

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Badji Mokhtar
Annaba



جامعة باجي مختار
عنابة

Département de

biochimie

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme
de Magister en Microbiologie*

Option : Microbiologie de l'environnement

Thème

Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité

par : M^{lle}. KACHOUR Leïla

devant les jurys

Promoteur : Dr. Kirane D. M.C.

président : Dr. Benouareth D. Ed. M.C.

examineur : Dr. Chetibi H. M.C.

examineur : Dr. Merad T. M.C.

Invité : Dr. Soumati B. C.C.

Année universitaire : 2004/2005

INTRODUCTION

Le manque de connaissance des caractéristiques physiologiques et des diverses productions des champignons microscopiques, avait été la raison pour laquelle ces microorganismes fortement actifs dans la nature, sont longtemps restés négligés dans les études biologiques, avant qu'ils ne s'y imposent, au cours de ces dernières décennies, par l'éclaircissement de leurs larges utilités en plusieurs domaines de biotechnologie.

Enzymes, acides organiques et alcools industriels, représentent les principaux produits élaborés par les mycètes en phase de croissance ; ils sont très utilisés en chimie industrielle et surtout en alimentaire (transformations, fermentation, aromatisation, etc) [13], [14], [56], [64].

Depuis leurs découvertes, les métabolites secondaires dont les vitamines (à savoir la riboflavine), les hormones (telles que gibbérellines, auxines, cytokinines, γ -hydroxy progesterone) et les antibiotiques (principalement les antifongiques tels la griséofulvine et les β -lactamines dont les pénicillines) ont apporté d'énormes sauts à la médecine et à l'industrie pharmaceutique [31], [38], [46], [64].

La nuisance des microchampignons apparaît à travers une fraction de leur production secondaire, à l'origine de dégâts mortels affectant de nombreux organismes vivants par diverses voies ; il s'agit des mycotoxines incluant entre autres, les aflatoxines les alcaloïdes, les trichothécènes, les fumonisines, les ochratoxines et la patuline [3].

Les micromycètes servent à l'heure actuelle de matériel biologique d'un intérêt primordial dans les laboratoires de recherche, destinés à la compréhension de nombreux phénomènes physiologiques ou de biologie moléculaire.

En raison de leur propriété de décomposeurs, assurée par des réactions biochimiques faisant appel à des enzymes extra et intracellulaires, les micromycètes sont intégrés également dans les processus de l'épuration biologique par élimination de la matière polluante à la surface des écosystèmes naturels dont les eaux douces stagnantes ou peu agitées. Celles-ci représentent une ressource en eau, la plus importante dans le Parc National d'El-Kala (PNEK) de l'extrême Nord-est Algérien, appartenant au complexe des zones humides de la Numidie orientale.

Le lac Oubeira, un élément principal de cet éco-complexe d'hydrosystèmes, reconnu de valeurs écologiques et socio-économiques considérables à l'échelle mondiale, a été déclaré comme réserve naturelle d'importance internationale, protégée par la convention de Ramsar (Iran), le 4 Novembre 1983. Le lac représente l'arbi d'une très riche collection d'être vivants et est destiné à de nombreuses utilisation anthropiques assurant les différents besoins de la société qui ne cesse d'évoluer à son voisinage.

En conséquence des effets indésirables dont la pollution d'origine urbaine, agricole et pétrolière, entraînent progressivement la zone vers une situation de plus en plus incontrôlable, menaçant sa biodiversité distinguée et la conduisent à la perte d'un grand nombre de formes de vie. Ceci continue à affaiblir la richesse biologique de la zone et par conséquent à dégrader sa valeur au niveau international (Boumezbeur, 2001).

A l'égard de ce danger prévu, des démarches de recherche scientifique sont en plein essor afin d'accomplir l'image qualitative et quantitative de la diversité biologique qui sert d'outil de base constituant la plateforme pour la mise en évidence des valeurs réelles de ce site. Les données physiques et écologiques que traduisent, entre autres, les bilans généraux, les inventaires de faune et de flore et les atlas des zones humides, conduisent à la mise en œuvre de plans de gestion durable ambitionnant la sauvegarde de cette fortune rare. Des efforts entrepris par les autorités nationales concernées (Direction Générale des Forêts, Ministère des Ressources en Eau, Chercheurs Scientifique et autres) soutenues, encouragées et même financées par l'union européenne et le fond mondial pour la nature, restent néanmoins insuffisants.

Nous avons pris l'initiative d'établir un inventaire de la microflore fongique filamenteuse suite à l'identification des moisissures isolées à partir d'un échantillon d'eau prélevé à proximité de l'un et le plus important des quatre points de rejet d'eaux résiduaires urbaines, au niveau de l'écluse de l'Oued El Messida.

« Un caïd mariait son fils. Il organisa une fantasia à l'emplacement du lac Oubeira, qui alors était à sec; il y avait seulement un puits où les femmes venaient puiser l'eau. Avant que les cavaliers ne viennent, un groupe de femmes remplissent leurs jarres.

Lorsque les cavaliers parurent, elles se donnèrent un mot d'ordre fixant à la dernière la tâche de fermer le puits. Celle-ci oubliâ, les cavaliers commencèrent leur fantasia. L'eau déborda, recouvrit le sol, le noya. Ce fut l'origine du lac Oubeira. Depuis, dit la légende on n'a jamais pu l'assécher ».

Ancienne légende rapportée par F. Caremoli [20].

