[19].

5-2-1-4- Les légumes frais:

Après un stockage trop prolongé, sont inexorablement la proie du développement aranéux blanc grisâtre du *Botrytis cinerea*. [24].

5-2-1-5- Les fruits:

Nous parviennent souvent altérés par des *Penicillium*: *P. expansum* qui communique un goût très âcre aux pommes, *P. italicum* et *P. digitatum* agents respectivement des pourritures bleue et verte des agrumes. [24].

5-2-1-6- Les jus de fruits:

Les jus insuffisamment stérilisés peuvent être envahis par des *Byssochlamys*, des *Humicola* ou *Aspergillus fischeri* dont les spores résistent aux températures élevées et qui sont aptes à vivre en anaérobiose profonde. [24].

5-2-1-7- Les graines oléagineuses:

Les graines et leurs tourteaux, couramment utilisées en alimentation animale, sont contaminés par divers *Aspergillus* dont le redoutable *A. flavus*, capable de métaboliser des toxines hautement cancérigènes: les aflatoxines. [24].

5-2-2- Produits divers:**5-2-2-1- Textiles:**

Les textiles fabriqués à partir de fibres animales ou végétales- chanvre , coton, jute, lin, laine, soie, peuvent être l'objet de biodétériorations fongiques, qu'il s'agisse de tissus écrus, blanchis, teints, imprimés ou tissés teints, apprêtés ou non apprêtés. Les moisissures en réduisent la solidité et en altèrent l'aspect.

Coton: *Alternaria*, *Aspergillus fumigatus* etc...

Jute: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* etc... [6].

5-2-2-2- Papier:

Dès les premières étapes de préparation, comme à l'état de pâte, le papier peut faire l'objet d'un développement fongique (et bactérien).

Les espèces cellulolytiques (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium*, etc.) endommagent les produits finis, tels que les livres, les emballages, les tapisseries et même le papier goudronné. Certains matériaux peuvent être imprégnés de molécules antifongiques pour inhiber la croissance des moisissures. [9].

5-2-2-3- Bois:

Le bois vivant possède des systèmes de défense contre l'agression fongique. Néanmoins, certains champignons sont capables de dépasser ces défenses et de parasiter le bois.

D'autres espèces ne peuvent attaquer que le bois mort. Un certain nombre d'espèces sont spécialisées dans la colonisation de niches particulières, au sein d'arbres particuliers.

Des espèces comme *Armillaria mellea* sont ainsi capables de se développer sur des centaines de mètres. [9].

5-3-Pathologie provoquées par les moisissures:**5-3-1- Chez l'homme:****❖ Les maladies allergiques:**

Du type asthme et autres réactions d'hypersensibilité. Elles sont causées par la réponse immunitaire de l'hôte, en réaction à l'inhalation de composés allergènes fongiques. *Aspergillus*, moisissures très communes de l'environnement, sont principalement responsables de ces réactions. [8].

❖ Les intoxications alimentaires:

Provoquées par des exotoxines fongiques, produites dans divers aliments durant leur conservation. La plus commune de ces mycotoxines est l'aflatoxine d'*Aspergillus flavus*. C'est aussi la mycotoxine aux effets toxiques les plus sévères. [8]. Un certain nombre de syndromes sont à signaler, en particulier:

- Des syndromes hépatiques et néphrétiques dus à l'aflatoxine B1 produite par *Aspergillus flavus*.

-Des syndromes nerveux dont les principales espèces responsables sont des *Aspergillus* et des *Penicillium*. [1].

- Congestion et écoulement nasal.
- Irritation des yeux.
- Toux ou congestion.[30].

❖ **Onychomycose:**

Toute infection d'un ongle par un champignon microscopique (dermatophyte, levure ou moisissure).Les manifestations des onychomycoses sont très variées: soulèvement de l'extrémité de l'ongle par un dépôt sous- jacent, blanc ou gris avec décollement de l'ongle de son lit (onycholyse). [31].

❖ **Mucormycose:**

Cette phycomycose est due à des Mucorales, type particulier de moisissures. Elle est répandue dans le monde entier et est généralement opportuniste , c'est-à-dire qu'elle survient chez des malades immunodéprimés ou sur des organismes déjà affaiblis par une maladie telle que le diabète . [31].

5-3-2- Chez les animaux:

❖ **Aspergillose:**

Les aspergillose sont des maladies cosmopolites sévissant chez les mammifères, les oiseaux et les insectes. Mais elle est souvent rencontrée chez les poulets. Elle est due au développement d'*Aspergillus fumigatus* dans l'appareil respiratoire. Les symptômes majeurs de cette maladie sont les dyspnées associées à une diarrhée blanche et à troubles nerveux.

L'évolution est rapidement mortelle chez les sujets âgés de quelques jours. [31].

❖ **Bovins:**

Chez les bovins, les dermatophytoses sont sans doute les infections fongiques les plus fréquentes. Dues principalement à *Trichophyton verrucosum* (parfois à *T. mentagrophytes* et exceptionnellement à *Microsporum canis*), elles se développent dans la couche cornée de la peau, dans les sabots et les poils des veaux vivant dans les étables humides. Elles constituent une mycose transmissible, pouvant atteindre tout le cheptel. [9].

❖ Porcs:

Le porc est rarement atteint d'infections fongiques. Les rares cas sont dus à un *Dermatophyte géophile*, *Microsporium nanum*. Les infections des porcelets à *Microsporium canis* ont généralement été transmises par des chats et celles à *Trichophyton mentagrophytes*, par des rongeurs. [9].

❖ Chats et chiens:

Les chats et les chiens sont essentiellement atteints de dermatophytoses. Les champignons responsables, essentiellement *Microsporium canis*, se développent dans les poils, la peau ou les griffes, généralement sans affecter l'état général. Les animaux touchés deviennent alors très contagieux pour l'homme et les autres animaux. [9].

5-3-3- Chez les végétaux:**❖ Anthracoses:**

Les anthracoses correspondent à l'infection des parties aériennes de plantes par diverses espèces fongiques, telles que *Colletotrichum*. Les exemples les plus communs sont l'anthracose du haricot (*Colletotrichum lindemuthianum*), touchant les plantules, les tiges, les feuilles et les graines, l'anthracose des cucurbitacées (*Colletotrichum lagenarium*) ou l'anthracose de la banane (*Colletotrichum musae*) couvrant ce fruit de petits amas alaireux. [9].

❖ Mildious:

Le mildiou ou "meunier" est l'une des maladies les plus anciennes, les plus fréquentes et les plus redoutables, qui affectent les laitues cultivées aussi bien en plein champ que sous abri. *Bremia lactucae*, qui affecte surtout les laitues. [32].

Les mildious de la tomate sont provoqués par *Phytophthora infestans*, qui est aussi la cause du mildiou de la pomme de terre. Les taches foliaires sont semblables chez les deux espèces: nécrotiques, irrégulières, d'extension rapide, entourées d'une marge livide où l'on peut voir à la face inférieure les fructifications du *Phytophthora* (duvet blanc fugace). Sur les tiges on voit de grandes taches brunes irrégulières, pouvant les ceinturer complètement. [33].

