



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Mycologie et biotechnologie des fongiques

Intitulé :

**La multiplication de *Pleurotus ostreatus* sur différents substrats
cellulosiques issus de déchets agro-alimentaire**

Présenté et soutenu par : ARZANI Karima

Le : 24/06/2018

BOUSSIOUD Chérifa

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. Arabet D. (MCB. UFM 1Constantine).

Rapporteur : Mr. DEHIMAT L. (Pr. UFM 1Constantine).

Examineurs : Dr. ALMI H (MCB. UFM 1Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

Nous remercions, avant tout "ALLAH" tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Nous voudrions aussi par ces lignes, exprimer nos vifs remerciements à monsieur le Pr. Dehímat L. ; qui fut pour nous un directeur de qui a bien voulu accepter de diriger et suivie notre travail, pour son aide précieuse, ses conseils et ses encouragement pour le mener à bien.

Notre profonde reconnaissance s'adresse également à Dr. Almi H. pour sa gentillesse et pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.

Nous remercions également à Dr. Arabet D ; pour avoir accepté de faire partie du jury et de juger notre travail.

Merci pour vous Amína, Ahlem et Hadjer Merci pour leurs encouragements.

Nous remercions Mr Boussioud chérif pour son aide particulière et sa compréhension durant les moments difficiles tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions les enseignants de Mycologie et Biotechnologie des fongique et à tous les enseignants de département de microbiologie.

Dédicace

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail à mes chers et magnifiques **Parents** en témoignage de mon affection illimitée qu'il me soit permis de leur exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance éternelle pour tout ce qui m'ont offert au cours de mes longues années d'études.*

*A mes cher frères **Saleh** ; **Abd alhkim** et le petit **Yahya taher** en leurs souhaitant beaucoup de sucée dans la vie.*

*A ma sœur **Assia** l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.*

Assile de batna ; Laoufi Oualide ; la source de grand courage tout le moment de travail et toujours à côté de moi merci.

Tous ceux qui sont proche de mon cœur nombreux pour le citer aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

*A toute la famille : **Boussioud** et **Bllera***

*A mon binôme : **Karima***

Chérifa

- *Dédicaces*
 - *Je dédie ce travail à :*
 - *A ma très chère Maman :Louisa*
 - *A mon très cher Papa :chérif*
 - *Je dédie ce travail à ma très chère sœur Oumnía.*
 - *Et mes chers frères Sofiane et Zinou.*
 - *Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*
 - *A mes très chères amies*
 - *Rayane et sabrina*
 - *Merci pour leurs encouragements.*
 - *A toute ma famille.*
 - *A tous mes collègues de spécialité biotechnologie des mycètes.*
 - *A mon binôme : Roumaïssa*

karima

Table de matière

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre I : Revue Bibliographique	
1. Généralité sur les champignons.....	2
1.1. Classification des champignons	2
1.1.1. Les ascomycètes	2
1.1.2. Les basidiomycètes	3
1.2. Biologie des basidiomycètes	3
1.3. Le cycle de vie des basidiomycètes	3
1.4. Type trophique des basidiomycètes	4
1.4.1. Les saprophytes	4
1.4.2. Les parasites	5
1.4.3. Les symbiotes	5
1.5. Les différentes familles des basidiomycètes	5
1.6. Intoxications et Symptômes des basidiomycètes.....	6
2. Les Champignons comestibles	7
2.1. La culture des champignonnes comestibles	7
2.2. Identification des champignons comestibles	8
2.2.1. Caractères macroscopiques	8
2.2.2. Caractères microscopiques	9
2.2.3. Caractères organoleptiques	9
2.2.4. Autres caractères.....	9
2.3. L'importance des champignons dans différents domaines.....	10
2.3.1. D'un point de vue biochimique et nutritionnel.....	10
2.3.2. Dans le domaine économique.....	10
2.3.3. Dans le domaine écologique.....	10
2.4. Le genre <i>Pleurotus ostreatus</i> (pleurote en huître)	11
2.4.1. Morphologie.....	11
2.4.2. Habitat paille	12
2.4.3. Classification.....	13
2.4.4. Indications et utilisations traditionnelles.....	13
2.4.5. L'étude scientifique sur un potentiel anticancéreux.....	13

Chapitre II : Matériel et méthode

1. Matériel	13
1.1. La Souche de <i>Pleurotus</i>	13
1.2. Milieux de cultures pour la croissance du mycélium	14
1.3. Milieux de culture pour la préparation du blanc	15
1.4. Milieu / substrat de fructification	15
1.5. Milieu de conservation	16
2. Méthodes	17
2.1. Evaluation de la croissance mycélienne sur milieux de culture gélosés.....	17
2.1.1. Culture de spores sur boîtes de Pétri	17
2.1.2. Optimisation du milieu de culture pour <i>Pleurotus</i>	18
2.2. Préparation du blanc de semence ou blanc d'inoculum	18
2.2.1. Préparation du blanc avec le papier carton	18
2.2.2. Préparation du blanc (semences)	19
2.2.2.1. Préparation des graines	19
2.2.2.2. Ensemencement des flacons.....	20
2.3. Culture en sac.....	22
2.3.1. Préparation du substrat	22
2.3.2. Remplissage des sacs (Lardage)	22
2.3.3. Fixation des sacs	23
2.4. La fructification	23
2.5. Conservation du Pleurote.....	24
2.5.1. La congélation	24
2.5.2. Une transformation en marinade	24
2.5.3. Le séchage	24

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Le mycélium sur la gélose nutritive.....	27
2. Le mycélium sur les différents substrats celluloses.....	29
3. Le mycélium sur le substrat de fructification.....	32
3.1. Croissance du mycélium.....	32

3.2. Fructification : poussée des champignons.....	35
3.3. La récolte.....	38
4. Conservation	38
Conclusion et perspectives.....	40
Références bibliographiques.....	41
Annexe	
Résumés	

Liste des abréviations

°C: Degré Celsius

cm : centimètre

g : grammes

H: Heure

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

J : jours

Kg : kilo gramme

MEA : Malt extré agar

min : minute

ml : millimètre

ODA : orge dextrose agar

PDA : Potato Dextrose agar

Ppm : partie par million

SDA : Son du riz Dextrose Agar

> : Signe supérieur à

MT : méthode tissulaire

MD : méthode direct

Liste des figures

Figure 1 : Illustration de la reproduction des Basidiomycètes.

Figure 2 : Type trophique des basidiomycètes.

Figure 3 : Familles des basidiomycètes.

Figure 4 : Confusions entre les champignons.

Figure 5 : Morphologie d'un champignon.

Figure 6 : Différents couleurs de genre pleurote en huître.

Figure 7 : Culture de *Pleurotus* sur différents déchets végétaux.

Figure 08 : La Souche de *Pleurotus*.

Figure 09 : Différentes étapes de culture d'un tissu fongique.

Figure 10 : Ensemencement des tissus contenant les spores.

Figure 11 : Culture du champignon sur papier Carton.

Figure 12 : Préparation des graines pour le Blanc fongique.

Figure 13 : Ensemencement des flacons du Blanc par méthode directe.

Figure 14 : Ensemencement des flacons par méthode indirecte.

Figure 15 : Lardage en couches.

Figure 16 : Fixation des sacs.

Figure 17 : Vitesse de croissance mycélium sur les milieux de culture.

Figure 18 : Vitesse de croissance du mycélium sur les différents substrats.

Figure 19 : Vitesse de croissance du mycélium sur les différents substrats de fructifications.

Figure 20 : Conservation du Pleurote

Figure 21 : a)le sac dans le sol b) la fructification

Liste des tableaux

Tableau 01: Morphologie de champignon *Pleurotus ostreatus*

Tableau 02: Classification de champignons *Pleurotus ostreatus*

Tableau 03: Aspect de Pleurotes sur les milieux de culture

Tableau 04 : le développement de mycélium sur l'orge et le blé par la méthode tissulaire

Tableau 05 : le développement de mycélium sur l'orge et le papier carton par la méthode directe

Tableau 06 : Le développement des blancs sur les différents substrats.

Tableaux 07: Le développement du fruit de champignon *Pleurotus ostreatus*.

Tableau 08 : Récolte du champignon *Pleurotus*.

Introduction

Le nombre estimé des champignons dans le monde entier est d'environ 140.000 dont seulement 10 % sont connues soit \approx 14 000 espèces. Les mycètes font partie intégrante de la plupart des écosystèmes naturels, et contribuent à la redistribution des ressources alimentaires utilisées par l'ensemble des organismes du milieu. De nombreuses espèces fongiques ont un intérêt en nutrition et en santé humaine. Plus de 2000 espèces sont comestibles, et près de 700 espèces possèdent des propriétés pharmaceutiques intéressantes. Sur le plan nutritionnel, les champignons forestiers comestibles sont riches en protéines et en fibres, pauvres en lipides et renferment des vitamines et des oligo-éléments importants (**Barros et al., 2007 ; Reis et al., 2012**).

Les études actuelles ont permis de recenser plusieurs centaines de champignons macroscopiques ayant un potentiel anticancéreux. Parmi ces derniers : *Agaricus blazei*, *Pleurotus ostreatus*... Beaucoup de ces champignons sont d'origine exotique, peu d'entre eux sont aujourd'hui utilisés en France car la plupart des recherches partent d'une utilisation traditionnelle. Un état des lieux à partir de publications scientifiques récentes a permis de recenser des principes actifs, ou extraits obtenus à partir de ces champignons et d'associer leurs propriétés anticancéreuses (effet antitumoral, immunostimulant ou effet adjuvant aux cytotoxiques actuels). De plus, certaines de ces substances ont été décrites comme protectrices vis-à-vis des cellules saines avec une action ciblée sur les cellules anormales. Ces champignons semblent prometteurs dans la lutte contre le cancer (**Blandeau E., 2012**).

L'objectif de cette étude est la multiplication de Pleurotes sur différents substrats cellulosiques issus de déchets agro-alimentaire, pour ce faire on l'a divisé en trois parties:

1. Une synthèse bibliographique représentant les informations essentielles sur les champignons du groupe basidiomycètes ; une attention particulière sera portée sur le genre *Pleurotus ostreatus*, sa morphologie, son habitat, sa classification, ses indications et utilisations traditionnelles, et l'étude scientifique sur son potentiel anticancéreux.
2. Une illustration du matériel, des méthodes utilisées pour la production du mycélium, la production de graines, la fructification, la récolte et les résultats obtenus.
3. une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus et les perspectives.

Chapitre I :
Revue Bibliographique

1. Généralité sur les champignons

Les champignons, appelés aussi Fungi (du latin fungus) ou Mycètes (du grec mukês), constituent un règne à part entière, au même titre que les procaryotes (bactéries et archaeobactéries), les protistes (eucaryotes unicellulaires), les végétaux, les animaux, que l'on estime entre 2,5 et 50 millions d'espèces. heureusement le nombre d'espèces impliquées en pathologie humaine sont bien inférieurs, entre 300 et 500 espèces.

Ce sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire possédant des cellules à noyau individualisé pourvu d'une membrane nucléaire, de chromosomes, d'un nucléole et d'un appareil mitochondrial. Ils possèdent une paroi peptido-polyosidique épaisse, de composition variable selon les groupes (Mannanes, Glucanes, Chitine, Chitosane, protéines, phospholipides) et une membrane riche en stérols (ergostérols). L'existence simultanée d'une paroi cellulaire périphérique et des vacuoles turgescents, dans le cytoplasme, les rapproche des végétaux auxquels on les rattachait autrefois.

Du point de vue métabolique, ils sont hétérotrophes et se nourrissent par résorption de la matière organique élaborée par d'autres organismes autotrophes. Ils sécrètent des enzymes dans le milieu qui digèrent les divers composés organiques qui les entourent et les réduisent en petites molécules solubles. Celles-ci diffusent à travers les parois de leurs hyphes. La grande majorité des champignons sont des organismes aérobies (**Carlile et Watkinson, 1994 ; Redecker, 2002 ; Courtecuisse, 2011**).

1.1. Classification des champignons

Les champignons peuvent être subdivisés en champignons inférieurs et champignon supérieurs. Les champignons inférieurs ou les micromycètes sont unicellulaires et constituent un groupe hétérogène. Les champignons supérieurs ou les macromycètes sont divisés en deux groupes (**Davet, 1996 ; Burac, 2006 ; Thaug, 2007**).

1.1.1. Les ascomycètes

Les ascomycètes regroupent 45 000 espèces dont 75% sont connues ; ils constituent la quasi-totalité des champignons capables de former des associations lichéniques (**Hawksworth., 2001 ; Hibbett et al., 2007**).

1.1.2. Les basidiomycètes

Les basidiomycètes sont les plus évolués des mycètes, ils regroupent 22000 espèces macroscopiques comprenant des champignons à chapeau comestibles ou vénéneux (**Breuil, 2009 ; Raven et al., 2011**).

1.2. Biologie des basidiomycètes

On distingue deux composantes chez le champignon, la partie végétative « le mycélium » et la partie reproductrice « le carpophore ». Le mycélium est la partie souterraine de l'organisme que l'on retrouve dans l'humus, le sol minéral ou le bois pourrit par exemple, il est formé de filaments souvent blanchâtres appelés « hyphes ». Le carpophore est la partie externe du champignon qui assure la reproduction de l'organisme par la libération de millions de spores. Étant donné que la récolte du carpophore n'entraîne pas la destruction du mycélium, les champignons sont considérés comme une ressource renouvelable. La présence des carpophores à la surface du sol est très éphémère, en effet la croissance d'un carpophore est une opération précipitée qui se produit généralement entre 24 et 48 h, après quoi ils disparaissent presque aussitôt en se décomposant. Il est important que pour le champignon sont d'être cueilli seulement à ce stade, puisqu'il aura alors complété son cycle de reproduction, contribuant ainsi au maintien de l'espèce dans son environnement (**Gévry, 2009**).

1.3. Le cycle de vie des basidiomycètes

Les basidiomycètes sont illustrés par leur reproduction sexuée impliquant des basides : chez la plupart des champignons basidiomycètes à chapeau (Figure.1), les spores haploïdes germent et forment des mycéliums homocaryotiques. Ces mycéliums de différents types sexués sont attirés l'un vers l'autre puis fusionnent (plasmogamie) et forment des hyphes dicaryotiques, ces hyphes poussent et se ramifient en formant un mycélium développé dans le sol pour donner à la fin une fructification de champignon connue sous le nom de « Sporophore » ou « Basidiocarpe », à l'intérieur du sporophore des cellules en masse forment des hyphes dicaryotiques « basides », dans les basides les noyaux haploïdes fusionnent « Caryogamie » pour donner un noyau diploïde des basidiospores.

Le plus souvent les basidiospores naissent à l'extrémité de la baside sur des petites protubérances appelées «Stérigmates». Le mycélium dicaryotique d'un champignon basidiomycète pousse dans toutes les directions à partir de la plasmogamie et forme un cercle de champignon appelé « rond de sorcière » à la périphérie de croissance. De nombreux champignons basidiomycètes ne se reproduisent pas par la voie asexuée bien que certaines espèces produisent des spores asexuées (conidies) (Luttge et al., 2002 ; Breuil, 2009 ; Clesse, 2011 ; Raven et al., 2011).