Valeurs du site d'étude

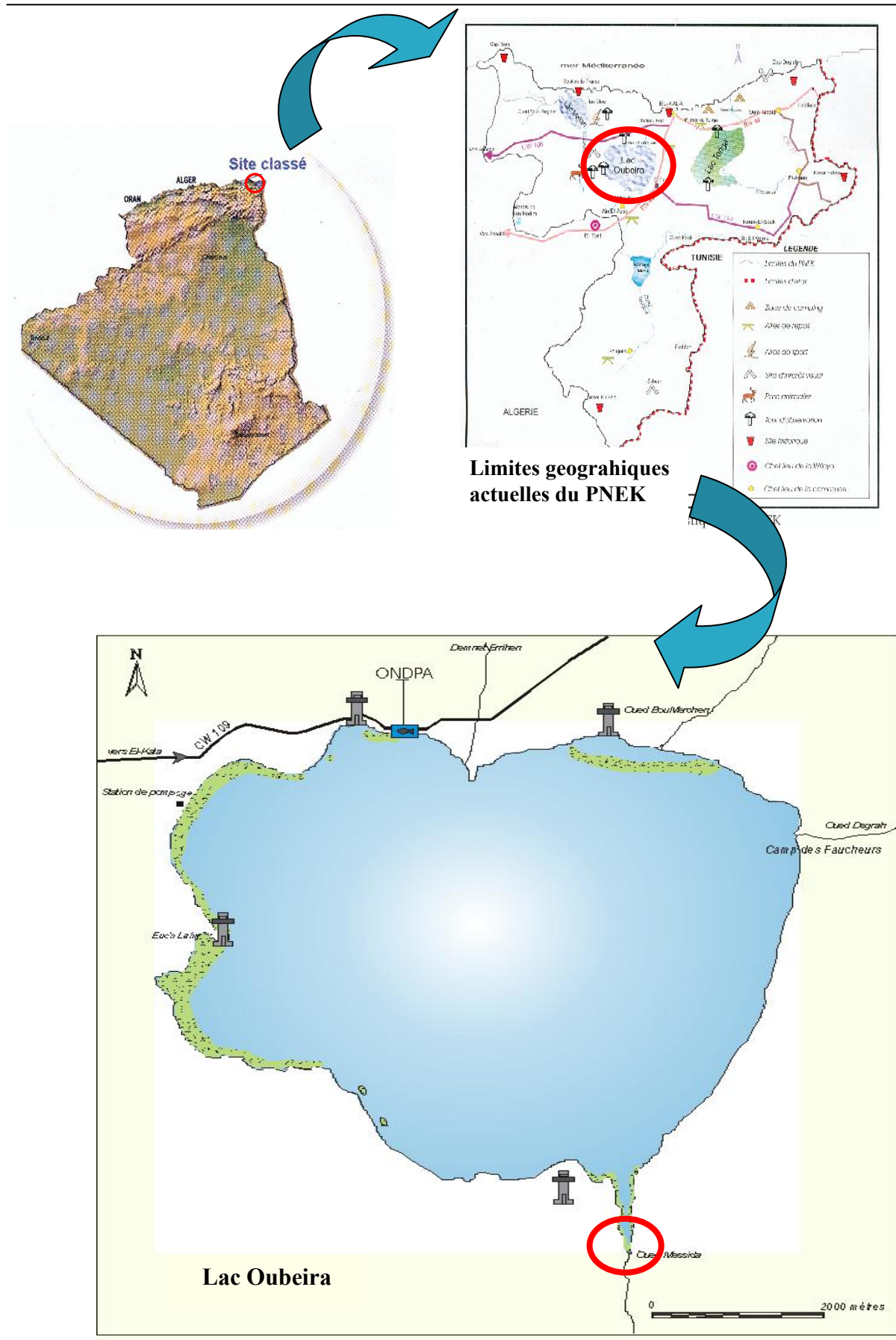


Fig. 1.1. : carte géographique représentant la localisation du site d'étude [PNEK].

Introduction

Le lac Oubeira présente, avec l'ensemble du complexe lacustre du PNEK, des valeurs écologiques et des richesses naturelles considérables (photo1.1.), à l'échelle mondiale, résultats de sa grande fertilité, son énorme biodiversité et les fonctions multiples qu'il offre à la région, non seulement sur les plans scientifiques et touristiques, mais aussi du côté socio-économique.

1. Descriptif géomorphologique du lac Oubeira

Le lac Oubeira est un écosystème, appartenant à l'étage bioclimatique sub-humide chaud. C'est un plan d'eau douce, situé à 8° 33' Est de longitude et à 36° 55' Nord de latitude, à distance de 5km à vol d'oiseau de la mer méditerranée ; ses altitudes vont de 0 à 25m par rapport au niveau de surface de celle-ci [19], [21] .

Le bassin versant couvre une superficie de 9800 ha, dont 2200 ha pour la cuvette seule ; cette dernière présente une forme presque circulaire (figure1.1.), à une profondeur de 1,5 m en moyenne, variant entre 2 et 3 m à la fin d'hiver. Le fond du lac, de forme plane, est constitué d'un substratum de sable recouvert d'une couche de vase occupant environ 30 Hm³ et à environ 0,5 m d'épaisseur.

Géographiquement, le lac est bordé :

- au nord par des forêts de chêne liège où l'on marque l'implantation du siège de l'office nationale des pêches et aquaculture (O.N.D.P.A) ;
- un terrain de parcours le délimite par l'Est ;
- l'Oued El-Messida traversant un terrain agricole très actif par le Sud-est ;
- du côté Ouest, le lac est bordé par un terrain nu ;
- au Sud- Ouest on marque les forêts d'aulne et de frêne (données du PNEK).

2. Caractéristiques hydrologiques

Le régime hydrologique est en forte corrélation avec les conditions climatologiques, incluant les précipitations irrégulières caractéristiques de la zone, qui subit des écoulements naturels d'eau douce de 31 Hm³ (rapport de l'hydraulique, 1996) à 40 Hm³ par an (rapport du PNEK, 1997).

La pluviométrie moyenne varie entre 500 et 1000 mm par an [28].

A la saison de précipitation, le lac est essentiellement alimenté, d'une part des ruissellements provenant des monts et des collines alluviales du versant et, des effluents de l'Oued El-Kebir sur la partie Sud est [6], [19] ; à partir d'un niveau d'eau $\geq 4\text{m}$, l'afflux prend sa direction de l'Oued El-Kebir vers le lac par l'intermédiaire d'une tranchée de connexion de l'Oued El-Messida. Le volume d'eau atteint 33 hm^3 en fin d'hiver (Messrer, 1999).

A cette période le versant de l'Oued El-Kebir s'intègre à celui du lac et couvrent ensemble une superficie de 11500 ha.

Le réseau hydrique comporte également, selon les données collectées du service technique de l'APC et du service hydraulique de la commune d'El Kala, 4 points de rejet d'eaux résiduaires urbaines :

Rejet vers le bassin de décantation n° 1

Ce premier bassin est situé à 650 mL de la gare routière d'El Kala, sur la route nationale 44 (vers El Tarf).

Une partie considérable de l'agglomération des crêtes - en extension continue - est liée à un collecteur principal de 550 mL.

Le même collecteur regroupe aussi la cité Fernana avec son extension de la gare routière à 650 mL ; le siège du PNEK vient de rejoindre ses sources d'eaux usées urbaines depuis 2003.

Rejet vers le bassin de décantation n° 2

Sur la route cw. 109 (vers Annaba), sur la côte gauche.

Ce bassin est lié à un collecteur principal d'eaux usées du lotissement Djeffel-Torki Sud, à une distance de 150mL et une partie du lotissement Gélas III à 170mL.

Rejet vers le bassin de décantation n° 3

Le troisième bassin se trouve sur la cw. 109 (vers Annaba) sur la droite. Le collecteur principal d'eaux usées est de 380 mL provenant des lotissements Gélas I et II.

Rejet vers le bassin de décantation n° 4

Du côté de la commune de Ain El-Assel, le village de mechta Abdelkader est connecté à un bassin de décantation implanté au rivage du lac à quelques dizaines de mètres de l'écluse de l'Oued El-Messida (photo1.2.), que traverse la conduite d'eaux usées déclarée rompue depuis 1997, cette dernière est actuellement à l'origine d'apport permanent d'eaux usées urbaines dans le lac sans épuration primaire préalable.

En période d'assèchement, le niveau d'eau du point de connexion entre de lac et l'Oued El-Messida diminue et par conséquent, le sens de l'écoulement d'eau est inversé vers l'Oued El-Kebir diminuant ainsi le niveau d'eau du lac [6].

Des facteurs géophysiques tels que la percolation et l'évaporation poussent fortement les pertes hydriques.

L'homme contribue à son tour par la surexploitation de l'eau pour les besoins d'irrigation, qui constituent, entre autres, un point considérable de fuite. Le volume d'eau peut diminuer, en été, jusqu'à 22 hm³ avec une profondeur d'environ 0,96m (Messrer, 1999).

- Des zones éparses, à savoir Demnet-Rihana, Dai-Graâ et une partie de VSA El-Gantara-El-Hamra, présentent des rejets individuels non contrôlés, marquant l'absence de conduites.



Photo1.1.: Vue horizontale du lac Oubeira [PNEK].



Photo 1.2. : Site de prélèvement, au niveau du pont vanne près de l'écluse de l'Oued El Messida (photographie personnelle ; Août 2004).

3. Diversité biologique

Compte tenu de la collection énorme d'espèces végétales et animales, dont une grande partie renferme les espèces rares rencontrées uniquement au niveau du parc national d'El Kala, des travaux approfondis et des études écologiques intensives ont été focalisés sur l'importante opulence biologique de la région, seule une partie moindre a pu être recensée dans les inventaires de faune et de flore établis par plusieurs chercheurs, à savoir l'équipe du laboratoire de recherche des zones humides de l'université de Annaba. Le PNEK de son côté propose des projets concernant le plan de gestion écologique des zones humides de la région.

3.1 La faune

le lac Oubeira constitue l'habitat d'espèces animales d'immense valeur : des colonies variées d'oiseaux migrateurs et hivernants s'installant ne serait ce que temporairement dans le versant pour bénéficier des ressources alimentaires riches du versant, des poissons d'eau douce, les batraciens ainsi que de nombreux groupes de la faune inférieure.

La faune recensée dans les inventaires [19], [21] est résumée dans le tableau 1.

reste insuffisante et ne représente qu'une fraction de véritable richesse biologique du site.