❖ Oïdiums:

Les oïdiums sont des champignons strictement parasites, en laboratoire, provoquant parfois la mort de la plante infectée. Les oïdiums des plantes cultivées concernent les graminées (*Erysiphe graminis*), les groseilliers (*Sphaerotheca morcuvae*), le rosier (*Sphaerotheca pannosa*)

le chêne (*Microsphaera alphitoides*), le pommier (*Podosphaera lecotricha*) et la vigne (*Uncinula necator*) [9].

❖ **Moniliose des fruits:**

Monilia fructigena est responsable de l'atteinte des arbres fruitiers à pépins, en envahissant les fruits lésés mécaniquement ou par des piqûres d'insectes. Une espèce voisine, *M. laxa*, attaque de préférence les fruits à noyau.[9].

Deuxième partie
Etude expérimentale

Matériel et méthode

1- Matériel et méthode:

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence la cinétique de la croissance de quelques moisissures issus de quelques produits alimentaires, cela nécessite des tests par la méthode de la croissance linéaire in vitro de quelques genres fongiques : *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* (1) (isolé d'orange)et et *Aspergillus* (2) (isolé à partir des cônes du pin d'alep).

Les essais sont réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences université de Jijel.

1-1- Matériel:

- Bain Marie (Memmert).
- Etuve 25°C (Memmert).
- Etuve 27°C (Memmert).
- Réfrigérateur 10°C
- Microscope optique (MOTIC, Olympus).
- Boîtes de pétrie.
- Tubes à essais.
- Ane de platine.
- Lames et lamelles.
- Le pain, l'orange moisie et le cône de pin d'Alep.
- Gélose Sabouraud : glucose (ou maltose), peptone, 10g, Agar, 18g, eau distillée, amener à 1000ml.

1-2- Méthode:

Au début du travail, nous avons procédé à l'isolement des moisissures à partir du pain, orange et cône de pin d'Alep moisie sur milieu de culture Sabouraud dans des boîtes, après on a procédé à la purification qui nous a permis de purifier les genres fongiques suivant : *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Aspergillus* du pin.

Après la purification on passe à la mise en évidence de l'étude de la cinétique de la croissance de ces genres.

1-2-1- L'isolement:

Il consiste à faire séparer l'ensemble des moisissures présentes dans les échantillons : l'orange, les cônes du pin d'Alep et le pain moisi puit on a fait un ensemencement dans des boites de Pétrie contenant le milieu Sabouraud près du bec Bunsen, puis on laisse à la température du laboratoire pendant 15 jours.

1-2-2- Purification:

A partir des boites utilisées pour l'isolement on fait des observations microscopiques pour séparer quelques genres fongiques : *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Aspergillus* du pin, on a procédé à des repiquages successifs pour une purification, le repiquage se fait dans des boites de pétri contenant le milieu Sabouraud.

L'identification de ces genres est basée sur le guide de détermination de Rieuf 1993. (Voir tableau V).

Tableau V : l'identification morphologique des moisissures .[6].

Moisissures	Caractères
<i>Rhizopus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Sporocystes et sporocystophores fortement pigmentés. ❖ Sporocystophores non ramifiés ❖ Présence des rhizoïdes ❖ Mycélium non cloisonné. ❖ Pourvu de columelle, brunes et globuleuse.
<i>Aspergillus</i>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Mycélium cloisonné. ❖ Conidiophores renflés en vésicules, non ramifiés. ❖ Présence des phialides sur les vésicules. ❖ Les conidies en chaînette, globuleuses.
<i>Penicillium</i>	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Conidies incolores ouvertes, mycelium jamais noir. ❖ Conidies d'un noir plus ou moins foncées parfois presque hyalines (mais mycélium noir). ❖ Phialides subulée, solitaires ou sur des conidiophores ramifiés, jamais verticillées.

1-2-3-Croissance linéaire des hyphes:

Dans une deuxième étape et à côté du Bec Bunsen on a coulé dans des boîtes de Pétrie et des tubes, le milieu Sabouraud. Après refroidissement, on ensemence les fragments de mycelium de chaque genre de moisissures isolé et purifié, puis on les dépose au centre de la boîte de pétrie et au centre du tube contenant le milieu incliné.

En suite on fait l'incubation à trois températures différentes : 37°C, 25°C et 10°C.

On mesure le diamètre de colonie et la longueur de mycélium et le nombre de ramification après chaque quatre heures pendant trois jours.

Pour mesurer le diamètre de colonie et la longueur du mycélium on utilise le papier millimétrique .

Concernent la longueur du mycélium , on fait la mesure au départ de la colonie (qui se trouve au centre du tube) vers les deux extrémités , puis on fait la somme et on le divise en deux , donc c'est le moyen .

On fait la mesure de ces paramètres (le diamètre de colonie , la longueur du mycélium et le nombre de ramifications) à 8^h , 11^h et 16^h pendant trois jours .

RÉSULTATS et discussion

2 - Résultats et discussions :

2-1 Résultats :

Après isolement et purification des champignons sur le milieu sabouraud, on a fait trois observations chaque jour pendant trois jours, les résultats sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableaux N° VI : Suivi de croissance en diamètre de colonies (mm) à 37 °C

TEMPS (H) GENRE	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h
FONGIQUE									
A. du pin	8	11	13	23	27	39	41	42	44
Rhizopus	22	25	30	50	53	58	78	83	86
Penicillium	31	45	48	70	80	82	83	87	87
Aspergillus	4	6	10	12	14	16	20	25	30

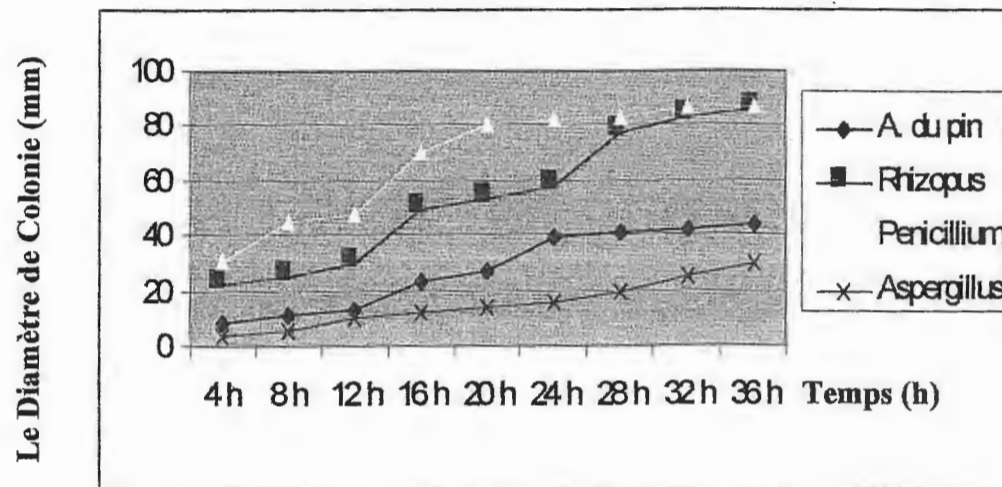


Figure N° 9 : Variation du diamètre de colonies en fonction du temps à 37 °C

Tableaux N° VII : Suivi de croissance en diamètre de colonies (mm) à 25 °C

temps (h)	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h
Genre fongique									
A du pin	6	10	12	50	51	53	60	65	70
Rhizopus	25	37	38	46	50	51	87	87	87
Penicillium	15	19	20	43	48	55	60	75	76
Aspergillus	13	18	20	45	46	47	53	59	61