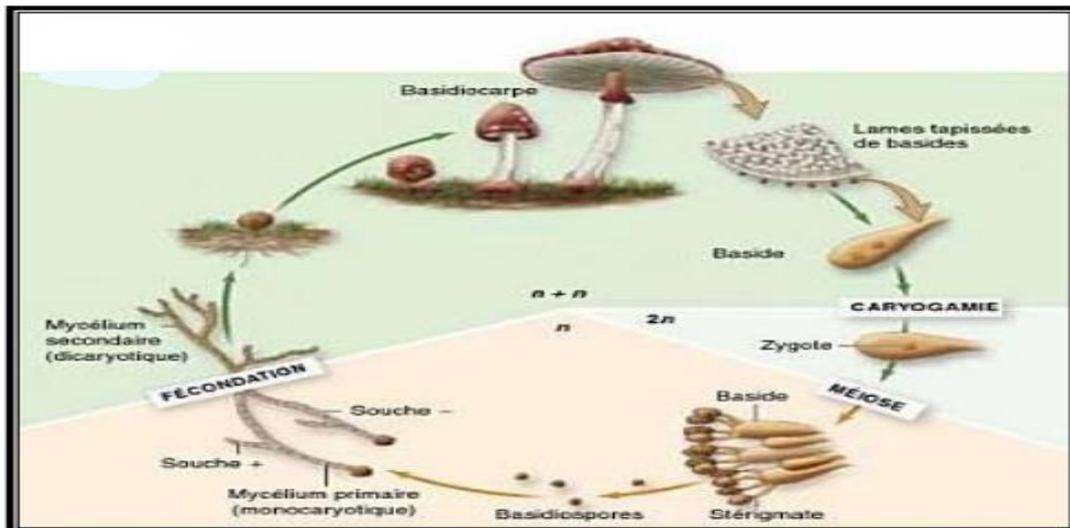


Figure 1 : Illustration de la reproduction des Basidiomycètes (Raven et al., 2011).

1.4. Type trophique des basidiomycètes

Le champignon dépend d'autres organismes pour son alimentation, on distingue trois modes de vie qui n'ont rien à voir avec leur comestibilité (Klorane., 2011).

1.4.1. Les saprophytes

Sont les principaux acteurs de la décomposition de la matière organique en milieu naturel, sont essentiels dans le fonctionnement et l'équilibre des écosystèmes. La plupart des espèces de champignons cultivées dans le monde appartiennent à ce groupe (Figure 2a) (Degreef et al., 2010).

1.4.2. Les parasites

Ils vivent aux dépens d'autres organismes que l'on appelle hôtes. Le parasite va profiter de son hôte, sans rien donner en échange, puisque ce dernier va lui permettre de se nourrir, de s'abriter et de se reproduire (Figure 2b) (Klorane., 2011).

1.4.3. Les symbiotes

C'est-à-dire en association à bénéfices réciproques. Ainsi, le mycélium va apporter différents éléments comme l'eau et les sels minéraux, en retour, il recevra la matière organique, lui permettant de vivre, cette relation peut s'établir avec les racines de l'arbre. On parle de mycorhize (Figure 2c)(Agrodok., 2007 ; Klorane., 2011).



Figure 2 : quelque exemple de type trophique des basidiomycètes : a) *Pleurotus ostreatus*
b) *Armillaria mellea* ; c) *Xerocomus badius*.

1.5. Les différentes familles des basidiomycètes

Il existe énormément de champignons qui sont classés en plusieurs catégories (Klorane, 2011).

- **Les champignons à lame** : ces champignons possèdent des lames sous le chapeau (Figure 3a).
- **Les champignons à tube** : sous le chapeau, on peut observer des tas de petits points. Il s'agit de pores. Ils sont en fait l'extrémité de tubes (Figure .3b).
- **Les champignons à aiguillons** : les aiguillons se trouvent sous le chapeau, ils peuvent être mous ou cassants (Figure .3c)

- **Les champignons à plis** : sous le chapeau, les plis fourchus ressemblent à des lames (Figure .3d).
- **Les champignons à forme particulière** : il existe beaucoup de champignons avec des formes très différentes (Figure 3f.g).

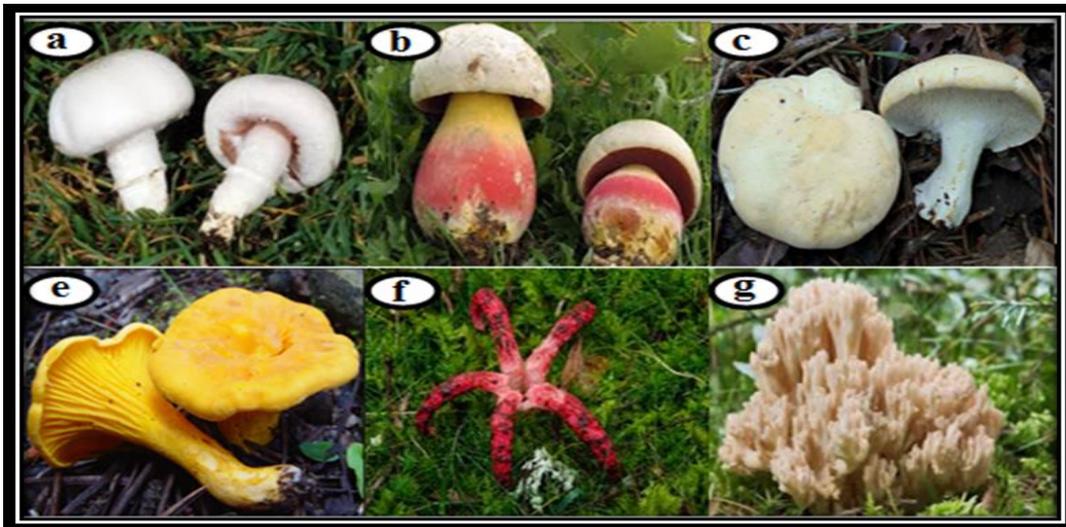


Figure 3 : Familles des basidiomycètes : a) *Agaricus campestris* ; b) *Boletus satanas* ; c) *Hydnum repandum* ; d) *Cantharellus cibarius* ; f) *Clathrus archeri* ; g) *Ramaria formosa*

1.6. Intoxications et Symptômes des basidiomycètes

Chaque année, beaucoup de cueilleurs consomment des champignons non comestibles et sont intoxiqués. Cela s'explique par le grand nombre de confusions possibles entre les champignons comestibles et les champignons non comestibles exemple : *Paxillus involutus* et *Lactarius deliciosus* (Figure .4)

Lorsque l'on consomme un champignon toxique ou mortel, un certain nombre de signes d'alertes ou de symptômes apparaissent. Ils peuvent varier en fonction du champignon : nausées, vomissements, douleurs ou rougeurs, diarrhée, fièvre, maux de tête, sueurs ...etc. L'intoxication est due à de petites molécules toxiques présentes dans le champignon, ces molécules passent dans le sang après ingestion d'un morceau de champignon et cela provoque des symptômes plus ou moins graves.

Plus le champignon est dangereux, plus les symptômes vont se manifester tardivement (ainsi, les molécules mortelles des *Amanites phalloïdes* sont déjà passées dans le sang depuis longtemps lorsque les premiers symptômes d'intoxication apparaissent (Klorane., 2010).



Figure 4 : Confusions entre les champignons :a) *Paxillus involutus* toxique ;
b) *Lactarius deliciosus* comestible.

2. Les Champignons comestibles

Les champignons comestibles sont considérés comme faisant partie des produits forestiers non ligneux, ils sont destinés à la consommation sans aucun risque pour la santé (FAO., 2000).

2.1. La culture des champignons comestibles

L'homme cultive des champignons depuis l'antiquité. Malgré les perfectionnements progressifs en la matière, peu d'espèces sont obtenues avec succès de manière industrielle ou semi-industrielle. Les espèces principales de culture sont cultivées sur une variété de substrats organiques, à l'exemple des déchets de la production de fumier de cheval, coton, marc du café... etc.

Les technologies sont bien établies et des industries de champignon à succès ont été établies dans beaucoup de pays. Le nombre d'espèces saprophytes cultivées augmente régulièrement et des conseils et des informations pratiques sont facilement accessibles.

Parmi les saprophytes comestibles assez facilement cultivables, on peut citer le champignon de Paris (*Agaricus bisporus*), les pleurotes (*Pleurotus ostreatus*) (Courtecuisse., 2011; Chang., 1999; Stamets., 2000).

2.2. Identification des champignons comestibles

L'identification d'un champignon n'est pas une démarche aisée, elle nécessite des connaissances en mycologie et des caractéristiques essentielles de chaque groupe de champignons. L'approche classique de l'identification des champignons est fondée sur les caractères macroscopiques, microscopiques et organoleptiques des sporophores. (Gévry *et al.*, 2009 ; Gévry., 2011).

2.2.1. Caractères macroscopiques

Pour étudier les caractères macroscopiques du champignon (Figure .5), on décrit les composantes suivantes (Annexe 1) :

- ❖ **Hyménophore** : partie fertile du champignon où se trouvent les spores, elle peut présenter des lames, des pores ou des aiguillons ainsi on distingue :
- **Les champignons à lames** : portant des lamelles et lamelles intermédiaires : description de la forme, couleur et type d'insertion au pied. La forme de l'arête, son intégrité, sa couleur et éventuellement les changements de couleur au froissement ou à la dessiccation.
- **Les champignons à aiguillons à pores** : la densité des pores, leur forme, la couleur de la face des tubes ; l'insertion vue en coupe ainsi que le changement de la couleur au froissement ou à la dessiccation.
- ❖ **Chapeau** : forme (convexe, conique, ombiliquée...), hauteur et diamètre, couleur, marge (lisse, enroulée, onduleuse...), le revêtement et la topographie du chapeau (écailleux, granuleux, fibrilleux...).
- ❖ **Pied ou Stipe** : forme, couleur, longueur, diamètre (à la base, au milieu et au sommet si sa forme est variable), consistance, la présence d'anneaux et son emplacement, présence d'éléments détersifs provenant du voile général ou du voile partiel, mode d'attachement au chapeau, structure interne et revêtement.
- ❖ **Chair** : couleur, consistance et texture.

2.2.2. Caractères microscopiques

La caractérisation microscopique des champignons porte sur le diamètre des spores (longueur et largeur), forme, couleur et ornementation. D'autres observations microscopiques sont effectuées sur la chair, le stipe et l'hyménium.

2.2.3. Caractères organoleptiques

- ❖ **Odeur et goût** : Il peut être caractérisé par une nouvelle odeur de champignon que l'on ne connaît pas. Au-delà de l'odeur du bon champignon, les odeurs des champignons peuvent parfois être surprenantes : ail, agrumes, amande, anis, cannelle, chlore, érable, farine, fétide, florale, poisson, thé des bois, ... etc.

Ainsi le gout d'un champignon peut être neutre, doux à âcre, piquant, acide...etc.

2.2.4. Autres caractères

- ❖ **Spore** : pour se reproduire, les champignons répandent des spores qui sont des structures microscopiques que l'on peut comparer au pollen des fleurs. Ces spores sont spécifiques à chaque champignon et peuvent être reconnues à l'aide d'un microscope, mais pour la plupart des champignons, la couleur des spores est suffisante pour les identifier.
- ❖ **Latex** : certains champignons comme les lactaires présentent un lait après leur coupe ou froissement, la couleur, le gout, la viscosité et l'abondance de ce lait sont des caractères importants pour déterminer l'espèce (Romagnesi., 1995 ; Roger., 1981 ; Eyi Ndong et al.;2011 ; Gévry et al., 2009 ; Bâ et al., 2011).

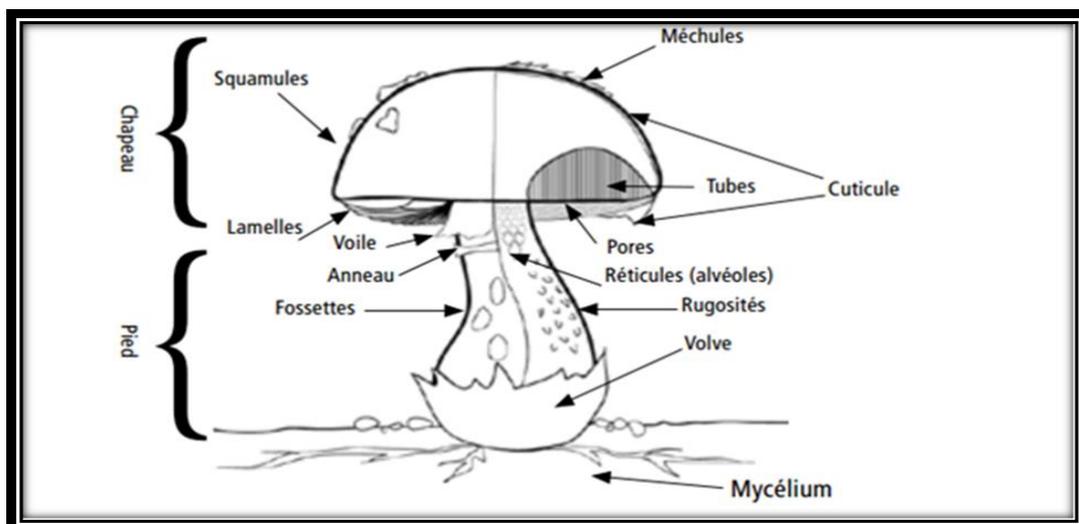


Figure 5 : Morphologie d'un champignon.

2.3. L'importance des champignons dans différents domaines

2.3.1. D'un point de vue biochimique et nutritionnel

Les champignons sont composés à 90% d'eau. Les 10% restants correspondent à 10-40% de protéines, 2-8% de lipides (toutes les classes lipidiques avec une part relativement importante en acides gras essentiels), 3-28% de glucides (sucres simples, disaccharides, polysaccharides), 3-32% de fibres, 8-10% de cendres avec en majorité du potassium, sodium, phosphore, calcium, magnésium, fer, zinc et cuivre.

La plupart des champignons renferment des vitamines essentiellement du groupe B (vitamines B3, B1, B2, et B8) et de la vitamine C, il y a également des provitamines A et D. Leurs concentrations dépendent des espèces et des conditions de culture. Tous les acides aminés essentiels ou non sont retrouvés, mais avec une très faible concentration en acides aminés soufrés. Leur concentration varie au cours de la vie du champignon et est très dépendante de la nature du substrat sur lequel il pousse; de plus ils sont pauvres en graisses et apportent des sels minéraux en proportion à peu près égale à la viande.

2.3.2. Dans le domaine économique

Grands décomposeurs de matières organiques, les champignons se développent sur les matériaux les plus divers, dès que l'humidité et la température leur sont favorables.