Tab. 1 : représentation des principaux groupes constituant la faune du lac Oubeira

	Principaux groupes	Exemple de genres
Faune supérieure	Poissons autochtones	Barbeau ; Anguille ; Mulet
	Poissons allochtones	carpe commune ; carpe argentée ; carpe grande-bouche.
	Oiseaux hivernants	Foulque ; canard ; Fuligule ; Erismature ; Oie cendrée.
	Oiseaux nicheurs	Busard des roseaux ; Heron ; Butor étolé, Canard colvert ; Role d'eau ; Poule d'eau
	Mammifères	Musaraigne musette; Rat rayé de barbarie.
	Amphibiens	crapaud vert; Crapaud de mauritanie ; Grenouille rieuse.
	Reptiles	Tortue lepreuse; Tortue mauresque; Lezard.
Faune inférieure	Odonates (libellules)	<i>Calopteryx, sympecma, Lestes, Ishnura, Anax, Orthetrum, Diplacodes, Urothemis.</i>
	Coléoptères.	<i>Carabus, Leitus, Liagona, Lcarites, Brachinus</i>
	Dipteres (syrphides)	Chenilles, pollinisateurs, saprophages, phytophages.
	Lépidoptères	Papillons.

3.2. La végétation aquatique émergente

Le lit de l'Oued El-Messida est caractérisé par une organisation typique de végétation, sa grande superficie est encombrée d'herbiers flottants, d'hydrophytes couvrant le plan d'eau en parties.

Cette végétation constitue une source nutritionnelle et un élément important dans la protection du lac et le maintien de son équilibre biologique.

On cite les espèces suivantes à titre d'exemple [20], [21], [44] :

- *scirpus maritimus*, scirpe (photo 1.6.) ;
- *Phragmites australis*, Roseaux (photo 1.3.);
- *Typha latifolia*;
- *Typha angustifolia*; } Massettes (photo 1.4.) ;
- *Myriophyllum spicatum* ;
- *Ceratophyllum demersum* ;
- *Nymphaea alba*, Nénuphar (espèce rare), (photo 1.5.).
- *Paspalum paspalodes*, chiendent d'eau (photo 1.7.).



**photo 1.3. : roseaux ou phragmites
du lac Oubeira**
(photographie personnelle, Août 2004)



**photo 1.4. : scirpes (massettes)
du lac Oubeira**
(photographie personnelle, Août 2004)



**photo 1.5. : Nénuphar jaune, espèce rare
du lac Oubeira**
(photographie personnelle, Août 2004)



**photo 1.6. : Scirpes
du lac Oubeira**
(photographie personnelle, Août 2004)



**photo 1.7. : Chiendent
du lac Oubeira**
(photographie personnelle, Août 2004)

4. Principales fonctions du lac

photo 1.8 : Intérêt du site d'étude
(photographie personnelle, Août 2004) :

Station écologique du lac
Oubeira
Projet de gestion entretenu par
l'association de protection de
l'environnement de la wilaya
d'El Tarf.
Objectifs pédagogiques et
scientifiques.
Subventionné par l'Union
Européenne



4.1 Rétention des sédiments et des produits toxiques

Les précipitations, les ruissellements superficiels et le dévasement d'eaux usées résiduelles dans le lac sont entre autres, à l'origine de son alimentation hydrique, charriant toutes sortes de matières dissoutes ou en suspension et dont une partie importante rentre dans le cycle naturel de synthèse / dégradation biologique ou par des réactions chimiques abiotiques [28].

Les roseaux et les scirpes sont des exemples de la végétation aquatique émergente, à laquelle est attribué un rôle primordial de brise-vent, ceci assure une stagnation du lac et permet au flux d'eau chargée en MES de subir un traitement mécanique par décantation. Les sédiments contribuent à la restitution du substratum formant au fond du lac, un écosystème spécifique pour les formes de vie anaérobie [28], [59].

Ils présentent également un intérêt dans la compensation de la perte des terres par évaporation, tant que dans le maintien de la fertilité et la structure des rivages.

Des traces de fer, de manganèse, du phosphore et du soufre, sont présentes sous le nom de micropolluants, dont le stockage se fait en partie par adsorption aux particules décantées, pour se retrouver dans les sédiments. Leur remobilisation dans l'hydrosystème est réalisée par action des microorganismes spécifiques qui puissent les formes oxydées

(oxy-hydroxydes de fer, de manganèse, carbonate de calcium ou sulfures...) assurant leur nutrition [28].

4.2 Contrôle des crues et préventions des inondations

Grâce à sa propriété naturelle de stockage hydrique, le site joue un rôle protecteur contre les inondations, à proximité des agglomérations urbaines installées aux rivages. Il est de sorte que le lac emmagasine l'eau lors de l'alimentation de l'Oued par les fortes précipitations saisonnières ou accidentelles. Ce phénomène rend inutile, la construction de réservoirs ou de barrages, faisant appel à des financements exorbitants [28], [59].

4.3 Réapprovisionnement et protection de l'aquifère

La percolation de l'eau à travers les strates supérieures du sol, permet de retenir la matière polluante comprenant macromolécules, éléments toxiques et microorganismes, pour ne citer que quelques uns. La couche aquifère est limitée par la roche mère imperméable et permet de restaurer ainsi, l'eau en souterraine réserve ; elle est stockée comme source d'irrigation et d'autres activités humaines.

Sur le village de Bouhchicha, au voisinage de l'écluse de l'Oued El-Messida, nous avons pu comptabilisé une dizaine de puits alimentés par les nappes phréatiques du lac Oubeïra [28], [59].

4.4 Epuration biologique

L'azote et le phosphore représentent les principaux facteurs limitants de l'eutrophisation, déclenchée par la formation de biomasse microbienne en quantités excessives, ce qui augmente la vitesse du tournage de la roue de la chaîne trophique.

L'élimination rationnelle de l'azote et du phosphore est impérative pour le maintien de l'équilibre écologique de cet écosystème extrêmement fertile. Leur absorption par la végétation aquatique se limite à la rétention temporaire; ils se libèrent à nouveau dans l'hydrosystème dès que la plante est transformée en litière [59].

4.4.1 Elimination de l'azote

La pollution azotée est ubiquiste (fig. 1.2), présentée par la forme dissoute (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) ou en suspension (grosses molécules organiques). L'apport de l'azote fait appel à certains facteurs incluant :

- Structure géomorphologique et taille du bassin versant ;
- Interventions anthropiques de la zone (cultures, élevage, engrais, eaux usées, etc.) ;
- Nutriments biotiques et exsudats abiotiques rencontrés naturellement dans de tels écosystèmes.

L'élimination totale de l'azote organique ou minéral est sous l'indépendance exclusive de processus microbiologiques très sensibles incluant les bactéries et les mycètes comme étant les seuls agents dénitrifiants dans le monde vivant.

Anderson et al. [28] ont estimé une rétention par les végétaux de l'ordre de 50 à 70 Kg N/ha/an, contre 400 à 550Kg N/ha/an, éliminés par dénitrification microbienne.

Le phénomène de dénitrification conduit à la transformation des nitrates (NO_3^-) en azote particulaire (N_2) rejoignant l'atmosphère à l'état gazeux et diminuant ainsi la charge du système aquatique en cet élément [28], [33], [43].

4.4.2 Elimination du phosphore

Le phosphore total est peu abondant dans toute la biosphère, sa plus grande partie a pour origine la phase solide des sédiments et les roches.

Il est « biodisponible » sous forme minérale (phosphates: H_2PO_4 , PO_4^{-2} , PO_4^{-3}), pour le déroulement de tout cycle biogéochimique (fig.1.3.) en raison de sa présence dans les molécules essentielles dans les processus vitaux majeurs tels la respiration (DPN), les transferts énergétiques (ATP) ou la reproduction (ADN).

D'ailleurs d'autres formes particulières ou organiques ne sont jamais utilisées par les organismes vivants, ceci remplace la porte de sortie de cet élément étant donné que le phosphore ne peut, contrairement à l'azote, être exclus vers l'atmosphère sous forme gazeuse [28].

5. Activités anthropiques dans le bassin versant

La fertilité des plaines alluviales, la facilité du transport et la disponibilité des eaux d'irrigation sont à l'origine des activités agricoles dans la région de Bouhchicha.