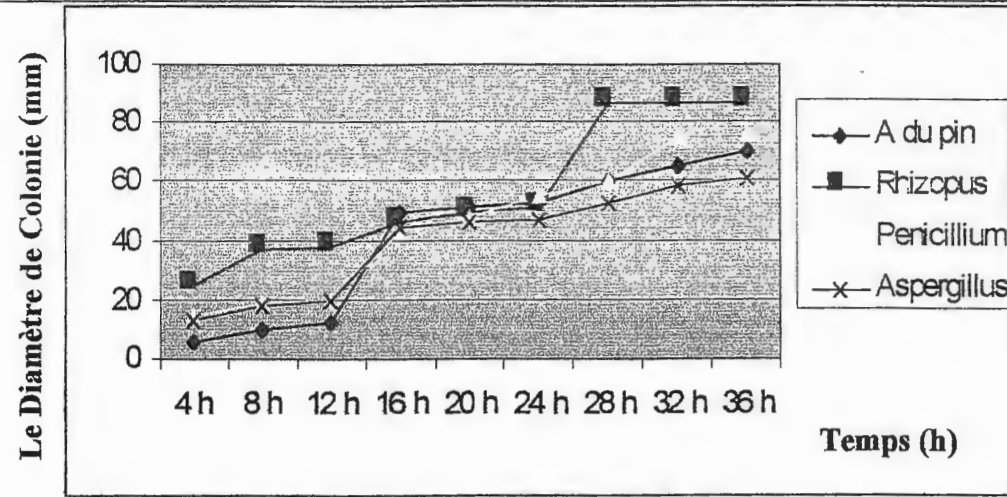


Figure N° 10 : Variation du diamètre de colonies en fonction du temps à 25 °C

Tableau N° IIIV: Suivi de croissance en diamètre de colonies (mm) à 10 °C

Temps (h)	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	28 h	32 h	36 h
Genre fongique									
A du pin	4	5	8	13	19	23	43	83	86
Rhizopus	6	7	12	28	37	39	60	61	62
Penicillium	3	6	7	12	13	14	20	22	23
Aspergillus	8	9	10	15	17	20	25	28	30

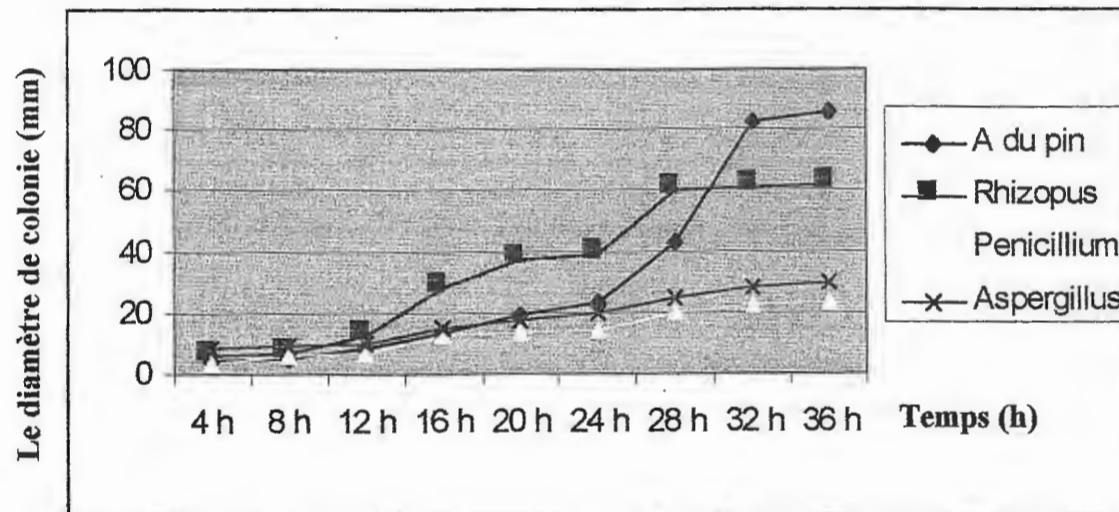


Figure N° 11: Variation du diamètre de colonie en fonction du temps (mm) à 10 °C

Tableau N° IX: Suivi de croissance en longueur des hyphes (mm) à 37 °C

TEMPS(H) GENRE FONGIQUE	4 ^H	8 ^H	12 ^H	16 ^H	20 ^H	24 ^H	28 ^H	32 ^H	36 ^H
<i>A du pin</i>	7	11,5	12	12,5	13	13,5	14,5	18,5	18,5
<i>Rhizopus</i>	12	13,5	14,5	15,5	21,5	22	28	29	29,5
<i>Penicillium</i>	9,5	10	10,5	11	12	12,5	17,5	18	18,5
<i>Aspergillus</i>	2	3,5	5,5	7,5	8,5	9,5	12,5	15,5	17,5

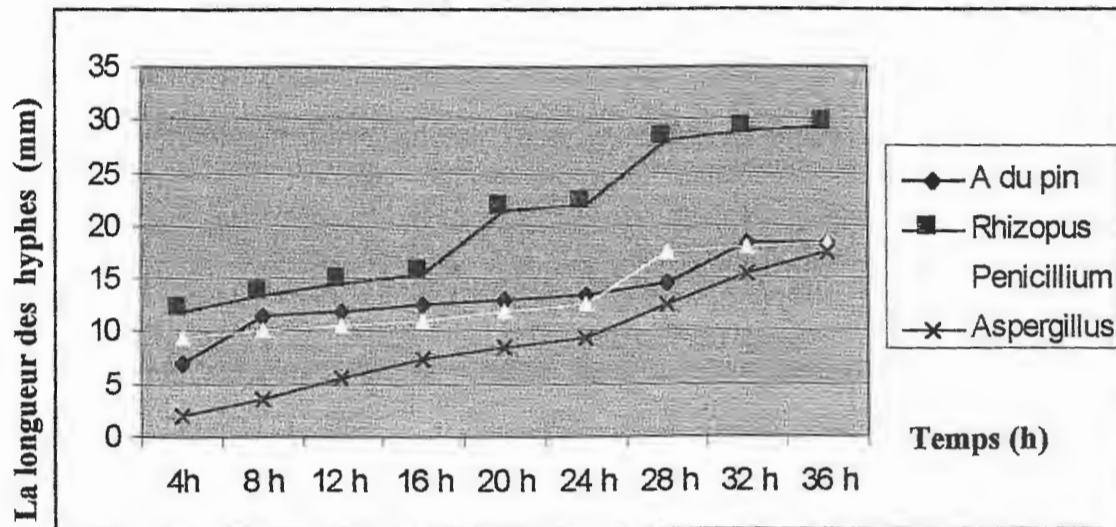


Figure N° 12 : Suivi de croissance en longueur des hyphes (mm) à 37 °C

Tableaux N° X: Suivi de croissance en longueur des hyphes (mm) à 25 °C

Temps (h) Genre fongique	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h
<i>A du pin</i>	7,5	10	11,5	12,5	13,5	14	14,5	14,5	14,5
<i>Rhizopus</i>	10,5	11,5	12	12,5	13,5	14	16	16,5	16,5
<i>Penicillium</i>	6	8,5	11,5	14	18,5	19	20	20	20
<i>Aspergillus</i>	10,5	11,5	12	12,5	13	13,5	15,5	15,5	15,5