2.3.3. Dans le domaine écologique

Les espèces symbiotiques permettent la régénération forestière par des mycorhizes adaptées. Les champignons font office d'antagonistes chimiques vis-à-vis des parasites, prédateurs, et concurrents divers. Certains protègent des Nématodes qui sont friands des racines de certains chlorophylliens. Les champignons participent donc à l'équilibre biocénose au même titre que tous les êtres vivants. Ils subissent une certaine pression anthropique liée aux pollutions et aux perturbations du milieu. (**Michelot *et al.*, 1999** „**Siobud-Dorocant *et al.*, 1999**; **Dutein., 2002**)

2.4. Le genre *Pleurotus ostreatus* (pleurote en huître)

Le pleurote est un champignon saprophyte très compétitif s'implantant facilement sur un substrat rudimentaire, ce qui permet aux amateurs d'en envisager la culture à peu de frais (Fourré, 1990). Cette compétitivité est liée à la libération par les cellules du mycélium d'enzymes capables de s'attaquer à des molécules aussi complexes que la cellulose ou la lignine, d'où son nom de champignon décomposeur primaire ou champignon ligno-cellulolytique (Durrieu., 1993).



Figure 6 : Différentes couleurs du genre pleurote en huître : *Pleurotus ostreatus* ;
c) *Pleurotus citrinopileatus* ;b) *Pleurotus djamor* ;d) *Pleurotus eryngii*.

2.4.1. Morphologie

On peut résumer les caractéristiques qui distinguent le Champignon *Pleurotus* des autres Champignons dans le tableau suivant :

Tableau 01: Morphologie du champignon *Pleurotus ostreatus* (Bon., 2004).

Chapeau	Seul ou superposé, en forme d'huître ou d'éventail, grisâtre, blanc à maturité, de 2 à 20 cm
Les Pieds	Plus ou moins absent, excentrique ou latéral
Le chapeau	convexe ou charnu, d'un gris bleuâtre parfois ardoisé.
Les cystides	marginales et flexueuses.
Les lamelles	Blanches, longuement décurrentes sur le pied si présent
Le stipe	latéral, court 2 x 1cm, souvent velu ou hirsute.
La chair	blanche à bonne odeur fongique
Les spores	Crème 10-11 x3-4 μ m, cylindriques.

2.4.2. Habitat paille

Il pousse sur une large gamme de déchets végétaux (Figure.8), tels que la sciure de bois, la paille de riz, la bagasse, les essences de maïs, le coton usé, les tiges et les feuilles de bananes, peuvent tous être utilisés pour la production de champignons en absence de méthodes coûteuses de traitement et d'enrichissement.

En matière de rendement, certaines espèces de *Pleurotus* produisent des rendements très élevés en quelques semaines, ces champignons peuvent convertir 100 g de matières végétales à déchets secs en 50 à 70 g de champignons *Pleurotus* frais (Lelly., 1987).



Figure 7 : Culture de *Pleurotus* sur différents déchets végétaux (a) le déchet de coton; (b) le composé de paille mélangée de riz ;(c) le marc de café (d) la sciure de bois.

2.4.3. Classification

La classification du Pleurote est comme suit :

Tableau 02: Classification de champignons *Pleurotus ostreatus* (Jacq., 1871).

Règne	Fungi
Division	Basidiomycota
Classe	Agaricomycetes
Ordre	Agaricales
Famille	Pleurotaceae
Genre	Pleurotus
espèce	<i>P. ostreatus</i>

2.4.4. Indications et utilisations traditionnelles

Le sporophore, transformé en poudre, guérit traditionnellement les lumbagos et les douleurs aux jambes, les membres engourdis, les douleurs des tendons et les troubles sanguins. Il s'agit également d'un champignon connu pour ses vertus immunostimulantes et hypocholestérolémiantes (Hauteville., 1996).

2.4.5. L'étude scientifique sur un potentiel anticancéreux

➤ **Le champignon entier :** Le pleurote a une action antiproliférative sur les cellules du cancer du sein et du côlon. Il induit l'expression de : le suppresseur de tumeur et la protéine 21. L'action de ce champignon a aussi été étudiée sur un adénocarcinome colorectal et sur une lignée de cellules leucémiques monocytaires. Il a également une action préventive des cancers chimio induits, et le rôle de la diététique a rappelé qu'un régime riche en fibres pouvait prévenir un cancer du côlon et que les acides gras non saturés pouvaient prévenir l'apparition du cancer du sein. Il est donc protecteur de certains cancers. Il inhibe aussi la colite liée au cancer du côlon chez la souris. En effet, il prévient de l'inflammation liée à l'exposition à PhIP à travers des mécanismes de modulation combinée avec la croissance tumorale. (Jedinak *et al.*, 2008 2010; Wu *et al.*, 2011 Madar *et al.*, 1997).

L'extrait de Pleurote : L'extrait hydrosoluble de mycélium de *P. ostreatus* *in vitro* et *in vivo* est testé sur des souris avec un sarcome 180. L'injection de ce composé a arrêté les cellules cancéreuses en phase G0 et G1 du cycle cellulaire. Une stimulation des cellules cytotoxiques NK et des macrophages producteurs de dérivés nitrés est également observée (Sarangi *et al.*, 2006).

- **Les polysaccharides anti-tumoraux** : trois polysaccharides ont été isolés à partir de l'extrait aqueux des sporophores par précipitation éthanoïque. Ils ont été nommés A5, A3 et A6. Le composé A6 étant composé principalement de galactose est inactif. Les composés A5 et A3 contiennent essentiellement du glucose et possèdent les propriétés anti-tumorales marquées à une dose de 0.1 mg/kg/jour grâce à la présence d'une structure (1->3)-béta-glucane (**Yoshioka et al., 1985; Collington et al., 1985**).
- **L'ostreatine** : une toxine produite par de minuscules cellules sécrétrices spatulées provenant des hyphes du champignon. Elle fut isolée puis purifiée par HPLC et sa structure a pu être définie comme étant un acide trans-2-décènedioïque. A une concentration de 300 ppm, l'ostreatine immobilise 95% en moins d'une heure les nématodes présents lors de l'expérience (**Blandeau., 2012**).
- **La pleurotolysine** : produite par les hyphes du champignon. Elle a été isolée par Bernheimer et Avigad en 1979 à partir d'extraits aqueux des sporophores de *P. ostreatus* en cultures liquides. Elle exerce une activité cytolytique et hémolytique. Elle peut être assimilée par son activité à un antibiotique (**Hauteville., 1996**).
- **La mévinoline (lovastatine)** : une molécule hypocholestérolémiante car elle inhibe l'HMG-CoA reductase (**Dutein., 2002**).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

Dans ce deuxième chapitre, nous décrivons les méthodes utilisées ainsi que le matériel ayant servi dans l'élaboration, la réalisation et l'aboutissement de notre étude.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de mycologie, de biotechnologie et de l'activité microbienne (LaMyBAM) à Constantine.

1. Matériel

1.1. La Souche de *Pleurotus*

Le champignon utilisé dans notre travail a été récolté durant le mois de Février 2017. La récolte a été effectuée au niveau du foret de Djebel Zouaoui qui est située à 20 Km de Ibn Ziad au Nord-Ouest de [Constantine](#).



Figure 08 : La souche de *Pleurotus* : a) Localisation géographique du site de prélèvement du champignon ; b) Champignons *Pleurotus* de la région de Ibn Ziad.

1.2. Milieux de cultures pour la croissance du mycélium

La culture de *Pleurotus* a été réalisée sur différents milieux de culture solides qui permettent le développement du mycélium (Annexe 2) :

- **Le milieu PDA (pour Potato Dextrose agar) :** ce milieu a été préparé tout d'abord en coupant des pommes de terre en petits morceaux. Les cubes obtenus sont mélangés avec une quantité d'environ 500 ml d'eau distillé est mis en ébullition au Bain-Marie. Le bouillon obtenu est filtré et additionnée à une quantité de glucose et 20 gm

d'agar pesé préalablement. Enfin, la quantité d'eau distillé est complété jusqu'à 1000 ml (**Boulmarka A et al ., 2017**).

- **Le milieu SDA (pour Son du riz Dextrose Agar) :** la préparation du milieu consiste à faire dissoudre une quantité de Son de Riz, avec une quantité de 20 gm d'agar et 20 gm de glucose, ensuite, la quantité d'eau est complété jusqu'à 1000 ml (**Boulmarka A et al ., 2017**).
- **Le milieu ODA (pour Orge Dextrose Agar) :** il a été préparé à partir d'un mélange d'orge et d'eau distillée. Le mélange est mis en ébullition au Bain-Marie et la bouille obtenue est filtrée. Enfin, une quantité d'agar et du glucose a été ajouté et l'eau est complété jusqu'à 1000 ml.
- **Le milieu MEA (pour Malt Extract Agar) :** la préparation du milieu consiste à faire dissoudre une quantité de 20 gm Malt Extract avec une quantité de 20 gm de Dextrose, 1gm Peptone et 15 gm Agar ensuite, la quantité d'eau est complété jusqu'à 1000 ml (**Thom and Church, 1926**).

La stérilisation des différents milieux de culture, a été effectuée à 120° C à une pression de 1 bar pendant 20 min.

1.3. Milieux de culture pour la préparation du blanc

Pour la préparation du blanc (semences / graines) de Pleurote, plusieurs substrats (supports) cellulose ont été utilisés :

- **Le blé :** Le grain de blé se compose principalement d'amidon, qui représente 70% de la matière sèche totale. Il comprend également 10 à 15 % de protéines et 8 à 10 % de pentosanes (hémicelluloses) et 2 à 4 % de cellulose (**Wolter R et al.,1982**).
- **L'orge :** le grain d'orge est composé entre autres de fibres brutes (11,2 %), de lignocellulose (4,3 %), de hémicellulose (6,9 %), de lignine (0,6 %), de cellulose vraie (3,7 %) et de cellulose (4,2 %) (**Wolter R et al.,1982**).
- **Le papier carton :** Le papier carton est fait de fibre de cellulose et essentiellement constitué d'une suite de molécules de glucoses biodégradables, recyclables et non-toxiques. Il est donc possible de les composter, de les valoriser énergétiquement en les brûlant et de les recycler (**Wolter R et al.,1982**).

1.4. Milieu / substrat de fructification

De nombreux déchets agricoles tels que des copeaux ou de la sciure de bois, de la bagasse de canne à sucre et différents types de paille peuvent servir de matériaux de base du substrat pour cultiver le Pleurote. Dans nos essais, quatre substrats de culture étaient destinés à la fructification de *Pleurotus* : la paille de blé, la coque d'arachide, la coque de tournesol et le marc de café.

➤ **La paille de blé** : elle est essentiellement constituée de parois végétales qui représentent de 60 à 85% de la matière séchées. Les parois sont composées de cellulose 45-55 %, l'hémicelluloses 20-25 % et de lignine 8-12 % (Almi *et al.*, 2017).

➤ **Marc de café** : pasteurisé par l'eau bouillante lors du passage du café, ce déchet a la particularité d'être déjà très propre et de constituer un terreau tout à fait adapté à la culture de *Pleurotus* pour résumer, l'intérêt du marc de café est dans sa teneur importante en magnésium et potassium 0.6 % immédiatement assimilable, puis le cuivre phosphore 0.06 %, il contient pas mal d'azote 2.28 %, riche en acide aminé en cellulose et hémicellulose (Almi *et al.*, 2017).

➤ **La coque d'arachide** : contient 38.4 % de carbone, 1.08 % d'azotes, 56.9 % de matière cellulosique et 36 % de lignine (Feller *et al.*, 1981).

➤ **La coque du tournesol** : ce composé contient une large variation dans sa composition. La coque comporte essentiellement des fibres de cellulose et de lignine avec un pourcentage entre 50 et 73 %, l'hémicellulose à 20 %, les lipides entre 0.9 et 7.1 % et les protéines de 2.8 à 7.1 % (Connor et Hall, 1997 ; Berot et Briffaud).

1.5. Milieu de conservation

Afin de profiter de leurs saveur le long de l'année, plusieurs méthodes de conservation sont devenues accessibles par le biais des moyens naturels tels que : l'huile d'olive, les milieux acides (vinaigre, citron...etc.) et le séchage.

2. Méthodes

2.1. Evaluation de la croissance mycélienne sur milieux de culture gélosés

2.1.1. Culture de spores sur boîtes de Pétri

Lorsque le fruit du champignon est mature (une bonne croissance en termes de taille et de forme), la culture de tissus peut être effectuée par la méthode suivante :

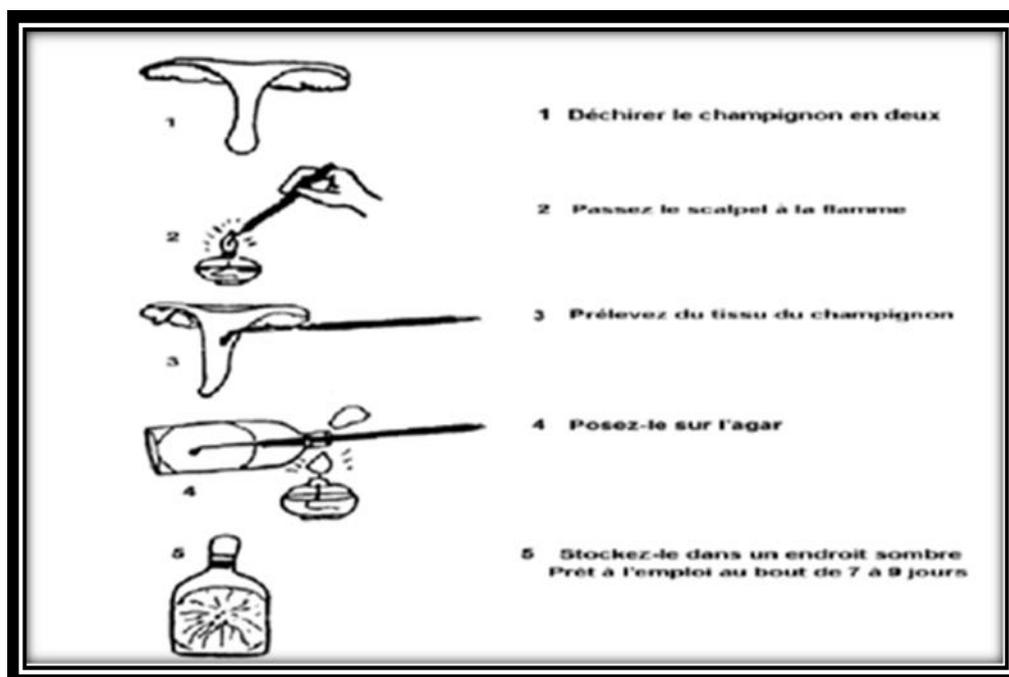


Figure 09 : Différentes étapes de culture d'un tissu fongique.

En effet, un Carpophore de Pleurotes contenant des lames bien fermées a été choisi et désinfecté partiellement à l'aide d'alcool (éthanol 80%) afin d'éliminer les impuretés et les microorganismes se trouvant attachés sur sa surface. Le chapeau du fruit a été découpé d'une manière longitudinale en petit fragments. Ces derniers, ont été mis en culture sur le milieu PDA à une température comprise entre 20 et 25°C pendant 7 jours.