Bien que menacées par les crues saisonnières, les zones du rivage sont exploitées de manière relativement intense durant la saison sèche qui peut se prolonger jusqu'à 5 mois de l'année (à partir du mois de Mai au mois d'Octobre) [20].

- Les cultures maraîchères renferment essentiellement les arachides et de nombreux genres de légumes domestiques (concombres, poivres, tomates, agrumes et d'autres).

- Ovinés et bovidés paissent traditionnellement dans les marais asséchés jouissant d'une production abondante en Gaminés et en Papilionacées.

Le pâturage est menacé en hiver par l'extension de la phase aquatique sur les plaines alluviales, les animaux reculent par conséquent vers les collines et les monts du versant à la recherche de leur nutrition.

- D'autres activités telles que la chasse et la pêche constituent une porte de fuite pour la faune du site, sous le prétexte de l'atteinte de cette richesse marquant la zone.

Bien que les eaux résiduaires urbaines représentent une porte d'entrée d'eau et de certains aliments, leur déversement à l'état brut (sans prétraitement) est à l'origine d'une pollution fécale affectant directement la santé publique [28], [54], [59].

Ce danger ne cesse d'essorer au fur et à mesure de l'extension urbaine que connaît le bassin versant du lac Oubeira.

- Une évidente pollution pétrolière provenant de la station Naphtal et de lavage automobile, située au village Boutella-Abdallah (ex: El-Frêne), vient de déclencher un signal d'alarme via l'éventuel massacre menaçant la biodiversité de l'écosystème ainsi que les activités agricoles.

Notre responsabilité est collective, concernant chercheurs, citoyens, commerçants et autres, pour limiter le danger, préserver un site très important pour la recherche scientifique et le tourisme vert qui ne cesse de séduire et d'attirer un très grand nombre de visiteurs, et contribuer autant à la présentation d'une image de marque du pays à l'échelle internationale.

”Les champignons ont, pendant longtemps, été les parents pauvres de l’écologie, au point d’être totalement absents dans les schémas montrant le fonctionnement général des écosystèmes.

Aujourd’hui, ils deviennent l’objet de recherches de plus en plus nombreuses au fur et à mesure que l’on découvre leur importance dans les écosystèmes, mais beaucoup de choses restent à faire”.

Introduction

En se basant sur les caractères trophiques, physiologiques et moléculaires et, par des méthodes ultrastructurales et génétiques, le courant actuel mené par Whittaker (1969), Gouy (1989), Nikoh (1994) et d'autres chercheurs [14], avait adopté la nouvelle classification des champignons, au carrefour de l'arbre phylogénétique (figure 2.1.), récemment distingués des « *Schizomycètes* », des « *Phycophytes* », et surtout du règne des « *Plantae* » desquels ils se singularisent par des particularités structurales et physiologiques tant que leurs cycles de vie et de reproduction [14], [26], [46].



Fig. 2.1. [26] : Place des champignons dans la subdivision des 5 règnes du monde vivant d'après diverses hypothèses phylogéniques récentes.

Les organismes classiquement étudiés par les mycologues (groupes soulignés) se représentent en fonction de leurs origines entre trois règnes différents.

1. Définition

Leur récolte dans les champs (du latin, *campaniolus*) aurait été la source d'inspiration pour la nomination de *champignons* ; appelés aussi *fungi*, pluriel de *fungus*, un mot latin contracté de deux mots :

Funus, signifiant funérailles, cérémonies d'un enterrement,

et

ago, produire ;

Ceci rappelle les décès dus aux champignons toxiques à l'époque romaine. Il est probable que le mot *fungus* soit dérivé du grec *spongos*, aspect spongieux ou poreux des champignons [14].

Ils sont rencontrés également sous le nom de mycètes (du grec *Mukês*, champignon). La mycologie (du grec *Mukês* et *logos*, discours) est une filière de la biologie, spécialisée dans l'étude des champignons, leur nutrition, leur croissance, leur reproduction ainsi que d'autres caractères physiologiques et morphologiques [14], [37].

Ces organismes *eucaryotes* font partie du groupe des protistes en raison de leur structure imparfaite. L'absence de fleurs apparentes les classe parmi les *Cryptogames* (étymologiquement veut dire : noces cachées). Ils ne présentent pas d'organes végétatifs distingués : pas de tiges, ni feuilles, ni racines ; leur structure se limite à un thalle ou mycélium, ce sont donc des *Thallophytes* (fig. 2.2.). A la différence des *Gymnomycota* (du grec *gymnos*, nu) dépourvus de paroi, appelés aussi champignons animaux et, des *Mastogomycota* (du grec, *mastix*, fouet) à cellules nageuses flagellées [14], L'embranchement des *Amastigomycota* est le seul à répondre à tous les critères actuels de définition des champignons. Ils sont appelés « champignons vrais » ou *Eumycètes* (fig.2.2.). Les eumycètes constituent un groupe d'organismes vaguement hétérogène via la structure, la complexité et les dimensions, dont environ 1 million d'espèces fongiques ont été mises en évidence, depuis l'espèce levure (unicellulaire) *Saccharomyces cerevisiae*, de 5 à 10 μm de diamètre, arrivant aux micromycètes filamenteux, à savoir l'espèce moisissure *Aspergillus niger* possédant une tête sporifère pouvant arriver à 800 μm , tandis que chez les macromycètes, la taille du carpophore peut atteindre ou même dépasser les 30 cm. Comme chez *Lactarius torminosus* des *Russilacées*. « Un *Armillaria bulbosa* s'étendait sur 15 ha, pesait 100 tonnes et avait plus de 1500 ans » [26].

L'homogénéité des individus de ce groupe se présente sur le plan trophique ou « Mode de vie » : ce sont des organismes **chimiohétérotrophes** dont la nutrition est basée le plus souvent sur la décomposition de la matière organique morte ou ce qu'on appelle « Saprophytisme ». Ils comportent, à côté des bactéries, les agents les plus **détritivores** dans le monde vivant, intervenant ainsi de manière très efficace dans le cycle de la matière.

Ce chapitre sera limité à l'étude des micromycètes filamenteux où les moisissures en feront le seul objet.