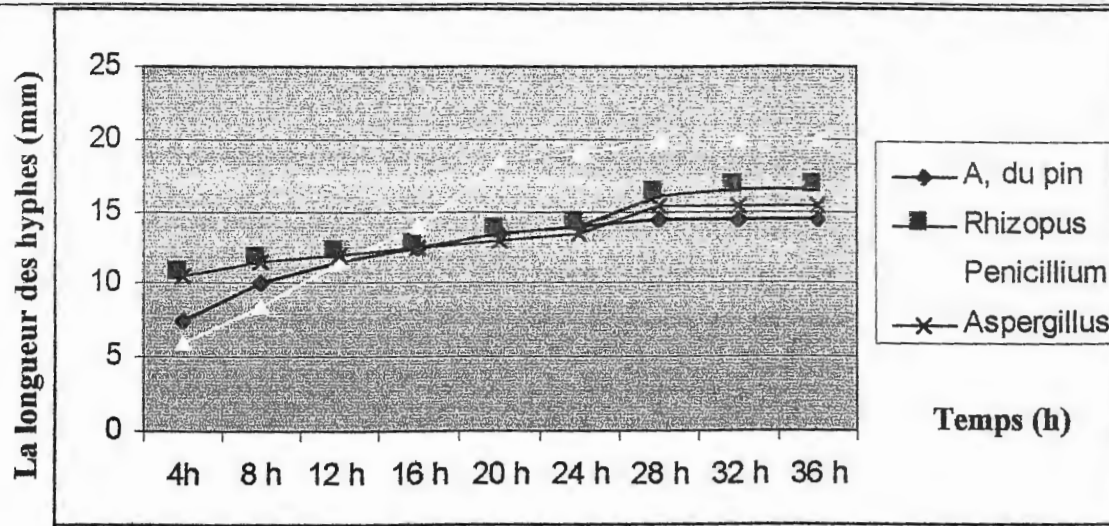


Figure N° 13 : Variation de la croissance en longueur des hyphes (mm) à 25 °C

Tableau N° XI: Suivi de croissance en longueur des hyphes (mm) à 10°C

Genre fongique	Temps (h)									
	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h	
A. du pin	3	10	12	12.5	19.5	23	28	28	28	
Rhizopus	7	7.5	8	9.5	22.5	28.5	29.5	29.5	29.5	
Penicillium	4	6.5	9	9.5	12	12.5	18	18	18	
Aspergillus	3	5	6	6.5	9.5	15	15.5	15.5	15.5	

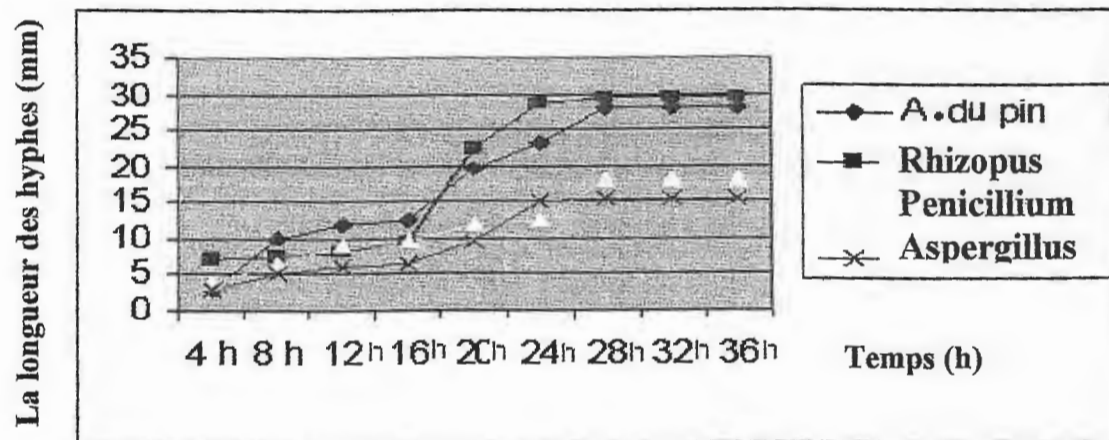


Figure N° 14 : Variation de la croissance en longueur des hyphes en fonction du temps (mm) à 10°C

Tableaux N° XII: Suivi de développement des ramifications à 37 °C

GENRE FONGIQUE	TEMPS(H)								
	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h
A du pin	3	4	5	6	7	9	10	12	14
Rhizopus	9	10	11	14	17	22	24	31	36
Penicillium	7	8	9	10	13	15	21	23	24
Aspergillus	0	1	2	2	2	2	2	2	2

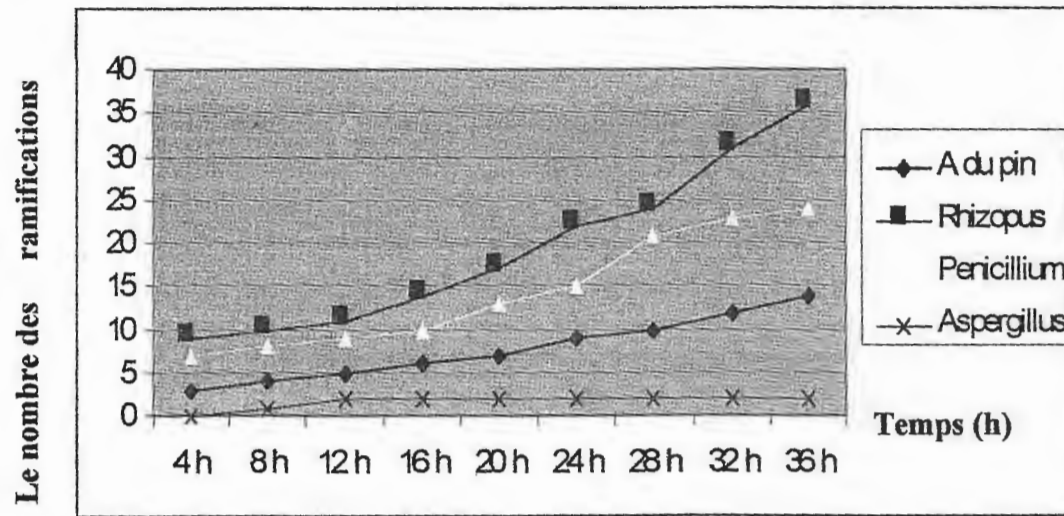


Figure N° 15 : développement des ramifications en fonction du temps à 37°C

Tableaux N° XIII: Suivi de développement des ramifications à 25 °C

Genre fongique	Temps(h)								
	4 ^h	8 ^h	12 ^h	16 ^h	20 ^h	24 ^h	28 ^h	32 ^h	36 ^h
A du pin	6	7	8	11	14	18	33	33	33
Rhizopus	7	8	11	16	24	28	29	31	31
Penicillium	6	9	10	13	15	17	21	24	31
Aspergillus	10	12	13	25	27	33	34	41	41