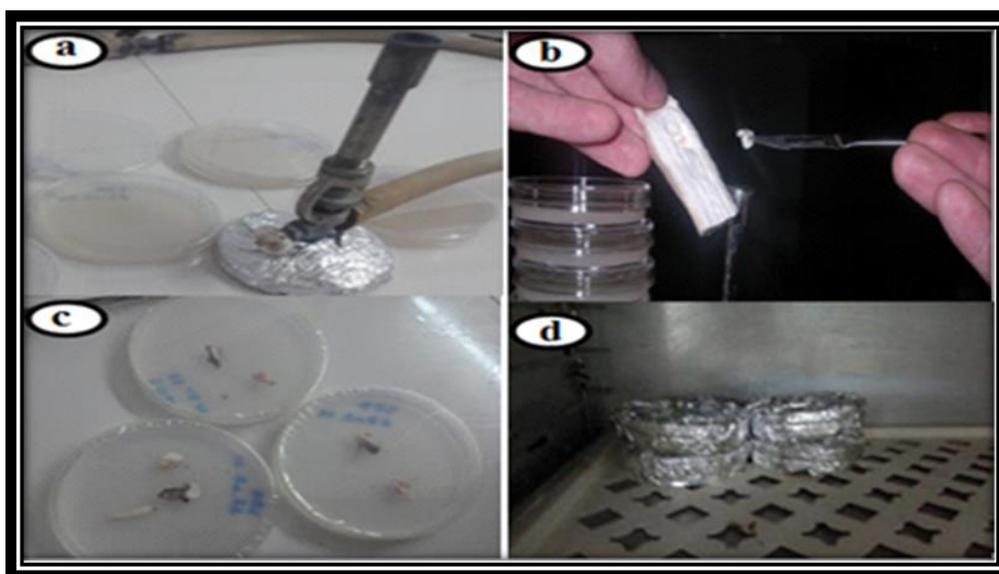


Figure 10 : Ensemencement des tissus contenant les spores sur le milieu PDA.

2.1.2. Optimisation du milieu de culture pour *Pleurotus*

Quatre milieux de culture ont été testés pour le choix du milieu le plus adapté au développement et à la croissance des souches de *Pleurotus* utilisées pour les besoins de l'étude : le milieu Potato Dextros Agar (PDA), le Son du Riz Dextros Agar (SDA), l'Orge Dextros Agar (OGA) et le Malt Dextros Agar (MEA).

Les repiquages sont effectués à partir de cultures âgées d'une semaine, à raison d'un explant de 6 mm par boîte. L'incubation est effectuée à $20 \pm 25^{\circ} \text{C}$ pendant une semaine. Un suivi quotidien du diamètre de croissance a été réalisé par simple mesure avec une règle.

2.2. Préparation du blanc de semence ou blanc d'inoculum

2.2.1. Préparation du blanc avec le papier carton

La technique de production sur le papier carton se déroule en plusieurs étapes. Premièrement, le champignon en question a été découpé en petits fragments d'environ 2 cm de diamètre à l'aide d'un Scalpel. Les feuilles de papier carton ont été détachées les unes des autres et mouillées dans de l'eau pendant 30 min. Ensuite, des boîtes en plastiques propres ont été stérilisées par l'Hypochlorite de Sodium, et remplies par les feuilles de carton déposées les unes sur les autres (5 à 6 feuilles).

Les feuilles de papier carton déposées ont été séparées par une couche de fragments de champignons préalablement désinfectés.

Enfin, les boîtes ont été bien fermées et recouvertes par du papier aluminium afin d'assurer l'obscurité. L'incubation a été effectuée à une température d'environ à 20 - 25° C 15 à 20 jours (Almi *et al.*, 2017).



Figure 11 : Culture du champignon sur papier carton.

2.2.2. Préparation du blanc (semences)

2.2.2.1. Préparation des graines : plusieurs types de graines végétales sont utilisés comme substrat pour la production du blanc, les substrats choisis lors de ce travail sont de deux types : les grains du blé et les grains d'orge.

Pour préparer le blanc, une quantité de 1000 g de graines (blés ou orges), a été tout d'abord bouillie dans 1000 ml d'eau distillée pendant une demi-heure pour augmenter la proportion d'humidité jusqu'à 50%. Après ébullition, les graines ont été égoutées à l'aide d'une passoire. Les graines refroidies ont été ensuite, réparties dans des flacons à raison de 250 g par flacon. Par ailleurs, un mélange de : 2g de CaSO_4 , 2g Glucose et 1 ml de CaCO_3 ont été additionnés à chacun des flacons. Les flacons ainsi préparés, ont été couverts par un couvercle mené d'un trou d'environ 1 cm pour assurer l'échange des gazes entre l'intérieur et l'extérieur. Le trou a été chargé par un coton stérile (Ziad Nacer., 2005).

Les flacons ainsi préparés, ont été stérilisés pendant 20 min à une température de 120° C et une pression de 1 bar.



Figure 12 : Préparation des graines pour le blanc fongique.

2.2.2.2. Ensemencement des flacons : c'est l'étape la plus importante dans le procédé de production de Pleurotes. Cette étape est trop délicate en matière de conditions environnementales. L'ensemencement en flacon, est réalisée dans l'objectif de multiplier/ augmenter la quantité du mycélium fongique et aussi d'adapter le mycélium aux conditions de culture finales. Pour se faire deux méthodes sont possibles :

➤ **Méthode directe** : cette technique consiste à utiliser le champignon d'une façon directe. En effet, le Carpophore a été bien lavé puis coupé en tranches et introduit dans les flacons (contenant les graines stériles du blé ou orge) sous l'hôte dans des conditions aseptiques. Enfin les flacons du blanc ont été incubés dans une étuve à 20°C pendant 10 à 15 jours avec une surveillance en continue, afin d'éliminer tous les grains contaminés, pour éviter le déplacement de la contamination vers les grains propres.



Figure 13 : Ensemencement des flacons du blanc par méthode directe.

➤ **Méthode indirecte** : le principe général de cette méthode, consiste à transférer un tissu du mycélium des boîtes de pétri préalablement préparées, vers des flacons contenant le substrat. L'ensemencement des flacons s'effectue sous l'hôte dans des conditions aseptiques. En effet, après un bon développement du mycélium (14 jours environ), l'agar (portant le mycélium) a été coupé en petits morceaux. Ensuite, chaque morceau d'agar a été déposé soigneusement dans un flacon portant le substrat, Enfin les flacons du blanc ont été incubés dans une étuve à 20°C pendant 10 à 15 jours.



Figure 14 : Ensemencement des flacons par méthode indirecte.

2.3. Culture en sac

2.3.1. Préparation du substrat : pour la culture en sac, plusieurs substrats celluloseux ont été utilisés, à savoir : la paille, le marc de café, la coque d'arachide et la coque du tournesol. Tout d'abord, les substrats ont été trempés dans l'eau de robinet bouillante tout le long de la nuit (plus de 12 h) afin de les humidifier et les rendre doux (Figure 19.a). Cette humidification favorise la colonisation des hyphes des champignons d'huîtres. Ensuite, une vérification du taux d'humidité du substrat a été faite (taux d'humidité doit être de 60 – 65%). Enfin, de 2 g de CaSO₄ et 2 g de Glucose ont été additionnés au substrat.

2.3.2. Remplissage des sacs (Lardage) : le lardage consiste à ensemercer en couche le blanc fongique. En effet, chaque sac a été rempli par une première couche du substrat traité et suivie par une autre couche (une quantité suffisante) du blanc, et ainsi de suite jusqu'au remplissage du sac. Le taux de lardage représente environ 10% du poids du substrat. Une fois le remplissage et le lardage effectués, les sacs ont été mis en incubation dans des pièces à part. Le processus d'incubation a été assuré dans les conditions suivantes :

- ✓ **La lumière :** L'obscurité est donc recommandée pendant trois semaines
- ✓ **La température :** de 20 à 30 °C.
- ✓ **l'humidité :** un taux près de la saturation 90 à 95% (Klorane, 2011).

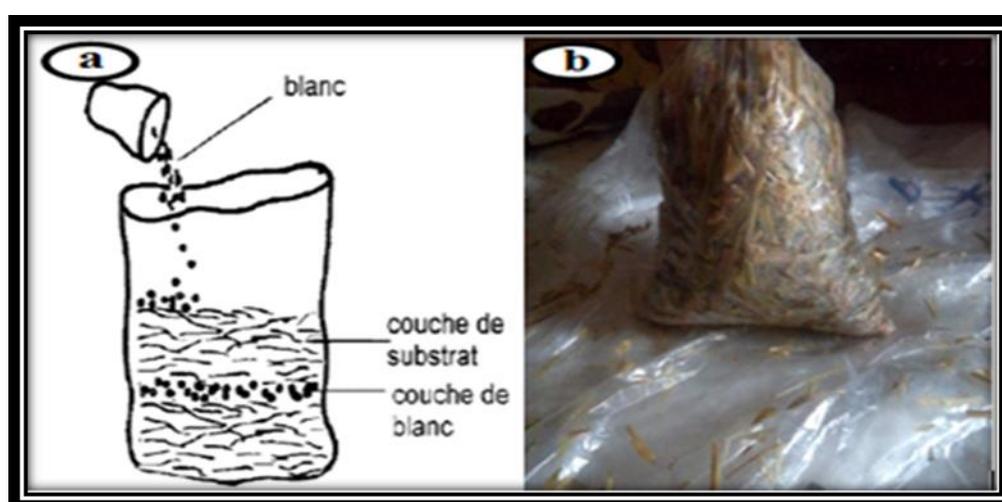


Figure 15 : Lardage en couches.

2.3.3. Fixation des sacs : la fixation des sacs a pour objectif (fig 16), de maintenir ces derniers en position stable loin de toutes influences extérieures. Cette méthode consiste à suspendre les sachets au plafond à l'aide d'un vis.

2.4. La fructification : une fois, les sacs sont complètement colonisés par le mycélium. Ils ont été entaillés et troués pour assurer l'aération nécessaire au développement et à la fructification (Oei, 2005). Les conditions climatiques de la salle de culture sont modifiées car la fructification exige :

- ✓ **La lumière :** une légère lumière avec un éclairage entre 8 et 10 heures par jour avec une lumière blanche ou avec la lumière naturelle.

Le taux de lumière élevé peut inhiber la formation des carpophores et le contraire, un taux bas de lumière va favoriser le développement du pied par rapport au chapeau.

✓ **La température** : pour la fructification, la température doit être plus basse que celles de la croissance mycélienne (jusqu'à atteindre moins de 16°C) pour provoquer la fructification. Ce choc peut être effectué à l'aide des sacs de glace. Pour le développement des Carpophores, la température doit être entre 12 et 20° C.

✓ **L'humidité** : elle est assurée par une pulvérisation continue des sacs pour maintenir l'humidité entre 75 à 80%. Un taux d'humidité trop élevé pour la fructification va favoriser le pied au dépend du chapeau (Klorane, 2011).

La vérification du degré de température est dû au taux d'humidité pour les maintenir constants, est assuré par un thermo-hygromètre.

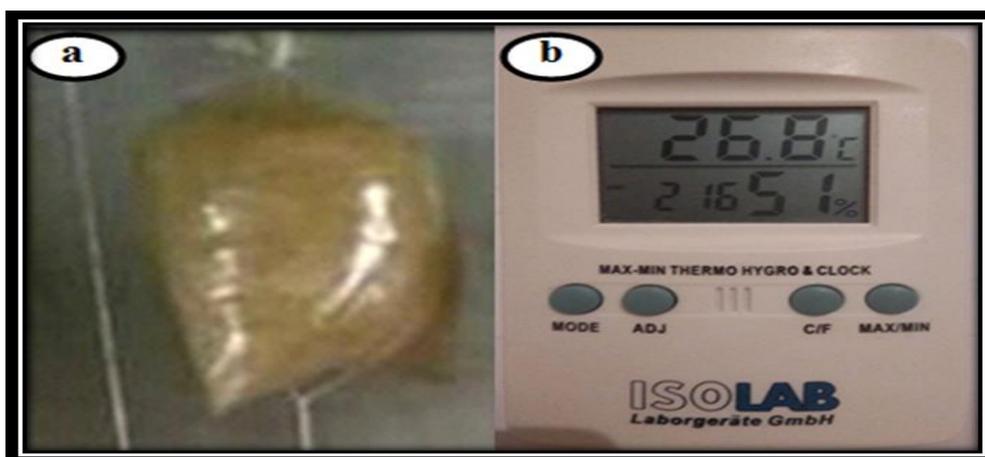


Figure 16 : Fixation des sacs : a) Fixation des sacs. b) Thermo-hygromètre pour contrôler la température et l'humidité.

2.5. Conservation du Pleurote

Dans l'objectif de profiter de la saveur du Pleurote le long de l'année plusieurs moyens de conservations ont été testés :

2.5.1. La congélation (Conservation d'environ 6 mois)

Certains champignons, se réhydratent difficilement et se conservent mieux si on les congèle. Il est déconseillé de congeler les champignons crus. Pour optimiser la

conservation. Il est préférable de les faire cuire à feu vif dans une casserole quelques minutes. Les égoutter, les faire passer dans une passoire puis de les conserver....

2.5.2. Une transformation en marinade (Conservation d'environ 6 mois à un 1 an)

Pour la marinade, il faut d'abord blanchir les champignons dans une eau bouillante, assaisonnée de vinaigre et de sel, durant environ 10 minutes auquel on peut ajouter quelques épices comme le thym, le romarin, les oignons...etc. et faire bouillir pendant quelques minutes, le temps de les ramollir un peu. Enfin, les champignons sont égoutté et déposez dans un bocal préalablement stérilisé et ils sont conservés soit :

- ✓ Les fruit sont recouvrent avec d'huile d'olive et une cuillère à café de vinaigre et fermez hermétiquement **(Klorane , 2011)**.
- ✓ Les fruits sont recouverts avec le vinaigre et le citron.

2.5.3. Le séchage (Conservation d'environ 5 ans)

Le séchage est sans doute le plus vieux et le plus simple des modes de conservation. Bien séchés, les champignons se gardent durant des années, sans rien perdre de leurs arômes en vieillissant. Les deux étapes aboutissants au séchage du Pleurotes sont les suivant :

- **Première étape (Préparation des champignons) :** les champignons ont été premièrement nettoyé avec une brosse et coupés ensuite en tranches minces.
- **Deuxième étape (Séchage) :** les Carpophores de champignons ont été séchés à une température constante de 40 à 45° C, tout en évitant de dépasser 60° C pour préserver la couleur et éviter le noircissement de vos tranches.

De même, les températures supérieures à 60° C sont à éviter, car il provoque une modification des cellules des tranches, nuisant à la réhydratation subséquente. En fin du premier séchage, un second séchage de 30 minutes à une heure à une température de 55 °C a été réalisé, pour éliminer toutes les bactéries ou insectes qui auraient pu survivre.

Les champignons secs ont été conservez dans des bocaux ou des sacs hermétiques, car les champignons peuvent facilement se ré-humidifier.