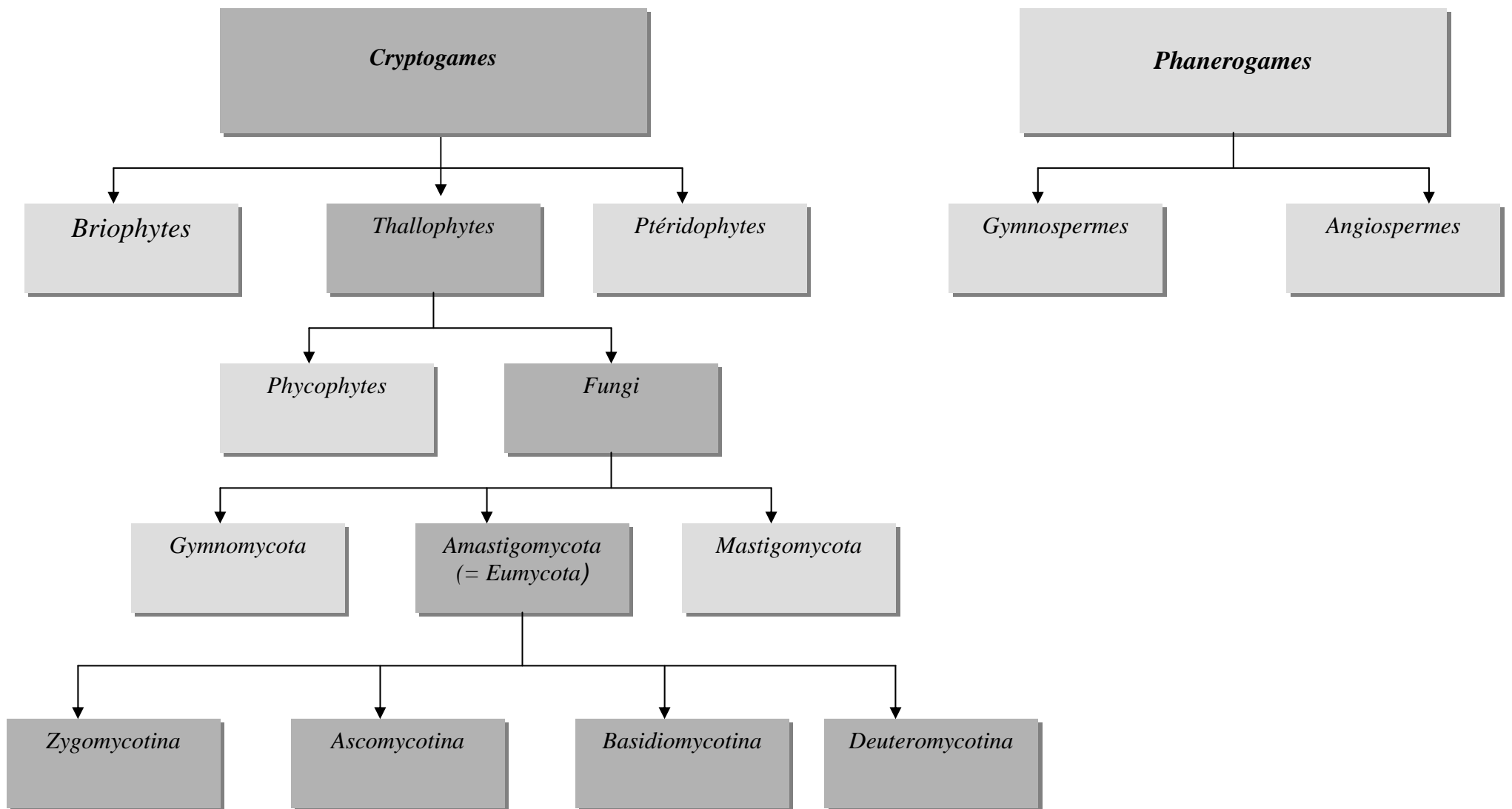


Fig.2.2. [13], [14], [64] :. Classification botanique des champignons

2. Morphologie

La structure végétative des moisissures est caractérisée par une filamentation emmêlée, pseudotissulaire, en l'absence d'organisation cellulaire parfaite présente chez les organismes eucaryotes supérieurs.

A maturité les organes de reproduction sexuée et/ou asexuée se différencient sur les filaments végétatifs.

2.1 Le thalle

En l'absence de structure tissulaire vraie, les moisissures sont constituées d'un ensemble de filaments qui se développent par extension, se ramifient et s'entremêlent pour former un plectanyme appelé **thalle**, dont la densité et la texture, aussi bien que la vitesse de croissance, sont logiquement en forte corrélation avec l'intensité et la composition de la matière nutritionnelle, à côté d'autres facteurs physicochimiques et ecophysiologiques de développement, tels que température de croissance, pH du milieu, humidité et lumière. Une portion quelconque du thalle est appelée **mycélium** [14], [37], [46].

Les filaments mycéliens présentent une structure tubulaire ou dite *siphonnée* chez les moisissures inférieures (*Zygomycètes*), tandis que des cloisons transversales rapprochées apparaissent et caractérisent les moisissures supérieures (*Basidiomycètes*, *Ascomycètes* et *Deuteromycètes*).

2.1.1. Mycélium siphonné (Cénocytique)

Le filament cénocytique est plurinucléé (fig. 2.3.a.), c'est à dire que les noyaux nagent dans le cytoplasme qui coule librement à travers le filament à structure tubulaire, dépourvu de cloisons transversales [37].

L'absence de ces cloisons n'est pas absolue, car les siphons présentent quelques rares cloisons ou septa tardifs, sans orifices de communication séparant le mycélium juvénile de la partie vieille ou en dégénérescence ; les septa interviendraient également dans la prévention contre la fuite du cytoplasme au cas de blessure.

Les siphons des zygomycètes sont d'un large diamètre (de 5- 20 μm) à paroi relativement épaisse, avec des ramifications abondantes à angle droit [14].

2.1.2. Mycélium articulé (septé)

Les cloisons, de même composition chimique que la paroi, apparaissent quelques heures après la formation des hyphes; elles sont pourvues d'un ou plusieurs pores appelés *synapses* ou orifices de communication, assurant l'alimentation et l'échange cytoplasmique entre les compartiments (fig. 2.3.b.)

La partie morte du mycélium est séparée de celle plus récente par obturation des pores avec des bouchons de *glucanes* formés tardivement.

Les moisissures supérieures (*Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et *Deutermomycètes*) sont des *hyphomycètes*, dont les filaments ne dépassent généralement pas 10 µm de diamètre, la paroi étant mince, constituée d'une seule couche de micro fibrilles de chitine.

Le cloisonnement des hyphes est indépendant de la mitose, chaque compartiment contient donc un noyau ou plus.

Les champignons ne marquent pas une organisation cytologique parfaite qu'on trouve chez les eucaryotes supérieurs (animaux et végétaux).

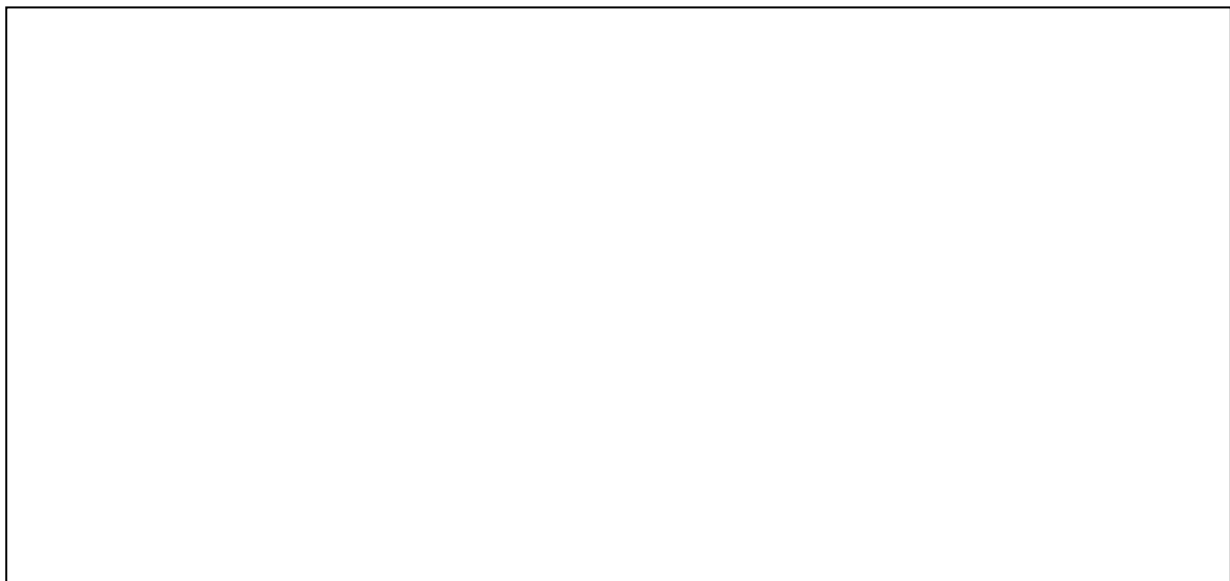


Fig. 2.3. : Représentation schématique des deux types de thalles

- a) Siphon des mycètes inférieurs ; b) Hyphe des mycètes supérieurs ;
- c) Structure détaillée d'un septum.

2.2 La cellule

La cytologie des mycètes est caractéristique des eucaryotes inférieurs

2.2.1. Cytoplasme

Se subdivise en trois zones différentes (Fig. 2.4.) :

- **Zone apicale** : dépourvue de noyau, très riche en nappes réticulaires dérivées de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique. Les nappes réticulaires jouent un rôle identique à celui des dictyosomes, des eucaryotes supérieurs.
- **Zone subapicale** : riche en noyaux, mitochondries, ribosomes et réticulum endoplasmique, au niveau duquel sont produites des enzymes nécessaires à la croissance apicale caractéristique des mycètes filamenteux.
- **Zone de vacuolisation** : les vacuoles servent à équilibrer l'organisme fongique quelque soit la densité du milieu colonisé (forte pression osmotique).