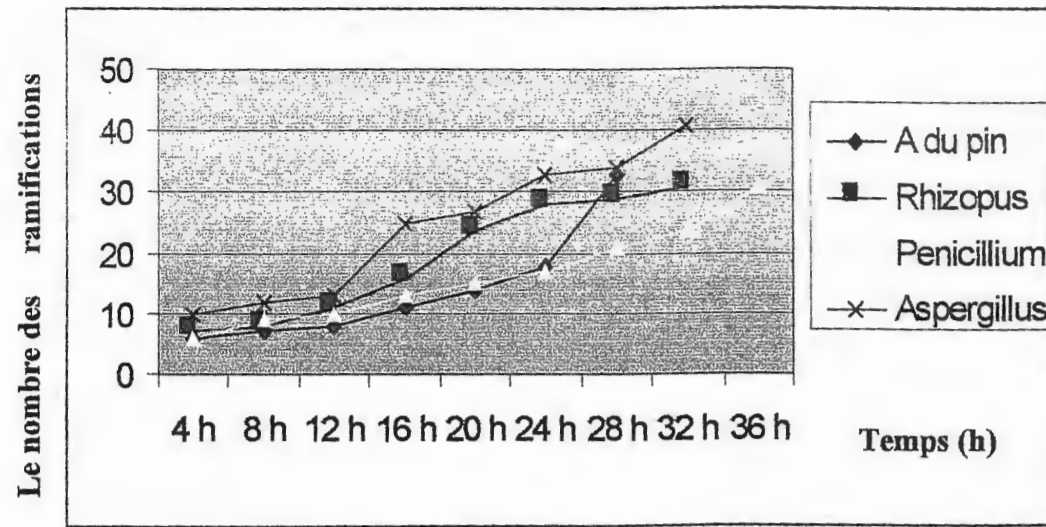


Figure N° 16 : développement des ramifications en fonction du temps à 25°C

Tableau N°XIV: Suivi de développement des ramifications à 10°C

Temps(h)	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	28 h	32 h	36 h
Genre fongique									
Asp de pin	8	10	12	15	18	22	28	33	62
Rhizopus	7	8	10	13	15	17	22	25	30
Penicillium	3	4	6	9	10	12	14	20	25
Aspergillus	6	8	10	14	17	19	24	29	38

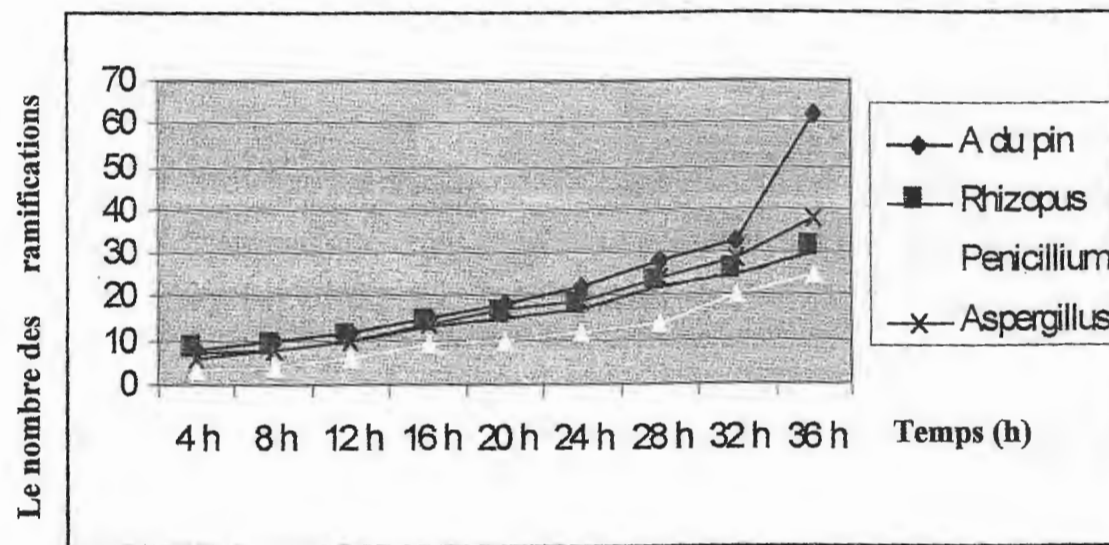


Figure N°17: développement des ramifications en fonction du temps à 10°C

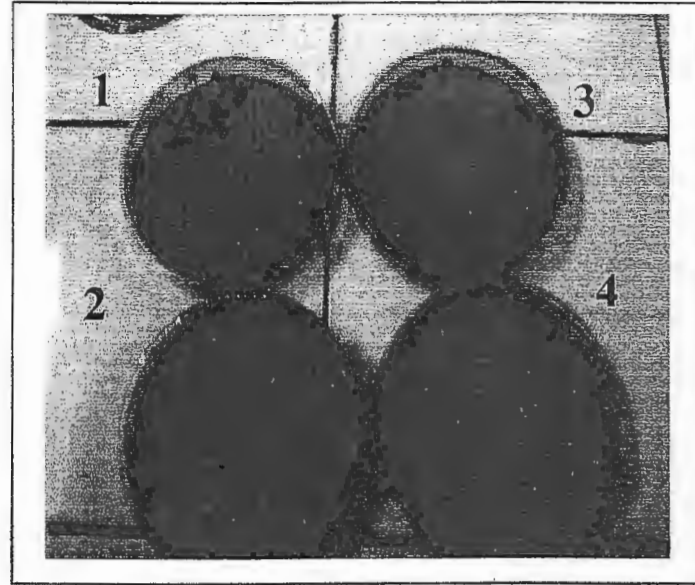


Figure18: Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 37°C

- ❖ Boite 1 / *Rhizopus*
- ❖ Boite 2 / *Aspergillus du pin*
- ❖ Boite 3 / *penicillium*
- ❖ Boite 4 / *Aspergillus*

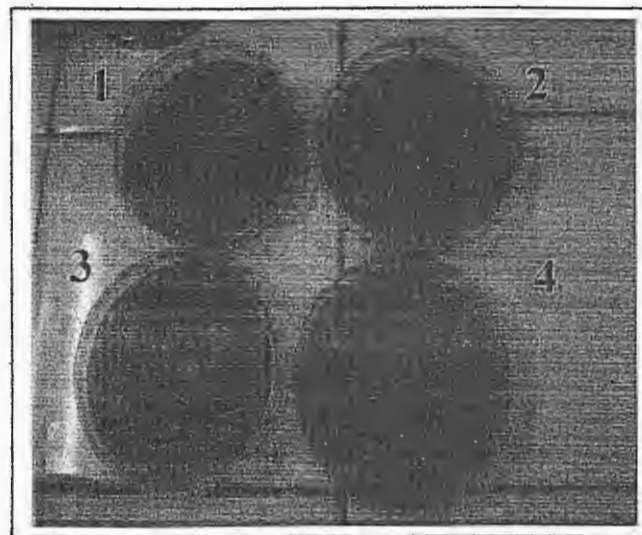


Figure19 : Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 25 °C.