Idéalement les champignons seront séchés dans un séchoir ou un déshydrateur alimentaire, mais il est également possible de les faire sécher sur une grille, une moustiquaire ou de les suspendre à une corde dans un endroit sec et bien aéré par un ventilateur.

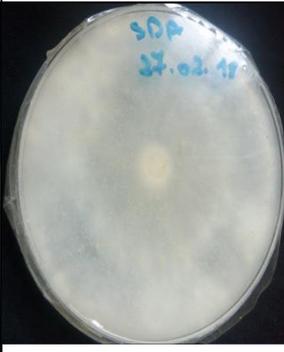
Chapitre III :
Résultats et discussion

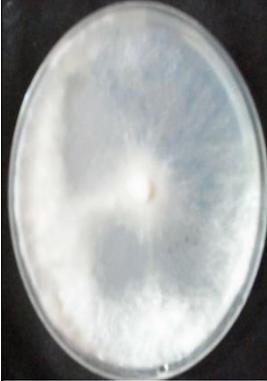
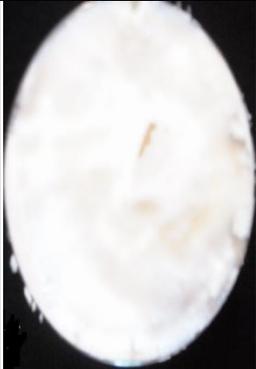
Le présent travail porte sur la multiplication de *Pleurotus* sur différents substrats celluloseux issus de déchets agro-alimentaires.

1. Le mycélium sur la gélose nutritive

La sélection d'un milieu optimum pour la croissance du mycélium de *Pleurotus*, a été effectuée sur plusieurs milieux microbiologiques. En effet, après 9 jours d'incubation dans une température de 20°C, la totalité des boîtes de Pétri a été envahie par le mycélium du Pleurote. Ce dernier, est caractérisé par un aspect cotonneux et une couleur blanchâtre.

Tableau 03 : Aspect macroscopique de Pleurote sur les différents milieux de culture utilisés.

Milieu SDA					
Couleur	Vitesse de croissance		Texture	Surface	Revers
blanche	Culture du tissu	Culture des spores	Cotonneuse		
	Après 10 jours	Après 13 jours			
MILIEU PDA					
Couleur	Vitesse de croissance		Texture	Surface	Revers
blanche	Culture du tissu	Culture des spores	Cotonneuse		
	Après 8 jours	Après 10 jours			

MILIEU ODA					
Couleur	Vitesse de croissance		Texture	Surface	Revers
blanche	Culture du tissu	Culture de spore	Cotonneuse		
	Après 11 jours	Après 13 jours			
MILIEU MEA					
Couleur	Vitesse de croissance		Texture	Surface	Revers
blanche	Culture du tissu	Culture de spore	Cotonneuse		
	Après 11 jours	Après 13 jours			

L'évolution de la vitesse de croissance du mycélium au cours du temps est représentée par la figure 23.

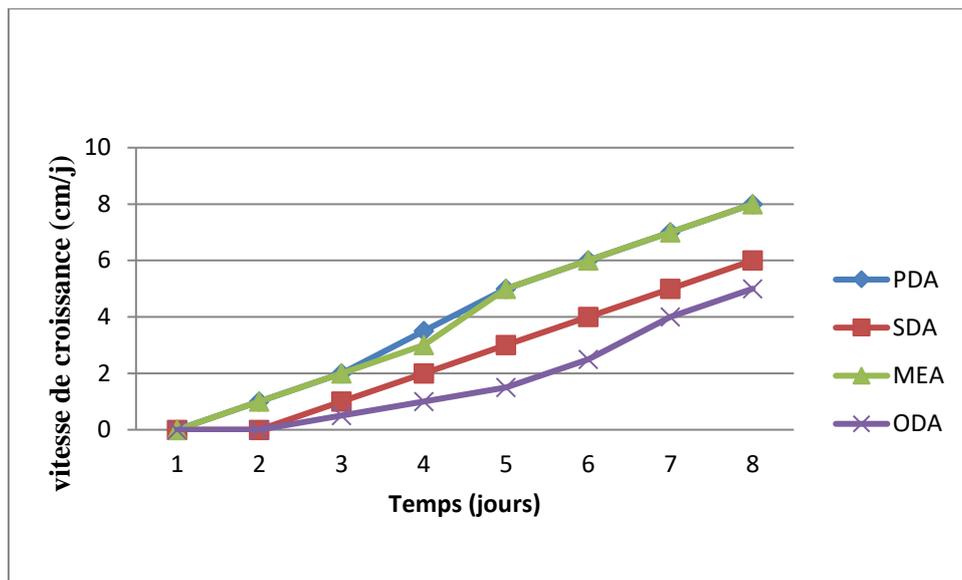


Figure 23 : Vitesse de croissance mycélienne sur les différents milieux de culture.

Les résultats obtenus, montrent que les milieux PDA et MEA favorise une bonne croissance du mycélium en comparaison avec les autres milieux utilisés. En effet, la croissance mycélienne sur ces deux milieux débute dès le troisième jour et atteint le maximum (occupe la totalité de la boîte de Pétri) au septième jour. Par ailleurs, le maximum de croissance pour le milieu ODA est enregistré au huitième jour et enfin, la boîte de Pétri n'a été recouverte complètement que dans le dixième jour pour le milieu SDA. Ceci signifie que les milieux PDA et MEA sont les deux milieux les plus favorables pour le développement du mycélium Pleurote.

2. Le mycélium sur les différents substrats celluloseux

La préparation des grains de Pleurotes pour le semé, a été réalisé sur plusieurs support celluloseux à savoir : L'orge, le blé, le papier cartonne, après ensemencement des différents substrats avec le mycélium de *Pleurotus*, un mycélium en forme d'un tapis blanchâtre couvrant les substrats a été obtenu dans 20 jour signe d'un bon développement du mycélium de Pleurote (Tableau 04 et 05).

Tableau 04 : Développement du mycélium de Pleurotes sur l'orge et le blé par la méthode tissulaire.

Le Substrat	Le blé	L'orge
<p>Développement du mycélium</p>		
<p>Observation</p>	<p>a) Le développement mycélien débute dès le cinquième jour dans l'incubateur.</p> <p>b) la colonisation complète se fait au bout de vingt jours.</p>	<p>a) Le développement mycélien débute dès le troisième jour dans l'incubateur.</p> <p>b) la colonisation complète se fait au bout de vingt jours.</p>

Tableau 05 : Développement de mycélium de Pleurotes sur l'orge et le papier carton par la méthode directe

Le Substrat	Papier Carton	L'orge
Développement de mycélium		
Observation	<p>a) le mycélium se développe à partir du morceau de champignon après 4 jours dans l'incubateur</p> <p>b) un pot de seigle complètement colonisé après avoir passé 18 jours dans l'incubateur.</p>	<p>a) le mycélium se développe à partir du morceau de champignon après 6 jours dans l'incubateur</p> <p>b) un pot de seigle complètement colonisé après avoir passé 22 jours dans l'incubateur.</p>

La progression du poids au cours de la croissance, effectué chaque cinq jours par la méthode de Wolter et *al.* (1982), est donné dans la figure 24.

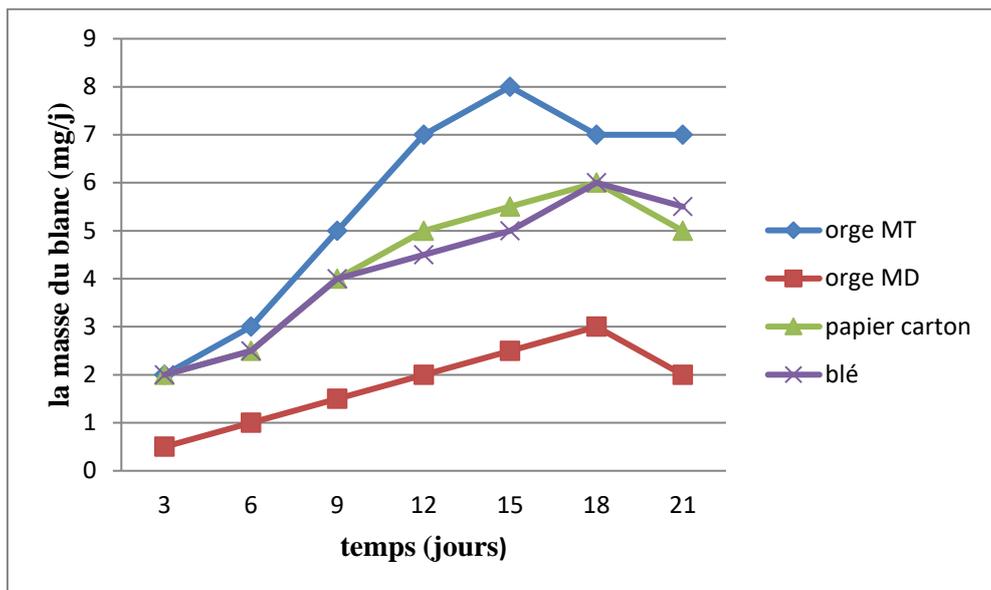


Figure 24 : Vitesse de croissance du mycélium sur les différents substrats.

Les résultats obtenus montrent que, le poids du mycélium est plus important sur dans la culture sur les graines d'orge (MT) où l'augmentation débute dès le troisième jour après incubation et devient maximal après 15 jours (8 mg). Le papier carton donne un poids égal à (6 mg) après le troisième jour suivi par le blé (5 mg) puis l'orge (MD) (3 mg). D'après ces résultats, on constate que l'orge (MT) est le substrat qui se digère plus rapidement lors du la production du blanc d'inoculation.

Les résultats obtenus sont trop proche de celui de Wolter et *al.* (1982), qui ont comparé la digestibilité de quatre céréales (avoine, orge, maïs, blé).

3. Le mycélium sur le substrat de fructification

3.1. Croissance du mycélium

Plusieurs substrats issus de déchets agro-alimentaires ont été employés pour l'étape de fructification, qui est : Le marc de café, la coque d'arachide, la coque de tournesol et la paille de blé; après quelques jours d'incubation dans des conditions optimales, des petites colonies blanchâtres représentant le mycélium du *Pleurote* sont formés sur le substrat. Ces colonies couvrent complètement le substrat plus tard. Les différents résultats obtenus sont résumé dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Le développement du blanc sur les différents substrats utilisés.

Le substrat	La paille de blé	La coque d'arachide
Développement de mycélium		
Observation	<p>a) après 7 jours la production des petites colonies blanches</p> <p>b) après 30 jours le mycélium couvre complètement le sac de la paille de blé.</p>	<p>a) après 4 jours la production des petites colonies blanches</p> <p>b) après 30 jours le mycélium couvre complètement le sac de la coque d'arachide.</p>

	Le marc de café	La coque de tournesol
Développement de mycélium		
Observation	<p>a) après 9 jours la production des petites colonies blanches.</p> <p>b) après 32 jours le mycélium couvre complètement le sac de marc de café.</p>	<p>a) après 12 jours la production des petites colonies blanches.</p> <p>b) après 40 jours le mycélium couvre complètement le sac des coques de graines de tournesol.</p>

Le suivi de la vitesse de croissance du mycélium pour chaque substrat est indiqué dans le tableau suivant :

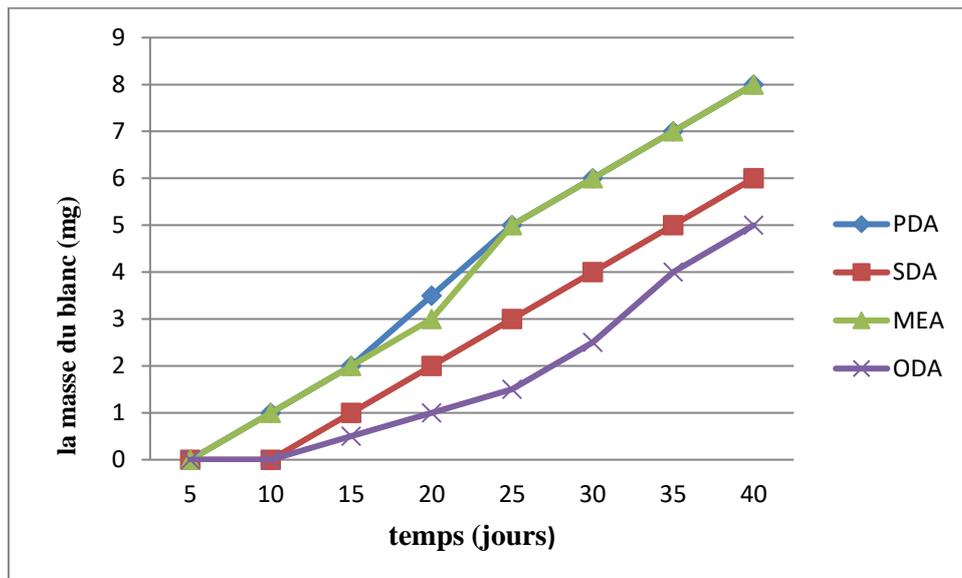


Figure 25 : Vitesse de croissance du mycélium sur les différents substrats de fructifications.

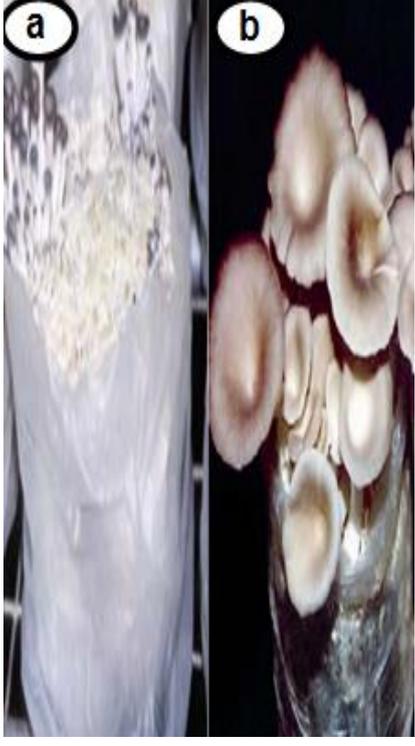
D'après les résultats obtenus, on constate que le taux de croissance du mycélium de Pleurote est plus rapide sur la paille de blé qui débute dès la troisième journée et devient maximal après 30 jours (40 mg). Le développement dans la coque d'arachide vient en deuxième position avec un poids de (38 mg), suivie par le mac de café (37 mg) et la coque de tournesol (30 mg).

Les résultats obtenus sur la paille sont très proche de ceux obtenus par **Boulmarka et Laoufi., (2017)**.

3.2. Fructification : poussée des champignons

Lorsque le mycélium *Pleurotus* a couvert totalement le substrat, un choc thermique a été réalisé pour débiter l'étape de fructification du champignon. Les résultats obtenus en fin de fructification sont résumés dans le tableau suivant :

Tableaux 07: Le développement du fruit de champignon *Pleurotus ostreatus*.