2.2.2. Un endosquelette d'actine

Permet l'écoulement des organites et des nutriments, se fait à partir des zones en dégénérescence vers les zones juvéniles (en pleine croissance).

2.2.3. Les éléments nutritionnels de réserve

Sont sous forme de gouttelettes lipidiques (oléosomes ou liposomes), d'autres, de nature glucidique, forment des rosettes de glycogène [14].

2.2.4. Le génome

Diploïde (~ 107 paires de bases) étant inclus dans un noyau parfait, à l'intérieur d'une enveloppe nucléaire ; des molécules d'ADN circulaire comparables aux plasmides bactériens nagent dans le cytoplasme, elles codent essentiellement pour les métabolites secondaires.

2.2.5. La membrane plasmique

contient 45 à 50% de protéines membranaires et 31 à 43% de lipides, surtout :

Des phospholipides : phosphatidylcholine (40–50%), phosphatidyléthanolamine (15–30%) phosphatidylsérine et phosphatidyinositol (40–50%).

Des stérols : spécifiques des eucaryotes ; les ergostérols sont propres aux champignons.

2.2.6. La paroi

protégeant et enveloppant les cellules fongiques, elle est de texture micro fibrillaire constituée de deux types de polymères assurant sa rigidité : (tab. 2).

Fig.2.4. : Coupe longitudinale à différents points d'un filament de mycète [64]

a) les polymères fibreux

Forment la couche interne de la paroi dite chitono-glucanique ; elle est généralement composé de :

a. **Chitine** :

un polymère résistant mais flexible, analogue à la cellulose, portant un groupement N-acétylglucosamine. Les unités de glucoses étant reliées en β (1– 4), sans ramifications de la chaîne. La présence de l’azote dans le squelette des champignons est due à leur mode de nutrition, hétérotrophique.

b. **Glucanes** :

des unités de glucose reliées en β (1 - 4) avec des ramifications en β (1 - 3) [37].

c. **Chitosane** :

un polymère dérivé de la chitine, dépourvu du groupement acétyle; rencontré chez les *zygomycètes* (14).

Les polymères gélifiés

Constituent la couche amorphe mucilagineuse, composée de glycoprotéines ; ce sont des mannanes – des chaînes de glucose reliées en α (1-6) avec des ramifications en α (1-2) et α (1-3)– associés à des protéines pour former des **mannoprotéines** jouant un rôle très important dans l’antigénicité du champignon.

Le tableau ci-dessous, représente une comparaison générale entre les principales classes d’eumycètes sur le plan de la composition biochimique de la paroi.

Tab. 2. : Polymères majeurs constituant les parois des moisissures [37]

<i>Embranchement</i>	<i>Polymères fibreux</i>	<i>Polymères gélifiés</i>
<i>Basidiomycètes</i>	<i>Chitine</i> β (1-3), β (1-6) - <i>Glucane</i>	Xylomannoprotéines α (1-3) - Glucane
<i>Ascomycètes</i>	<i>Chitine</i> β (1-3), β (1-6) - <i>Glucane</i>	Galactomannoprotéines α (1-3) – Glucane
<i>Zygomycètes</i>	<i>Chitine</i> <i>Chitosane</i>	Acide polyglucuronique Galactomannoprotéines Plyphosphate

3. Physiologie

3.1. Croissance

L'histoire de la croissance mycélienne végétative commence par une spore haploïde (fig. 2.5.a), qui se trouve dans des conditions physiologiques favorables à la germination (fig. 2.5.b, c). La spore constituera le point central émettant des filaments divergents, à extension synchrone (fig. 2.5.d, e), d'où la croissance centrifuge donnant à la colonie son aspect plus ou moins rond.

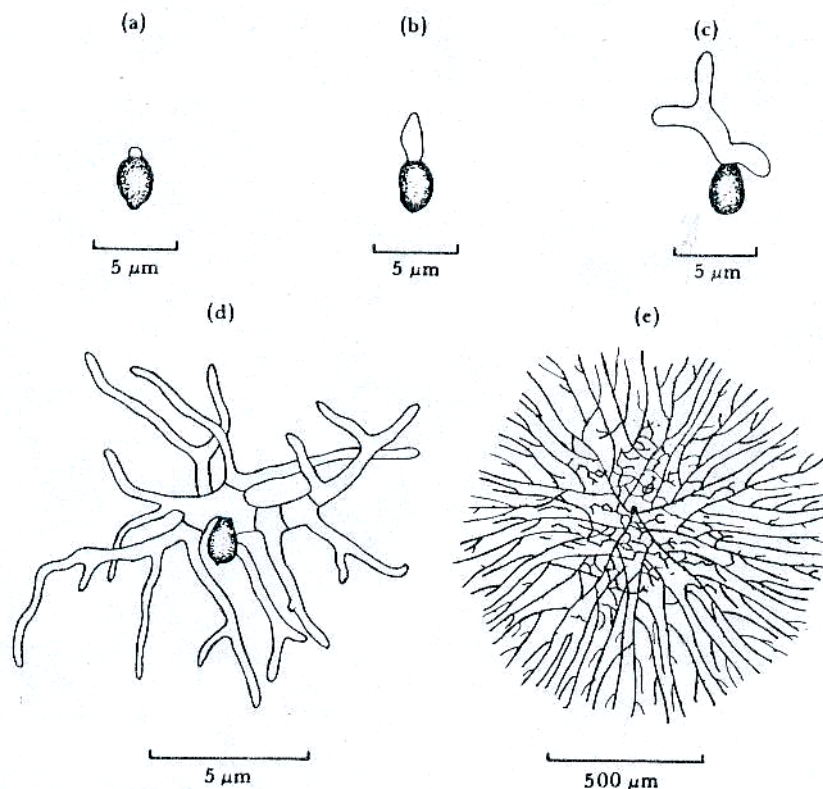


fig. 2.5. : Croissance végétative d'un thalle formant une colonie mycélienne à partir d'une spore asexuée [37].

- a) Germination.
- b) Apparition du bourgeon de l'axe principal.
- c- d) Ramifications.
- e) Colonie ± ronde.

3.1.1. Croissance apicale

Le filament mycélien s'étend au niveau de sa partie juvénile à quelques microns de l'apex présentant une activité généralement assez élevée, étant donné sa richesse en ribosomes et en mitochondries comme agents principaux intervenant dans la synthèse des protéines structurales et des enzymes intervenant dans le métabolisme.

La membrane des nappes réticulaires (fig. 2.4) présente une continuité structurale avec la membrane cytoplasmique et la régénère au niveau de l'apex par le phénomène d'exocytose.

3.1.2. Ramifications

Dans la région sub-apicale, à quelques dizaines, voir quelques centaines de μm , du dôme terminal et, en présence de ressources nutritionnelles plus que suffisantes (saturation des vésicules apicales), apparaissent de nouvelles formations de "rameaux latéraux" issus de l'axe principal ; elles sont appelées ramifications primaires. Les ramifications secondaires continuent à apparaître, selon le même principe, pour donner au thalle sa texture en réseau [14], [64].

3.1.3. Anastomoses

Les filaments du réseau mycélien se développent dans tous les sens et s'entremêlent de façon à ce que deux filaments se trouvent croisés ou adjacents, l'un à l'autre, s'adhèrent en quelque sorte, pour former les points d'interconnexion appelés anastomoses. Ces formes là, sont observées aussi bien chez le mycélium végétatif que lors de la fusion cytoplasmique de deux hyphes de sexes différents, au cours de la reproduction sexuée [14], [29], [64].