- ❖ Boite 1 / *Rhizopus*
- ❖ Boite 2 / *Aspergillus du pin*
- ❖ Boite 3 / *penicillium*
- ❖ Boite 4 / *Aspergillus*

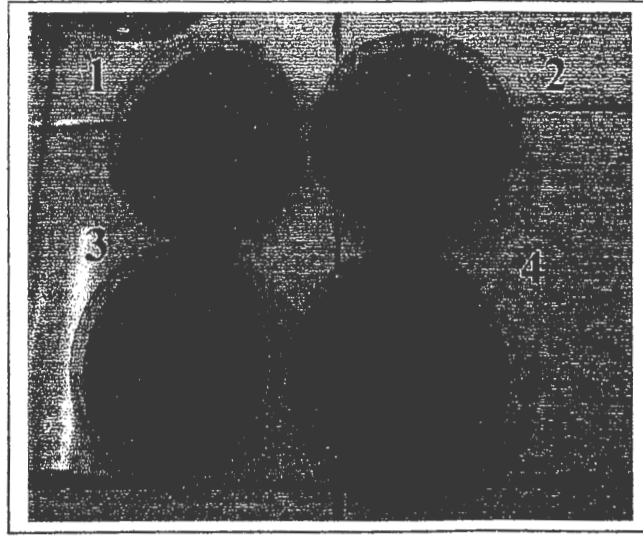


Figure 20 : Photographie de la croissance des colonies après 3 jours d'incubation à 10°C

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*

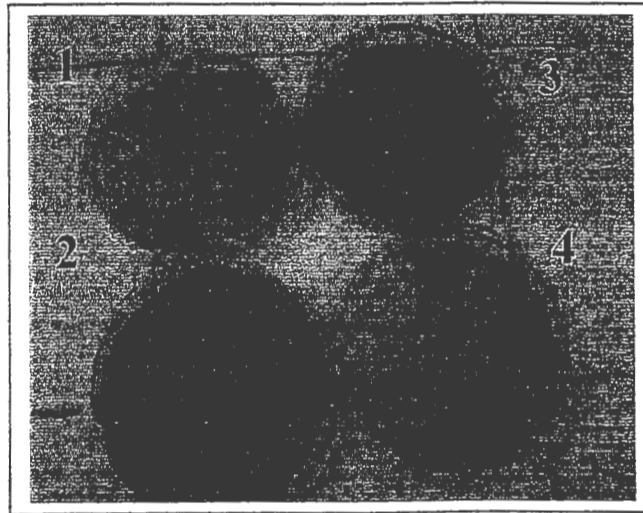


Figure 21: Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 37°C

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*

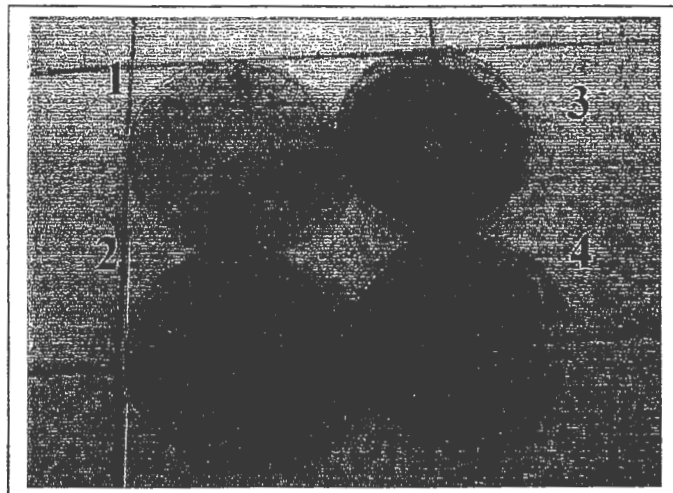


Figure 22: Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 25°C.

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*

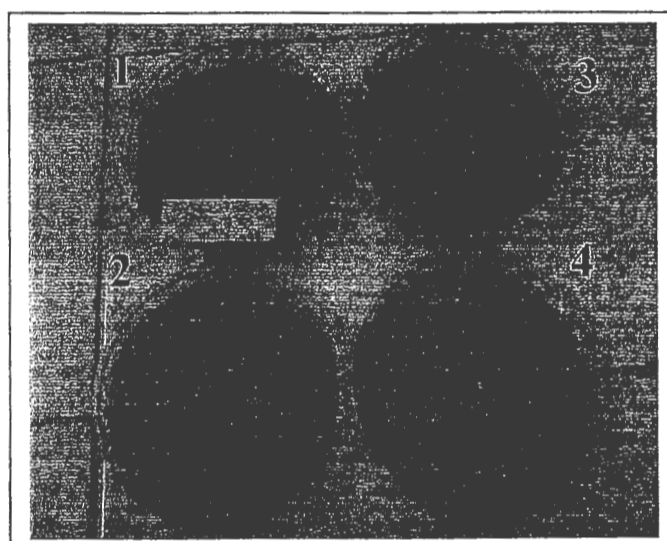


Figure 23 : Photographie de la croissance des colonies après 6 jours d'incubation à 10°C.

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*

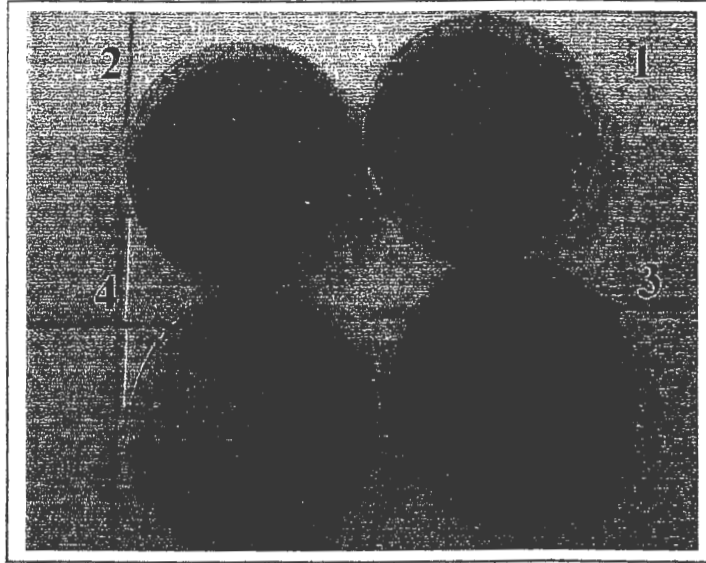


Figure 24 : Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 37 °C.