Substrat	Marc de café	Coque de tournesol
<p>Développement du fruit de champignon</p>		
<p>Observation</p>	<p>a) après 9 jours Apparition de petits chapeaux noirs.</p> <p>b) après 13 jours Augmentation de la taille du champignon (pleurote) et les chapeaux prennent la couleur beige.</p>	<p>a) après 10 jours Apparition du des petites chapeaux noirs.</p> <p>b) après 15 jours Augmentation de la taille du champignon (pleurote) et les chapeaux prennent la couleur beige.</p>

	Paille de blé	Coque d'arachide
Développement du fruit de champignon		
Observation	<p>a) après 6 jours Apparition des petits chapeaux noirs.</p> <p>b) après 10 jours</p> <p>Augmentation de la taille de champignon (pleurote) et les chapeaux prend la couleur beige.</p>	<p>a) après 8 jours Apparition des petits chapeaux de couleur gris au niveaux du sac.</p> <p>b) après 13 jours</p> <p>Augmentation de la taille du champignon (pleurote) et les chapeaux.</p>

Après l'apparition des petits chapeaux noirs (Carpophore), leurs croissances deviennent rapides avec modification de couleur. A partir du quatrième jour on obtient un champignon adulte.

3.3. La récolte

Lorsque les fruits du *Pleurotus* atteignent la taille adulte, ils sont détachés délicatement du substrat ou de la couverture par un mouvement circulaire. Une seule culture peut donner de 3 à 4 récoltes avec des masses différentes (Tableau 08).

Tableau 08 : Poids de différentes récoltes du *Pleurotus* selon le substrat.

Substrats	Masses (kg)		
La paille de blé	1.5	1	0.5
la coque d'arachide	1.5	0.75	0.15
La coque de tournesol	1	0.5	
Le marc de café	2		

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus on remarque que la récolte pour la paille de blé donne au total 3kg, celle de la coque d'arachide 2.5kg, la coque de tournesol donne 1.5kg et le enfin, le mac de café 2 kg. Ce fait, en conclu que la paille de blé est le meilleur substrat de fructification pour le champignon de *Pleurotus*.

4. Conservation :

Les différentes méthodes de conservation employées, permettent l'élimination du développement des contaminations.

En effet, après réalisation du séchage et marinade, les fruits du pleurote se fanent. Tandis qu'après congélation il garde leur texture et leur couleur. Les résultats obtenus sont représentés par la figure 23.



Figure 20 : Conservation du Pleurote : a) séchage des champignons ; b) congélation ;
c) conservation dans l'huile d'olive ; d) conservation dans milieu acide.

Les substrats utilisés pour la culture des champignons, très riches en protéines, peuvent être utilisés comme compléments alimentaires animal ou bien enfouis dans le sol et arroser régulièrement, après 40 jours il nous donne des champignons et continue à produire tout au long de l'année, mais en petite quantité.



Figure 21 : a) le sac dans le sol b) la fructification

Conclusion

Et

Perspectives

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de mycologie, de biotechnologie et l'activité microbienne (LaMyBAM) à Constantine, il a porté sur, la multiplication de Pleurote sur différents substrats celluloses issus de différents déchets agro-alimentaires.

La culture du Pleurotus n'exige pas de grands moyens. Trois étapes nécessaires pour avoir le fruit de pleurote: En effet, la première étape porte sur la culture du mycélium sur milieu microbiologiques. Quatre milieux ont été utilisés : PDA , MEA, ODA et SDA .Les résultats obtenus d'après montre que les milieux donnent meilleur croissance mycélienne du champignon avec une vitesse de croissance plus rapide que les autres milieux savoir PDA et MEA.

Par ailleurs la production de blanc d'inoculation (ensemencement) : a été réalisé par deux méthode : méthode directe et indirecte. Les résultats obtenus indiquent que le taux de croissance est plus important sur les grains d'orge en comparaison avec les autres inoculations (orge, blé, papier carton).

L'étape de fructification à former le point essentielle de notre travail de mémoire, pour ce faire, quatre déchets agro-alimentaires sont sélectionnés pour leur richesse en matière cellulosique. Ces déchets sont : la paille, mac de café, coque d'arachide, coque de tournesol. Les résultats que nous avons obtenus indiquent que la croissance, ainsi que, la fructification du pleurote est beaucoup meilleurs sur la paille. Cependant, la culture est possible sur les autres déchets d'une manière décroissante : la paille, marc de café, coque d'arachide et coque de tournesol.

En fin, après trois à quatre récolte de fruits, des opérations de concertations (conservation naturel) ont été réalisés. de ce fait, l'huile d'olive, milieu acide, séchage et congélation sont les milieux choisis pour attendre l'objectif de notre travail ni une suite de recherche dans le domaine de culture de champignon comestible, miné par le laboratoire de mycologie, de biotechnologie et l'activité microbienne, mais ne forme pas une finalité de recherche .pour cela plusieurs perspective sont préconisé :

- ✓ Amélioration des conditions de fructification.
- ✓ Généralisé la méthode de production sur autres champignons comestible exemple : agarics
- ✓ Approfondi les recherche sur les méthodes de conservation.
- ✓ Réaliser des applications médicales avec les fruits du pleurote.

Résumé

Résumé

La production du mycélium de pleurote a été effectuée sur les milieux PDA, ODA, SDA et MEA .les résultats obtenus montrent que la croissance est meilleure sur les milieux PDA et MEA par rapport aux autres milieux utilisés.

Par ailleurs, la préparation de l'inoculum effectuée sur trois substrats celluloses en se basant sur un ensemencement direct et indirecte révélé que la dispersion du mycélium (un tapis blanc) et notamment remarquable et meilleure sur substrat d'orge dans le cas d'ensemencement indirect.

En outre, l'obtention des fruits de pleurote a été meilleur d'un point de vu poids et morphologie du carpophore ; sur les déchets de paille en comparaison avec les autre déchets choisis dans cette étude mac de café, coque d'arachide la coque de tournesol.

Les différentes méthodes de conservations à savoir, l'huile d'olive, l'acidité milieu acide et séchage ont limite le développement de contamination.

Mots clés : *Pleurotus ostreatus*, substrats celluloses, déchets agro-alimentaires, PDA

Abstract

The production of the oyster mushroom mycelium was carried out on the PDA, ODA, SDA and MEA environments. The results obtained from our research show that the growth is better on the PDA and MEA media compared to the other environments used.

Moreover, the preparation of the inoculums carried out on three cellulosic substrates based on a direct and indirect seeding, revealed that the dispersion of the mycelium (a white carpet) in particular remarkable and better on barley substrate in the case of seeding indirect.

In addition, obtaining oyster fruit was better from a point of view of weight and morphology of the carpophore; on straw waste in comparison with other waste selected in this study coffee mac, peanut shell, sunflower shell.

To conclude, the different preservation methods, olive oil, acidic medium and drying have limited the development of contamination.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, Agroindustrial waste, substrate cellulosic, PDA.

المخلص

يتم انتاج مسليوم الفطر المحاري في الأوساط التالية PDA, ODA, SDA, MEA

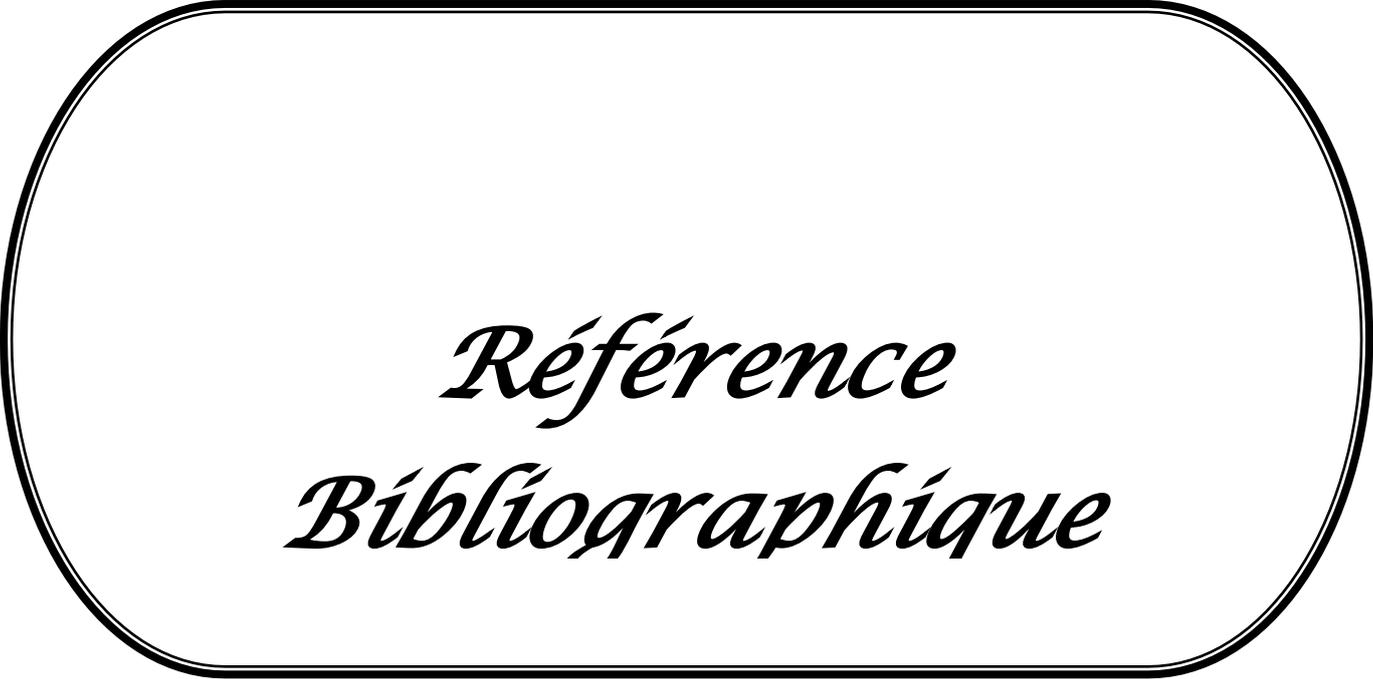
النتائج المتحصل عليها تدل على ان النمو يكون بشكل افضل في الأوساط PDA و MEA مقارنة بالأوساط الأخرى المستخدمة

من ناحية أخرى يتم اعداد القاح على ثلاث ركائز سيليلوزية اعتمادا على طرق مباشرة وغير مباشرة وتكشف لنا ان توزيع المسليوم لوحه بيضاء وبصفة خاصة يكون افضل على ركيزة الشعير بطريقة الغير مباشرة

من جهة أخرى للحصول على فاكهة تكون افضل من ناحية الوزن وتركيبه الكاربوفور على نفايات التين مقارنة مع نفل القهوة قشرة عباد الشمس با لإضافة قشرة الفول السوداني

مختلف طرق الحفظ مثل التجفيف زيت الزيتون والوسط الحامضى حدث من تطورة التلوث

الكلمات المفتاحية : المحاري النفيات الصناعية ركيزة سيليلوزية



Référence
Bibliographique

A

Agrodok ., 2007. La culture des champignons à petite échelle - 2 Agaricus et Volvariella.

Alexopoulos C.J., Muns C .W., BlackwellM., 1996. Introductory Mycology.4th Eds.John Wiley and Sons,New York,869p. Digestibilité comparée de quatre céréales (avoine, orge, maïs, blé), selon le mode de présentation, chez le poney R. Wolter, J.P. Valette, Andrée Durix, J.C. Letourneau, Monique Carcelen, A. Villard, A. Bruny

Almi H ., Laoufi O., Boulmarka A., Oufroukh A., Kacem chaouch N., Dehimat L., 2017. Multiplication and production of mushroom on laboratory scale on different subdtrates. European journal of Physical and Agricultural Sciences

B

Bâ A., Duponnois R., Diabaté M., Dreyfus B., 2011. Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l'Ouest.Méthodes d'étude, diversité, écologie, utilisation en foresterie et comestibilité. Collection didactiques. Eds. IRD, France, p252.

Barron G.L., Thorn R.G., 1987. Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. Canadian Journal Botany.p 65, 774-778.

Barros L., Baptista P., Correia D. M., Casal S., Oliveira B., Ferreira I. C .F .R., 2007. Fatty acid and sugar compositions and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. Food Chem., p105, 140-145.

Blandeau E., 2012. Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques. Thèse Doctorat, Université. Angers, France, p30.

Boulmarka A et Laoufi O., 2017. Essai de multiplication et culture de champignon Pleurote à échelle laboratoire. Université de Constantine 1.

Bon M., 2004. Champignons de France et d'Europe occidentale. Un guide illustré. Plus de 1500 espèces et variétés.N°édition : FT 1321-01.Paris : Flammarion, p368.

Breuil M., 2009. Biologie, 2ème année BCPST-VETO.Eds.TECet DOC, Lavoisier, Paris, p818.

C

Carlile M.J., Watkinson S.C., 1994. The Fungi. (Academic Press eds).

Chang, S.T., 1980. Mushrooms as human food, BioScience, p30, 399-401.

Clesse B., 2011. La biodiversité fongique. L'Erable : revue trimestrielle de la Société royale Cercles des Naturalistes de Belgique asbl.3ème trimestre,Belgique ,p1-12.

Collington T., 1985. Les basidiomycètes producteurs de substances antitumorales. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, U.E.R. des sciences pharmaceutiques, Université de Caen.

Courtecuisse R., Duhem B., 2011. Guide des champignons de France et d'Europe. 1752 espèces décrites et illustrées.Paris : Delachaux et Niestlé.

D

Durrieu G., 1993. Ecologie des champignons. Ed. Masson, Paris, p207.

Dutein D., 2002. Les basidiomycètes utilisés en médecine traditionnelle: données scientifiques actuelles. Mycologie et médecine. Thèse d'exercice : Pharmacie, Université Paris V-René Descartes, n°20.p151.

E

Eyi Ndong H., Degreef J., De Kesel A., 2011. Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique centrale. Taxonomie et identification. Abc Taxa 10, Samyn Y., Vanden Spiegel D., Degreef J. (Eds.), p254.

F

F.A.O. ,2000.Manuel de pratiques intégrées de gestion et des sols. Bulletin des terres et des eaux de la FAO n°8 Rome, p208.

G

Gévry M-F., 2010. Étude des facteurs environnementaux déterminant la répartition de champignons forestiers comestibles en Gaspésie, Québec. Mém. Maîtrise, Université. Québec, Canada, p82.

Gévry, M-F., 2011. Évaluation du potentiel en champignons forestiers comestibles au Lac Saint-Jean. Rapport final , Québec, p55.

Gévry M-F., Simard D., Roy G., 2009. Champignons comestibles du Lac-Saint-Jean. Bibliothèque et Archives, Canada, p67.

Gupta R., 2004. A text Book of Fungi.Ed.Efficient Offset Printers,New Delhi , India,p343.

Guzman, G., 2008. Diversity and use of traditional Mexican medicinal fungi.A review . Int . JM

H

Hauteville B., 1996. Contribution à l'étude de quelques champignons du Vietnam et de leur utilisation potentielle en thérapeutique. Thèse d'exercice: Pharmacie, Université de Caen, n°1081. p294.

Hauteville B., 1996. Contribution à l'étude de quelques champignons du Vietnam et de leur utilisation potentielle en thérapeutique.Thèse d'exercice: Pharmacie, Université de Caen.