3.1.4. Différenciation végétative

Elle dépend, entre autres facteurs, des conditions environnementales et de la nature du mycète. La différenciation est une série de changements régulés que subit le mycélium dans le but d'effectuer une fonction déterminée, sans que cela prenne la voie des tissus supérieurs vrais spécialisés physiologiquement et génétiquement pour achever des activités complexes (élaborations hormonales) [14]. Parmi les formes différenciées on trouve:

a) Stolons

Des formes d'envahissement rencontrées pratiquement chez certaines zygomycètes. Ce sont des ramifications aériennes conduisant à l'extension horizontale du mycélium, à la recherche de nouvelles sources nutritionnelles [14], [37].

b) Rhizoïdes

Des pseudo racines permettant au thalle de se proliférer en profondeur de son substrat pour des raisons toujours trophiques ; les rhizoïdes jouent également le rôle de fixateurs sur les supports solides [38], [64].

c) Sclérotés

Ce sont des organes de résistance permettant la survie du champignon dans les conditions défavorables. La cohésion des hyphes est renforcée par un dépôt de substances

intercellulaires, les hyphes qui se trouvent en contact du milieu extérieur sont protégés contre les rayons UV grâce à leur coloration par des anthocyanes [14].

d) Sporophores

Certains filaments se dressent pour constituer des supports d'organes de fructification [64]. Au 19^{ème} siècle, *Elias Fries*, "le père de la mycologie", considérait les microchampignons comme du pollen ou des poils à un état maladif [26].

e) Rhizomorphes

Certains *Basidiomycètes* croissant dans des masses de bois, forment par assemblage de hyphes parallèles, des cordons mycéliens en forme de racines, leurs apex, groupés à l'extrémité du rhizomorphe, croissent de façon synchrone et pénètrent en profondeur du substrat en combinant la dégradation enzymatique et l'action mécanique [37], [64].

3.2. Nutrition

Dépourvus de pigment assimilateur (en l'absence de plastides), les mycètes sont hétéotrophes du type **chimio-organotrophe** obligatoire, incapables d'assimiler le carbone inorganique et par conséquent, d'auto construire leur biomasse.

Ils **absorbent** les composés organiques solubles et les éléments minéraux par cotransport avec les protons en présence d'une pompe à proton *ATPase* H^+ , K^+ [14] à travers une zone membranaire [14] d'absorption immédiatement adjacente au dôme de l'apex, là où la paroi chitono-glucanique rigide n'est pas encore formée. Outre et, en l'absence de phagocytose, les **macromolécules** subissent d'abord une prédigestion par fragmentation en monomères absorbables, cette réduction est assurée par les exoenzymes dépolymérase synthétisées par la cellule-elle-même- au moment de besoin.

La matière nutritionnelle disponible aux champignons doit répondre à leurs exigences en carbone, en énergie, en azote et en éléments minéraux, à côté des métabolites essentiels tels que les vitamines.

3.2.1. Sources de carbone et d'énergie

Les mono et disaccharides, à savoir, glucose, maltose, saccharose, lactose..., très rarement le mannitol, sont les plus assimilables par absorption en raison de leurs faibles poids moléculaires, le glycérol, les acides gras et d'autres acides organiques dérivés des glucides, tels que l'acide uronique, constituent également des sources très importantes de carbone et

d'énergie. Les acides aminés sont plus rarement dégradés par les mycètes [14], [37], [41], [64].

Les grosses molécules comme la cellulose (cristalline ou amorphe), l'amidon, la lignine et la kératine, sont préalablement dégradées à l'extérieur de la cellule à cause de leur incapacité de pénétrer mécaniquement à travers la paroi, les enzymes extracellulaires sont produites dans la nécessité et restent attachées à la paroi pour éviter la concurrence trophique avec les autres organismes sur les produits de dégradation [14]. Les hydrocarbures et les pesticides sont également dégradables par les mycètes par des efficaces bien que mal connus.

⊖ *Dégradation des hydrocarbures d'origine pétrolière*

Les traitements chimiques n'ont jamais montré d'efficacité vers l'élimination des hydrocarbures aliphatiques, les phénols, les acides naphthéniques et les substances aromatiques dissoutes dans les eaux résiduaires.

C'est aux champignons (à coté des bactéries) que l'on a attribué la responsabilité majeure de dégradation de ces éléments dits xénobiotiques leur servant de sources carboniques et énergétiques.

Des résultats très positifs réalisés par Palaty [14] ont été obtenus sur la décomposition pratiquement totale du pétrole, d'huile Diesel, de Mazout extra-léger, des huiles légères et moyennes pour machines et des huiles de perçage ; d'autres études effectuées sur des doses de 3g/l à 6g/l de phénols (pyrocathèchine, résorcine, hydroquinone, crésols) additionnés à des acides gras à 10g/l (acide acétique, acide propionique, etc.) ont été parvenues.

les genres *Torula*, *Oospora* sont parmi les champignons mis en jeu, à coté d'autres espèces des groupes *Ascomycotina*, *Deuteromycotina*, *Phycomycotina* et d'autres appartenant aux Amastigomycota [26].

3.2.2. Sources d'azote

Les mycètes saprophytes interviennent de manière très efficace dans le recyclage de l'azote inorganique dans la nature. Ce sont des agents de dégradation des composés azotés tels que l'urée et l'hydroxylamine et plus rarement les acides aminés et les nitrates considérés toxiques pour un grand nombre de champignons, l'espèce *Rhizopus Stolonifer* assimile les aminoacides mais semble incapable d'utiliser les nitrates [64].

Les genres *Aspergillus* et *Rhizopus* élaborent, entre autre, des enzymes extracellulaires intervenant dans la dégradation des polypeptides et des macromolécules protéiniques.

Selon Larpent (97), un milieu de culture idéal pour les mycètes doit avoir un *ratio* Carbone/Azote (C/N) égale à 20/1, un déséquilibre léger de ce *ratio* suffit pour déclencher la production de métabolites secondaires (intérêt en biotechnologie) [37].

3.2.3. Nutrition minérale

La détermination de l'intérêt des éléments minéraux dans la composition nutritionnelle des mycètes, apparut à partir des travaux de *Smith* (1949) qui arriva à s'apercevoir que des flacons en verre vidés de milieux de cultures, puis stérilisés par leur réutilisation dans la préparation d'autres milieux, contenaient des **éléments minéraux impurs**, jouant un rôle dans la croissance anormale de *Penicillium* [64].

Comme tout organisme vivant, les mycètes exigent, pour le fonctionnement ordinaire de leur métabolisme, des éléments minéraux indispensables tels que le **Phosphore** (P), le **Soufre** (S), les **Ions de Fer** (Fe), de **Magnésium** (Mg) de **Calcium** (Ca) et de **Potassium** (K), ainsi que les éléments traces comme le **Manganèse** (Mn), **Cuivre** (Cu), **Molybdène** (Mo), **Nickel** (Ni) et le **Zinc** (Zn) [64], [64].

3.2.4. Métabolites essentiels

Principalement, *les vitamines*, dont l'intérêt avait été découvert pour la première fois chez l'espace *Phycomyces blakesleeanus* [64]; cette dernière est capable de synthétiser *la thiamine* (vitamine B1) en présence de pyrimidine et de thiazole, tandis que plusieurs espèces puisent cette vitamine directement du milieu de culture. D'autres vitamines, à savoir *la biotine* (vitamine H), moins intensément *la pyridoxine* (vitamine B6) et très rarement *l'inositol*, *la riboflavine* (produite par l'espèce *Aspergillus flavus*) et *l'acide para-amino-benzoïque*, sont indispensables en quantités très infimes de l'ordre de 10^{-6} % du poids de l'organisme fongique [14], [37], [64].

3.2.5. Bioaccumulation des éléments peu utiles

La présentation d'un milieu Czapek nécessite, par exemple, l'addition du Potassium, ajouté sous forme de chlorure de Potassium (KCl); Le **chlore** n'étant pourtant pas nécessaire à la

croissance fongique, s'absorbe par la plupart des mycètes et s'accumule dans leurs organismes, sans aucun rôle défini [64].

Or, certaines souches utilisent le chlore, lors de la production secondaire. *Penicillium griseofulvum* en puise pour synthétiser un métabolite secondaire antifongique, la *griseofulvine* (C₁₇ H₁₇ O₆ Cl).

3.2.6. Oligotrophie

De nombreux mycètes peuvent bénéficier des produits du métabolisme (résultant de l'assimilation totale du substrat nutritif initial) tels que le méthane, l'acétone et l'amoniac. Ce phénomène dit d'oligotrophie est le plus souvent rencontré dans certaines industries légères.