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*

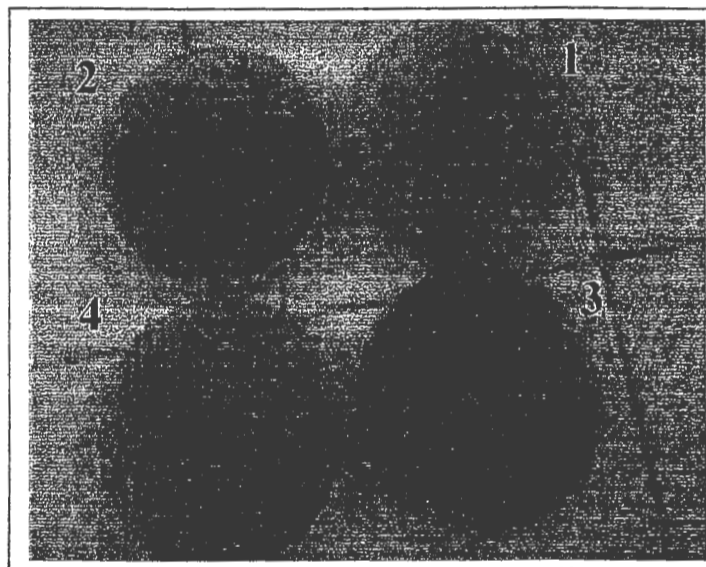


Figure 25 : Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 25°C.

- ❖ *Boite 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boite 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boite 3 / penicillium*
- ❖ *Boite 4 / Aspergillus*



Figure 26: Photographie de la croissance des colonies après 9 jours d'incubation à 10°C.

- ❖ *Boîte 1 / Rhizopus*
- ❖ *Boîte 2 / Aspergillus du pin*
- ❖ *Boîte 3 / penicillium*
- ❖ *Boîte 4 / Aspergillus*

2-2 – Discussion :

Selon Bousseboua H (2002) , en général , les moisissures sont mésophiles (température optimale 20 – 30 °C) , Cependant certains espèces sont psychrophiles, se développant à basse température (<15 °C ou même parfois < 0°C).

D'après Cahagnier B (1998), pour les genres et espèces thermophiles , les températures d'incubation sont de 40 –45 °C et pour les psychrophiles 15 ou 5°C , avec un temps d' incubation plus long . les temps d'incubation peuvent également varies en fonction de la nature de la microflore recherchée.

D'après les résultats de notre essais sur l'effet de la température sur la croissance de certaines moisissures cosmopolites : *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Aspergillus* du pin (isolé a partir du pin d'Alep) . On remarque que:

A la température 37°C et pendant 36^h d'incubation (voir figure 8), la variation du diamètre de colonie est très importante avec une phase de latence très courte pour *Penicillium* ensuite il vient *Rhizopus* puis *Aspergillus* du pin *Aspergillus* , par contre pour la croissance en longueur des hyphes (voir figure 11) , c'est *Rhizopus* qui présente la vitesse la plus élevée , *Penicillium* et *Aspergillus* du pin ont presque la même vitesse puis *Aspergillus* , les ramifications sont beaucoup plus importantes pour *Rhizopus* (voir figure 14) ceci s'explique par le lien qui existe entre la longueur de l'hyphe et le nombre de ramifications.

A la température 25°C et pendant la durée de 36^h , (voir figure 9) l'évolution du diamètre de colonie pour *Rhizopus* présente la vitesse la plus élevée avec une phase stationnaire atteinte après 24^h . La vitesse de croissance en longueur la plus élevée est enregistrée aussi chez le genre *Rhizopus* (voir figure 12) ainsi que le développement des ramifications le plus important est constaté chez le même genre , ensuite *Aspergillus* du pin et *Aspergillus* ont la même vitesse (voir figure 15).

A la température 10°C (voir figure 10), pour la vitesse de croissance en diamètre des colonies la plus élevée , elle est enregistrée toujours chez *Rhizopus* , pour la croissance en longueur des hyphes et le développement des ramifications (voir figures 13,16).

Le resultat est similaire pour *Rhizopus* et *Aspergillus* du pin, le *Penicillium* présente la vitesse la plus faible.

D'après Larpent J .P (1997) , pour l'incubation et d'après les méthodes d'analyse :

- le *Rhizopus* se développe dans la plupart des conditions d'analyse .
- le *Penicillium* se développe à 20-25°C .
- l'*Aspergillus* se développe à 20-25°C.

selon le même chercheur qui montre que avec une température de 30 °C , la totalité des semences était détruite 70 jours après le début du stockage et cela en raison du développement des pénicillium qui atteignait les 100% dès le 15^{ème} jour , et que le développement rapide des *Aspergillus* à 22°C , mais surtout à 30 °C.

On peut dire que pour les différentes températures choisie, et les conditions de nos essais, le genre *Penicillium* isolé à partir des oranges moisies présente une croissance en diamètre de colonies optimale à 37°C , le genre *Rhizopus* présente une croissance en diamètre optimale à 25°C , le genre *Aspergillus* isolé a partir des oranges moisies présente un optimum de croissance en diamètre de colonie à 25°C, par contre le genre *Aspergillus* isolé a partir des cônes de pin d'Alep, présente son optimum de croissance en diamètre de colonie à 10°C, concernant la croissance en longueur des hyphes et les ramifications, les optimum enregistrés sont 25°C pour *Penicillium*, 37°C pour *Rhizopus*, 25°C pour *Aspergillus* et 10°C pour *Aspergillus* du pin après 16^h de croissance.

Donc la moisissure *Rhizopus* présente une grande faculté de colonisation et d'invasion des milieux et des substrats ensuite viennent *Aspergillus* et *Penicillium*.

Conclusion générale

Conclusion :

La croissance et le développement des moisissures exigent une atmosphère humide et une température suffisante , en effet le développement d'une moisissure se divise en trois phases : germination des spores, croissance mycélienne et fructification ou production de spores et conidies : les facteurs environnementaux tels que la température ont un effet important sur le métabolisme de la cellule fongique et donc sur sa vitesse de croissance qui détermine la faculté d'invasion des milieux et des substrats.

L'objectif scientifique principal de notre travail est de mettre en évidence à l'échelle de laboratoire la cinétique de croissance de certains genres de moisissures (*Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*) isolés à partir du pain et d'orange moisis et un autre genre d'*Aspergillus* isolé à partir de cônes de pin d'Alep, ces genres sont ensemencées dans des boîtes de pétri sur milieu de culture Sabouraud.

La technique utilisée pour le suivi de la croissance est la croissance linéaire des hyphes.

Le nombre de ramifications et le diamètre des colonies, les relevés de croissance réalisés chaque quatre heures nous ont relevé que chaque moisissure exige une température pour avoir une croissance optimale, parmi les moisissures étudiées, on a le genre *Rhizopus* qui présente une grande faculté de colonisation et d'invasion des substrats et des milieux ; par sa croissance rapide,et ses ramifications importantes.