Hawksworth, D.L., 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation, *Mycol. Res.*,p 95, 641–655.

Hawksworth, D.L., 2001. Mushrooms: the extent of the unexplored potential, *Int. J. Med. Mushrooms*, p3, 333–337.

Hibbett, D.S. and Thorn, R.G., 1994. Nematode-trapping in *Pleurotus tuberregium*, *Mycologia*, p 86, 696–699.

K

Klorane, I., 2010. Découvre le monde des champignons.

J

Jacq_P_Kumm., 1827. Effets des milieux de culture PDA SDA SPDA blé et mais sur la productivité in vitro de la souche P969 du *Pleurotus ostreatus*_

Jedinak A., Dudhgaonkar S., Jiang J., Sandusky G., Sliva D., 2010. *Pleurotus ostreatus* inhibits colitis-related colon carcinogenesis in mice. International Journal of Molecular Medicine.

Jedinak A., Sliva D., 2008. *Pleurotus ostreatus* inhibits proliferation of human breast and colon cancer cells through, International Journal Oncology,p53.

L

Luttge U., Kluge M., Bauer G., 2002. Botanique. 3^{eme} éd. Eds. TEC et DOC Lavoisier ,Paris, p604.

Lelly, J., 1987. Edible mushrooms as a weapon against starvation, *Mushroom J.*, p 173.

M

Madar Z., Zusman I., 1997. The role of dietary factors in prevention of chemically-induced cancers (review). International Journal Oncology.

O

Oei P., 1993. La culture des champignons. Guide technique. Amsterdam, Pays-Bas : CTA, TOOL, FGRET.

R

Redecker D., 2002. New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. Research in Microbiology. p153, 125-130.

Raven P.H.,Johnson G.J.,Mason K.A.,Losos J.B.,Singer S.S.,2011. Biologie . 2^{ème} édition .Ed.De Boek,Bruxelles, p1406.

Roger P., 1981. Les champignons. Eds. Solar pour la traduction française, Paris, p288.

Romagnesi H., 1995. Atlas des champignons d'Europe. Ed. Bordas, Paris, p 290.

Reis F. S., Barros L., Martins A., Ferreira I. C. F. R., 2012. Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: an inter-species comparative study. Food Chem. Toxicol., p50, 191-197.

S

Sarangi I., Ghosh D., Bhutia S.K., Mallick S.K., Maiti T.K., 2006. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. International Immunopharmacology.

T

Thom, C. and M.B. Church., 1926. The aspergilli. . Williams & Wilkins Co., Baltimore, M D.

W

Wu J.Y., Chen C.H., Chang W.H., Chung K.T., Liu Y.W., Lu F.J., Chen C.H. 2011.Anti-Cancer Effects of Protein Extracts from *Calvatia lilacina*, *Pleurotus ostreatus* and *Volvariella volvacea*.Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.

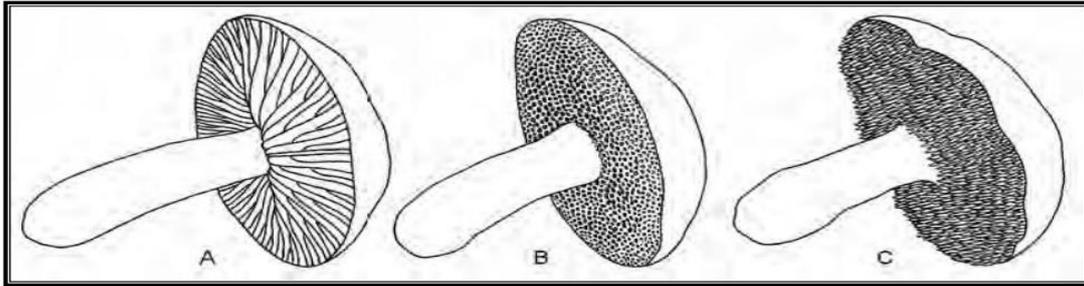
Y

Yoshioka Y., Tabeta R., Saito H., Uehara N., Fukuoka F., Antitumor polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* (Fr.). Isolation and structure of a beta-glucan. Carbohydrate research. P140, 93-100.

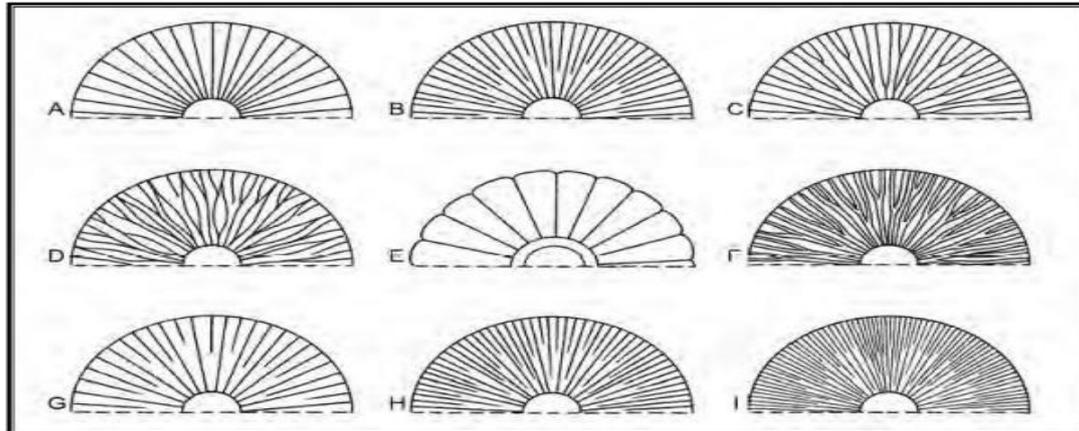
Annexes

Annexe 1 : clés d'identification des champignons (Eyi Ndong et al., 2011).

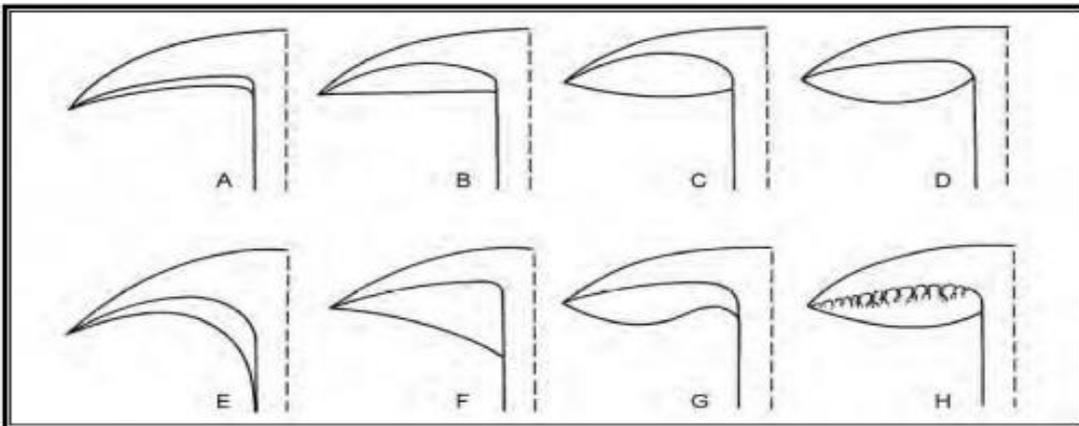
1-Hyménophores



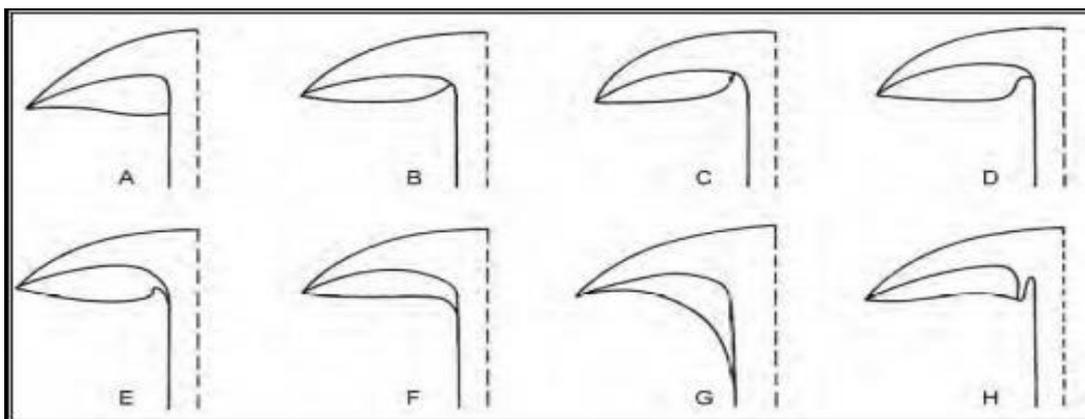
Type d'hyménophore : A : Lamellé ; B : tubulé ; C : Aiguillons.



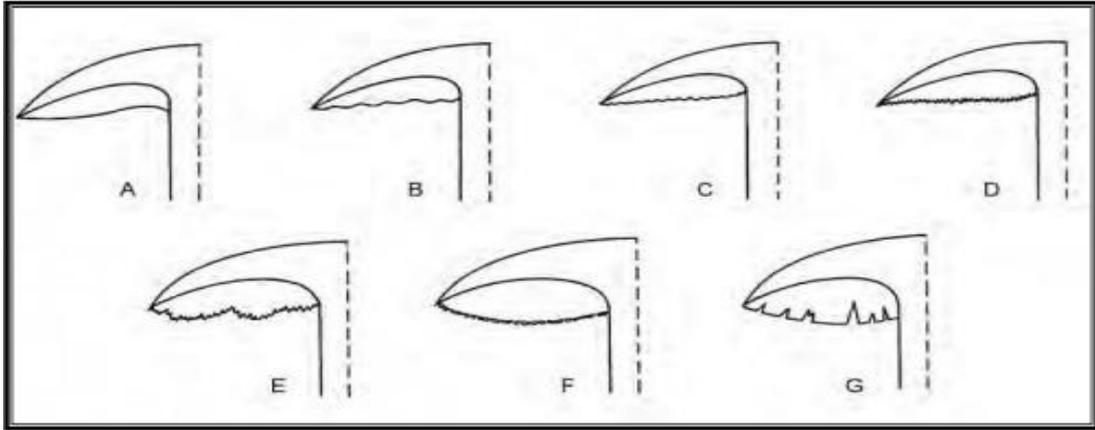
Organisation d'un hyménophore lamellé : A : Lamelles simples ; B : Lamelles inégales (lamelles et lamellules) ; C : Lamelles fourchues ; D : Lamelles anastomosées ; E : Lamelles collariées ; F : Plis (*Cantharellus*) ; G : Lamelles espacées ; H : Lamelles serrées ; I : Lamelles très serrées.



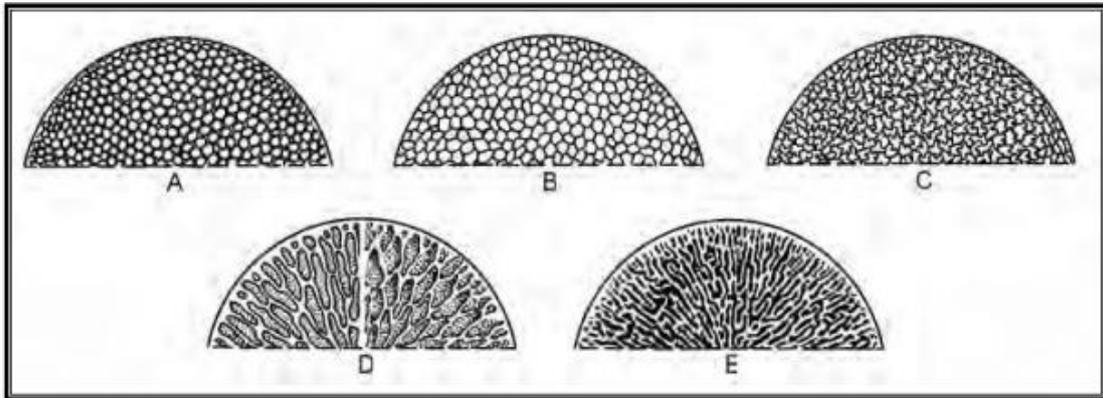
Profil des lamelles. A : Etroit ; B : Horizontal ; C : Subventru ; D : ventru. E : Arqué ; F : Triangulaire ; G : Sinué ; H : Veiné.



Insertion des lamelles. A : Adné ; B : Sublibre ; C : Libre ; D : Emarginé. E : Emarginé et décurrent par une dent ; F : Adné et décurrent par une dent ; G : Décurrent ; H : Collarié.

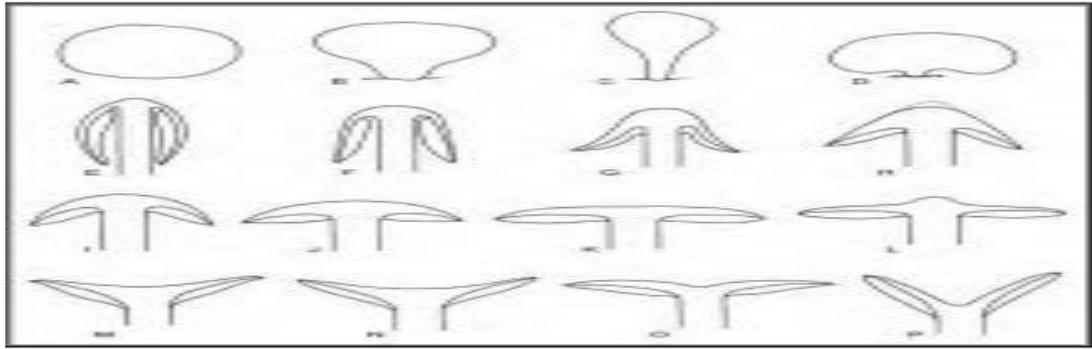


Arête des lamelles. A : Lisse ; B : Ondulé ; D : Incisé ; E : Erodé F : Coloré ; G : Lacinié.

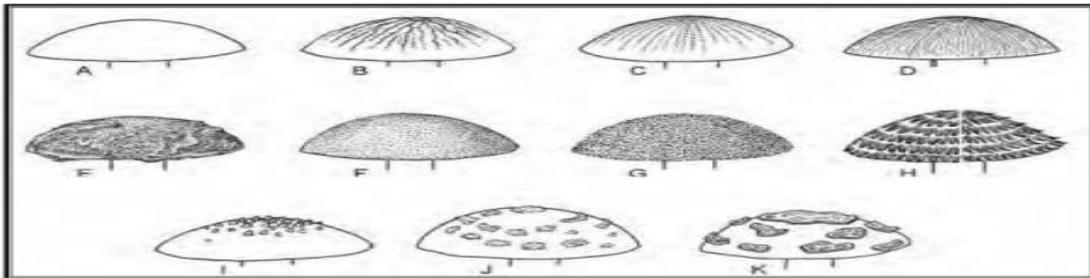


Organisation d'un hyménophore tubulé. A : Pores ronds ; B : Pores anguleux ; C : Pores irréguliers ; D : Pores anguleux allongés ; E : Pores labyrinthiformes.