Selon les moyens à disposition, nous espérons avoir donner une contribution non sans intérêt.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- [1] Rémi champion, 1997 : Identifier les champignons transmis par les semences, INRA éditions, Paris.
- [2] Larpent J. P, coordonnateur. 1997 : Microbiologie Alimentaire Technique de laboratoire : Tec, Doc. Londres, Paris, New York.
- [3] Cahagnier B. 1998 : Moisissures des aliments peu hydratés, Technique et documentation on lavoissier, London, New York, Paris
- [4] Guiraud J.P. 1998 : Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris.
- [5] [File://A:/La%20](#) dégradation %20 fongique % 20 dans% les 20 les%20 d'archives.
- [6] Botton B. Breton A. Fever M. Ganthier S. Gyp H. Larpent J.P. Reymond p. Sanghier J. J. Kayssier Y. Veau P. 1990 : Biotechnologie, Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition, Masson, Paris, Milan, Barcelone.
- [7] Samson A. Hoekstra- Es. 1988: Introduction to food-borne fungi, C B S, édition : Hearn, Hollande.
- [8] Bousseboua H. 2002 : Eléments de microbiologie générale. Edition de l'université Mentouri Constantine (Algerie).
- [9] Patrik B. 1996 : Organisation et biologie des champignons, ed : NATHAN.
- [10] OZenda P, 2000, 2^{ème} cycle, les végétaux : organisation et diversité biologique. 2^{ème} édition Dunod, Paris.
- [11] Roland Brigitte Vian J.C 1999 : Biologie végétale, 5^{ème} édition, Dunod, Paris.
- [12] Achour M. Bouderbala N. Bouras I. 2004 : Evaluation de l'activité antifongique de certains huiles essentielles sur certains moisissures de blé.
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en biologie. Université de Jijel.
- [13] Botton B. et Coll, 1990 : Biotechnologie, Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition revue et complété, Masson, Paris, Milan, Barcelon, Mexico.
- [14] Cahner. Milton. F L. 1984 : Les mycotoxines : Connaissances actuelles et risque pour la santé publique dans la chaîne alimentaire.
- [15] File : //A : Autre_Fichiers/glossaire Loader.htm.
- [16] [htt : Environnement. ecols.free..Fr/champ.Hlm.](#)
- [31] محمد عمار، 2002: الفطريات، الجزء الأول، الدار العربية للنشر و التوزيع.
- [17] Prabhu A.Y, Khelfane K, Bekal S. 1992 : Compilation des maladies fongiques des plantes en Algérie, Office des publications universitaires, Ben- Aknoun (Alger).

Références bibliographiques

- [18] Nultsh w. 1998 : Botanique générale, 10^{ème} édition allemande par Roger et Yves sell Bebock. Université Thieme Verlag, Paris, Bruxelles.
- [19] Almi L. Laouar N. Mecherbet S, 2005 : Effet de quelques huiles essentielles sur les différents stades de développement de certains moisissures. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme des études supérieures en biologie. Université de Jijel.
- [20] محمد علي أحمد، محمد عبد الرزاق النواوي 1999. الفطريات الصناعية، الطبعة الأولى، الدار العربية للنشر والتوزيع- مدينة نصر.
- [21] [http : www.culture.yow.fr](http://www.culture.yow.fr).
- [22] Bounama F. Kalala O. Medjrab N. 1999 : Moisissures pathogènes. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme des études supérieures. Université de Constantine.
- [23] Scriban R. Coordonnateur. 1999 : Biotechnologie, Tec et Doc, 5^{ème} édition, Londres, Paris, New York.
- [24] Bourgeois C. U, Uesclé J. Fet zucc A. 1996 : Microbiologie alimentaire, Londres, Paris, New York.
- [25] Jean F Q. 2002 : Les mycotoxines, Institut national de la recherche agronomique, P M E N°3, France
- [26] Larpent J.P Monique Larpent – Gourgand. 1997 : Memento technique de microbiologie, Tec et doc ou lavoissier, Landres, New York, Paris.
- [27] http://www.Fao.org/documents/show_cdr.Asp?url-file=/docrep/005/g1390F02.htm.
- [28] File : //A : Autre_Fichiers/glossaire Loader.htm.
- [29] Ait Abdelouahab N. 2001 : Microbiologie alimentaire, office des publications universitaires. Ben -Aknoun (Alger).
- [30] <http://www.cchst.com>.
- [31] Michel Saemann. 2000 : La rousse médicale, Borda.
- [32] Lot H. et Maisonneuve B. Dominique Blancard. 2003 : Maladies des salades. Identifier, connaître, maîtriser,, Institut national de la recherche Agronomique, Paris.
- [33] Charles Marie Messiaen, Dominique Blancard, Francis Rouxel et Robert. 1970 : Les maladies des plantes marichères 3^{ème} édition. Institut national de la recherche agronomique, Paris.

المخلص:

في إطار دراسة تأثير درجة الحرارة (37°م، 25°م و 10°م) على نمو عفنيات (الخبز، البرتقال و الصنوبر) على مستوى مخبر علم الأحياء الدقيقة بكلية العلوم. تمكنا من عزل الأجناس: *Aspergillus*, *Penicillium Rhizopus*, *Aspergillus du pin d'alep* حيث بينت النتائج أن درجة الحرارة 25°م مناسبة لنمو الأجناس: *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*، وهذه الأجناس تكون ضعيفة النمو في درجة الحرارة 10°م، هذه الأخيرة تمثل الدرجة الأمثل لنمو الجنس *Aspergillus du pin d'alep* والذي يكون ضعيف النمو في درجة الحرارة 37°م.

RESUME :

Dans le cadre d'une estimation d'effet de la température (37°C, 25°C, 10°C) sur la croissance des moisissures qui se trouve dans le pain, l'orange et le pin moisisi au niveau de laboratoire de la faculté des sciences. Nous avons isolé les genres : *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aspergillus du pin d'alep*. Les résultats obtenus montrent que la température 25°C est favorable pour la croissance des genres : *Aspergillus*, *Rhizopus*, et *Penicillium* et ces genres présentent une faible croissance à la température 10°C, cette dernière présente la température optimale pour la croissance de genre *Aspergillus* du pin d'alep, qui est de faible croissance à la température 37°C.

Abstract :

Within the framework of an estimate of effect of the temperature (37°C, 25°C, 10°C) on the growth of the moulds which is in the bread, oranges and the pine mildewed on the level of the boratoire of the Faculty of Science. We isolated the kinds: *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aspergillus of the pine of alep*. The results obtenus show that the temperature 25°C is favorable for the growth of the kinds: *Aspergillus*, *Rhizopus*, and *Penicillium* and these kinds present a weak growth at temperature 10°C, the latter has the optimal temperature for the growth of *Aspergillus* kind of the pine of alep, which is of weak growth at the temperature 37°C.

Mots - clés : La température, la croissance, les moisissures, les produits alimentaires.

Promotion : 2005-2006