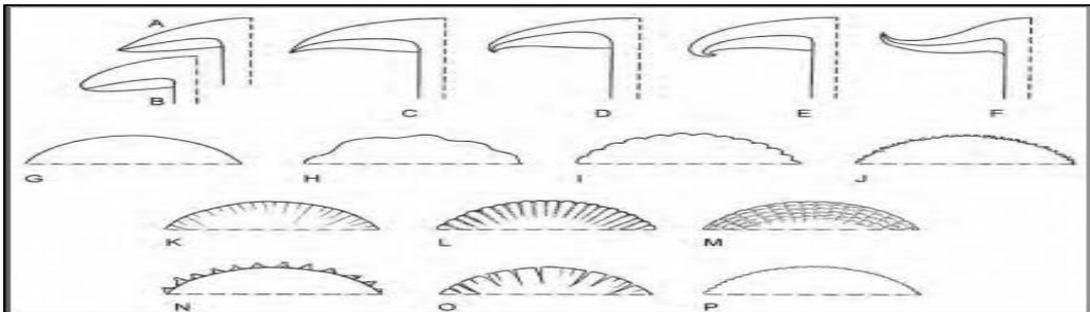
2. Caractéristique du chapeau



Forme du chapeau. A : Circulaire ; B : Flabelliforme ; C : Spatuliforme ; D : Réniforme ; E : Subglobuleux ; F : Parabolique ; G : Campanulé ; H : Conique ; I : Hémisphérique. J : convexe ; K : Plan ; L : Umboné ; M : Déprimé ; N : Concave ; O : Ombiliqué ; P : Infundibuliforme.

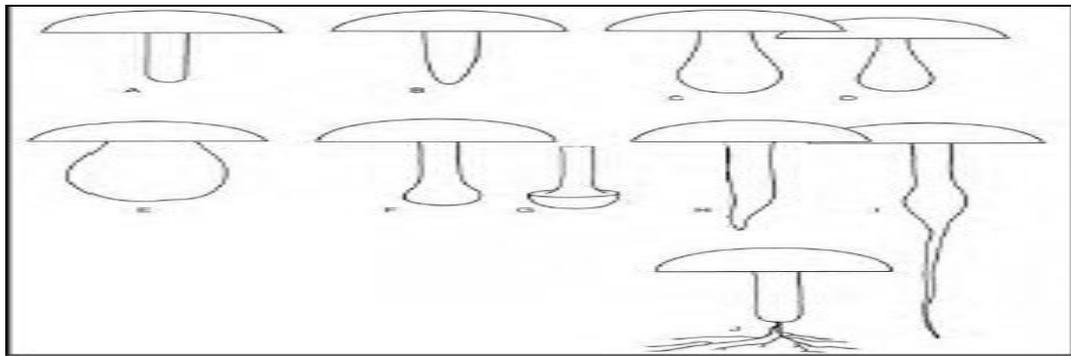


Revêtement et topographie du chapeau. A : Uniforme ; B : Veiné ; C : Rimeux ; D : Fibrilleux ; E : Mucilagineux ; F : velouté ; G : Hérissé. H : Squamuleux ; I et J : Floconneux ; K : Ecailleux.

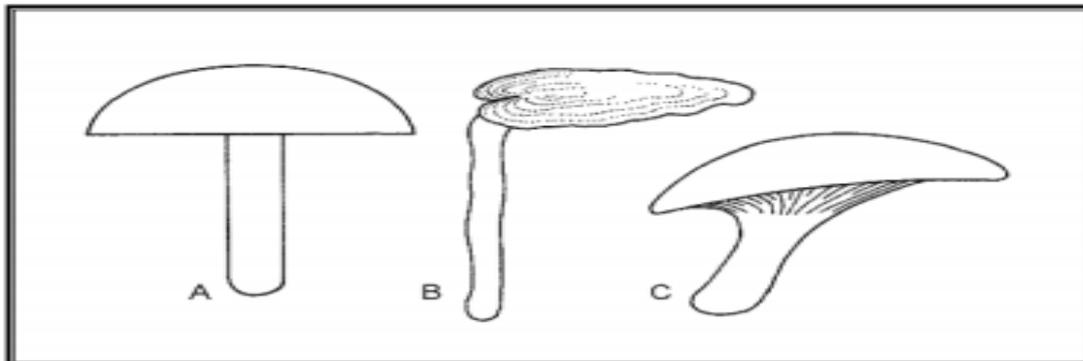


Marge du chapeau. A : Droit aigu ; B : Droit obtus ; C : Infléchi ; D : Incurvé ; E : Enroulé ; F : Révoluté ; G : Uniforme ; H : Ondulé ; I : Lobé ; J : Serrulé ; K : Strié ; L : Crénelé ; M : Pectiné ; N : Appendiculé ; O : Fissuré ; P : Crénelé.

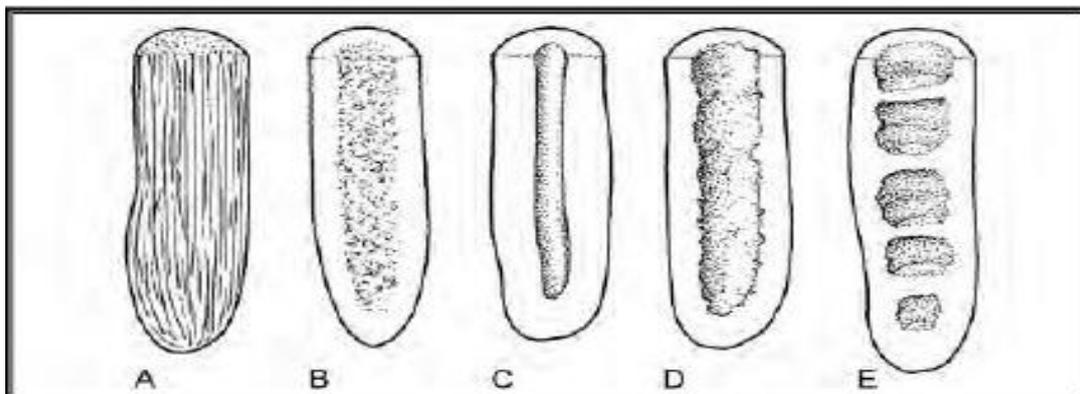
3. Caractéristiques du pied



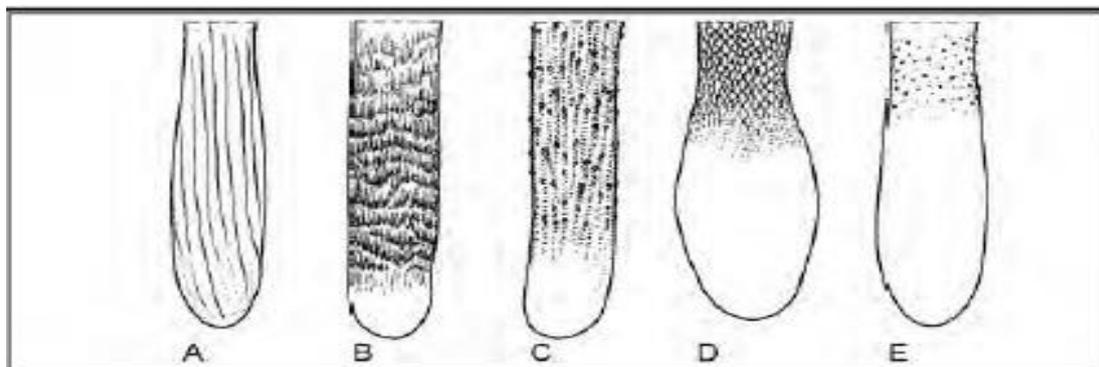
Forme du pied et raccord au substrat. A : Cylindrique ; B : Atténué vers le bas ; C : Claviforme ; D : Subvelvé ; E : Ventru ; F : Bulbeux ; G : Bulbeux marginé ; H : Radicant ; I : Pseudorhize ; J : Rhizomorphes.



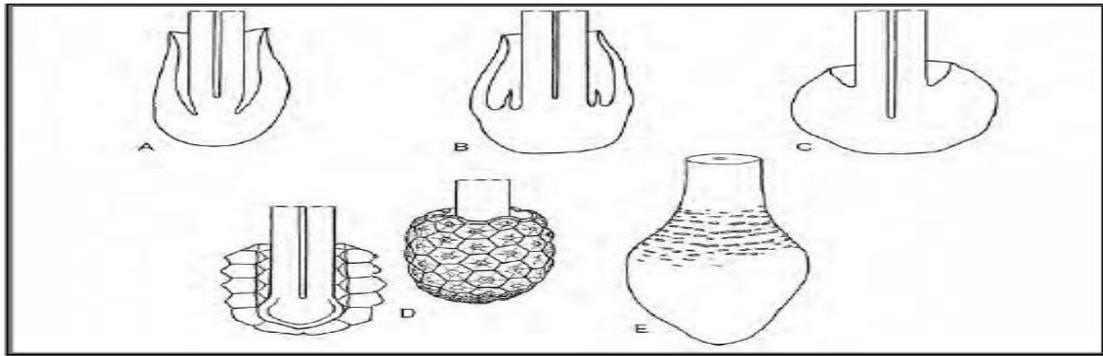
Attachement du pied au chapeau. A : Central ; B : Latéral ; C : Excentrique.



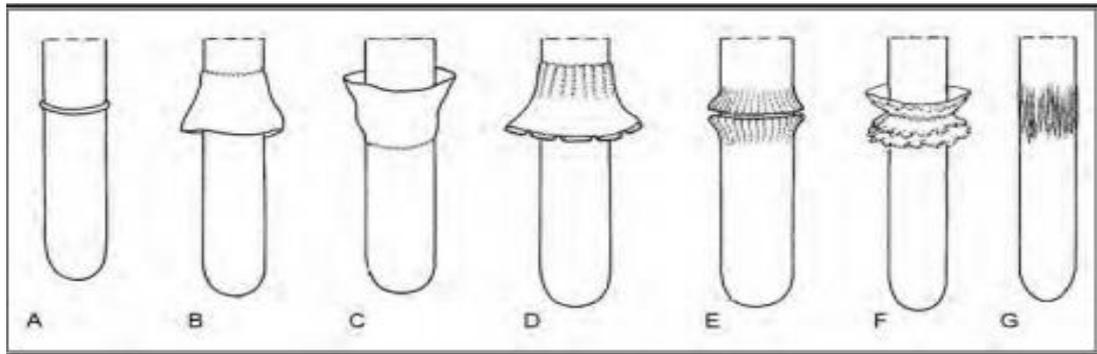
Structure interne du pied. A : Plein ; B : Farci ; C : Fistuleux ; D : Creux ; E : Caverneux.



Revêtement du pied. A : Fibrilleux ; B : Chiné ; C : Squarreuse ; D : Réticulé E :Pustuleux.



Restes du voile universel à la base du pied. A : Volve en sac ; B : Volve en sac ; C : Volve circumsessile ; D : Volve strobilacée ; E : Volve floconneuse.



Restes du voile partiel. A : Anneau membraneux ; B : Anneau simple d'origine supère ; C : Anneau simple d'origine infère ; D : anneau simple en roue dentée ; E : Anneau double ; F : Anneau mobile ; G : Cortine.

Annexe2 : les Formules des milieux de culture

les milieux	Le milieu PDA (d'extrait de Pomme de terre, Dextrose, Agar)	Le milieu SDA (Son du riz, Dextrose, Agar)	Le milieu ODA (d'extrait d'orge, Dextrose, Agar)	Le milieu MEA (Malt Extract, Dextrose, Agar)
Les compositions (g/L)	200 g de pommes de terre. 20 g d'agar en poudre. 20 g de glucose. 1000ml litre d'eau distillée.	Son de Riz 18g Agar – agar 9 g glucose 9 g 1000ml litre d'eau distillée	200 g d'orge. 20 g d'agar en poudre. 20 g de glucose. 1000ml litre d'eau distillée.	Malt Extract 20g Dextrose 20g Peptone 1g Agar 15 g

Annexes 3: Vitesse de croissance mycélium

1. sur les milieux de culture :

Jours	PDA	SDA	ODA	MEA
1	0	0	0	0
2	1	0	0	1
3	2	1	1	2
4	3.5	2	1.5	3
5	5	3	3	5
6	6	4	4.5	6.5
7	7	5	5.5	7
8	8	6	7	8

2. sur les différents substrats :

Jours	Orge MT (mg)	Orge MD (mg)	Blé (mg)	Papier carton (mg)
3	2	0.5	2	2
6	3	1	2.5	2.5
9	5	2	4	4
12	7	3	4.5	5
15	8	4	5	5.5
18	7	5	6	6
21	7	4	5.5	5

3. sur les différents substrats de fructifications :

Jours	La paille (mg)	La Coque d'arachide (mg)	La Coque de tournesol (mg)	Le Marc de café (mg)
5	10	8	6	10
10	20	15	10	16
15	27	18	13	20
20	34	22	17	26
25	38	27	20	30
30	40	33	24	35
35	37	38	28	37
40	36	34	30	35

Annexe 4 : activité scientifique

FabLab CONSTANTINE : ce travail a nous a permis de participé a la manifestation scientifique FabLab (laboratoire de fabrication) à Constantine dans le cadre des manifestations révélant les événements du 16 Avril et 6 Mai a l'Université des Frères Mentouri 1.



Cinquième place : journée d'étude pour investissement dans le domaine forestier.

Journée le 13 Mai 2018



Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : **ARZANI karima**
BOUSSIOUD Chérifa

Multiplication de Pleurote sur différentes substrats cellulosique issus de déchets agro-alimentaire à échelle laboratoire

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en
Mycologie et biotechnologie des fongique

La production du mycélium de pleurote a été effectuée sur les milieux PDA, ODA, SDA et MEA .les résultats obtenus montrent que la croissance est meilleure sur les milieux PDA et MEA par rapport aux autres milieux utilisés.

Par ailleurs, la préparation de l'inoculum effectuée sur trois substrats cellulosiques en se basant sur un ensemencement direct et indirecte révèle que la dispersion du mycélium (un tapis blanc) et notamment remarquable et meilleur sur substrat d'orge dans le cas d'ensemencement indirect.

En outre, l'obtention des fruits de pleurote a été meilleure d'un point de vu poids et morphologie du carpophore ; sur les déchets de paille en comparaison avec les autre déchets choisis dans cette étude : le marc de café, coque d'arachide, coque de tournesol.

Les différentes méthodes de conservations à savoir, l'huile d'olive, l'acidité et le séchage ont limite le développement de contamination.

Mots clés : *Pleurotus ostreatus*, substrats cellulosiques, déchets agro-alimentaires, PDA

Laboratoire de recherche : laboratoire de mycologie, de biotechnologie et l'activité microbienne

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. Arabet D. (MCB. UFM 1Constantine).

Rapporteur : Mr. DEHIMAT L. (Pr. UFM 1Constantine).

Examineur : Dr. ALMI H (MCB. UFM 1Constantine).

Date de soutenance : 24/06/2018