Dès que le milieu de culture est épuisé en matière nutritionnelle, certains champignons réabsorbent le CO₂ expiré lors du métabolisme sans que cela ait un rapport avec le processus de photosynthèse connu chez les autotrophes. La réutilisation du CO₂ avait été mise en évidence par des réactions de marquage radioactif [64].

3.3. Le rapport nutrition / croissance

La prolifération du mycélium sur le substrat lui étant disposé, assure un maximum de contact entre les filaments et la matière nutritionnelle ; cette dernière constitue un facteur limitant la densité du thalle, du fait qu'elle contrôle la formation des rameaux. Le mycélium néoformé s'éloigne progressivement du centre au niveau duquel les filaments sont à un stade avancé, la surface appauvrie en nutriments peut entraîner le champignon vers l'auto-antagonisme par production de certains métabolites toxiques.

3.4. Autres facteurs influençant la croissance

3.4.1. Température

La croissance mycélienne est remarquablement plus rapide à la saison chaude qu'à la saison froide, ce qui traduirait la préférence des champignons aux

Les souches de *Penicillium* poussent à des températures optimales de 20° à 25° tandis que la majorité des *Aspergilla* préfèrent un optimum d'environ 30° ; *Aspergillus fumigatus* est une espèce thermotolérante dont l'intervalle des températures de croissance va de 25° à 50°.

D'autres, telles que *Chaetomium thermophile* poussent à une température limite de 60° à 62°.

A l'opposé, d'autres sont cultivées à des températures assez basses, au voisinage de 4°.

La multiplication végétative chez certains groupes de mycètes nécessite un climat à 10°, alors que la reproduction sexuée est déclenchée à partir de 30°. Néanmoins, d'autres champignons croissent de manière asexuée à 25°- 28° tandis que la reproduction sexuée a lieu à 6°- 7° [37], [64].

Les spores sont strictement plus thermorésistantes que le mycélium et peuvent échapper à une stérilisation de courte durée ou mal réalisée.

3.4.2. Humidité

Des taux élevés d'humidité (95%) sont indispensables pour le développement fongique [26]. Certaines moisissures peuvent se contenter d'une atmosphère humide pour proliférer sur des substrats peu hydratés ou secs, sans autant s'étendre en profondeur.

C'est à partir des travaux de Scott (1957) que le concept d'activité thermodynamique de l'eau A_w (voir définition en annexes) a été utilisé par les microbiologistes, pour décrire les comportements microbiens vis-à-vis du facteur hydratation. Les micromycètes sont à côté des bactéries, les seuls organismes à tolérer des taux d'hydratation réduits ($A_w < 0,85$) ; pour cela, ils développent une forte pression osmotique intra vacuolaire d'autant plus qu'ils colonisent des milieux organiques à forte densité moléculaire (exemple de pots de confiture) ; cette pression est généralement assurée par des composés organiques qui n'ont pas d'influence sur les réactions enzymatiques du métabolisme, à savoir les sucres- alcool (mannitol) les oses (tréhalose) ou certains aminoacides (proline).

D'un côté, quelques *Eumycètes*, à savoir *Ascomycotina*, *Deuteromycotina* et plus rarement *Basidiomycotina* constituent avec les hyphomycètes la mycoflore aquatique dite **hygrophile** [26]. Certains champignons dits xérophiles résistent évidemment à une sécheresse de longue durée ; les plus connus sont les champignons lichéneux et ceux rencontrés sur les produits de stockage.

3.4.3. Aérobiose

L'oxygène constitue un facteur limitant de la croissance mycélienne de la grande majorité des champignons ; ils exigent une atmosphère oxygénée non exempte de faibles taux de CO₂ [37], [64].

Certains sont microaérotolérants et d'autres strictement anaérobies, à savoir les parasites internes d'organismes végétaux et animaux dont certaines espèces du genre *Mucor* (voir page 39).

3.4.4. Luminosité

La lumière indique au champignon sa position, intérieure ou extérieure, par rapport au substrat. Il est pourtant difficile de mettre au point un modèle fixe qui explique l'influence de la lumière sur la croissance fongique, car il existe des mycètes comme certains *Mucoraceae* ne montrant aucun changement via la présence ou l'absence de la lumière, tandis que d'autres tels que les pyrénomycètes présentent un phototactisme positif en dirigeant leur croissance ou leurs organes de reproduction vers la source de la lumière [26], [37].

En 1959, Williams [64] avait décrit, à travers ses études, l'influence de la lumière sur la conidiogénèse, où il a observé que les spores produites dans des conditions de luminosité alternative étaient de taille plus importante que si elles étaient sous éclairage continu.

le rôle des rayons ultraviolets est principal dans l'augmentation du taux de conidiogénèse, bien que le mycélium exposé plus longtemps à ces rayons peut diminuer sa germination ou même mourir comme chez l'espèce *Verticillium agricinum* [65]. Les rayons ultraviolets sont utilisés dans le but de provoquer des mutations génétiques pour la préparation des mycètes mis en jeu en biotechnologie.

3.4.5. pH

Les champignons tolèrent en général, une gamme de pH allant de 3 à 8; Les valeurs optimales étant comprises entre 5,5 et 7,5 [37], [51] .

Certains champignons appelés acidophiles, supportent des pH inférieurs à 4,5 arrivant jusqu'à pH 2 et constituent une pauvre mycoflore sur la litière fermentée en fortes concentrations d'acides humiques, c'est le cas de l'espèce *Aspergillus niger*. En fait il n'existe pas, contrairement aux bactéries, de vrais basophiles.

4. Modes de vie

La quasi-totalité des mycètes vivent aux dépens de la matière organique en décomposition [14]; ce sont des agents de *recyclage* de la matière minérale dans la nature, connus sous la nomination de « *Saprophytes* ». Dans des conditions particulières, beaucoup de micromycète *parasitent* des organismes végétaux ou animaux ou même d'autres mycètes (c'est le cas de l'espèce *Penicillium rugulosum* qui infecte la tête d'*Aspergillus niger*, en formant dessus, des phialides regroupés en pénicilles et le conduit finalement à la mort). D'autres, cohabitent avec différentes formes de vie dans le contexte du bénéfice réciproque ou ce qu'on appelle « *la symbiose* ».

4.1. Saprophytisme

(Du grec *sapros*, pourriture et *phyton*, plante) [14].

Les champignons répondent particulièrement à leurs besoins nutritionnels en absorbant les éléments organiques, de la matière inerte complexe de leur environnement après l'avoir dégradé en substances organiques simples et en molécules inorganiques. Le carbone, l'azote, le phosphore et d'autres éléments nécessaires se trouvent ainsi libérés et disponibles au profit des organismes, les autotrophes et les lithotrophes en premier.

Le développement des moisissures sur du bois mort ou sur de la matière végétale en décomposition (*l'humus*), est favorisée grâce à leur système enzymatique renfermant des activités *cellulolytiques* et *ligninolytiques*, entre autres, à l'origine de la production *des acides humiques*.

Les mycètes interviennent très activement dans les cycles de l'azote en achevant des réactions métaboliques de dénitrification. Leur activité est plus importante dans les milieux légèrement acides, là où l'on assiste à une inhibition bactérienne.

Leur absorption en composés azotés explique, donc, la présence de l'azote (N) au niveau du squelette fongique.

Il existe une mycoflore commune impropre au substrat, sur les premières couches de fermentation de la litière; les principaux *Hyphomycètes* constituant cette flore fongique sont *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Cladosporium herbarum* et *Botrytis cinerea*, ainsi que les *Mucorales* tels que *Mortierella*, *Mucor*, *Abisidia* et des *Moniliales*, à savoir *Penicillium Trichoderma* et *Verticillium*, entre autres.

La décomposition de la litière crée une chaîne trophique incluant les champignons qui vont cohabiter, collaborer ou même combattre de nombreux organismes tels que les bactéries, les arthropodes, les helminthes, etc [26], [51].

4.2. Parasitisme

(Du grec *par*, à côté ; *sitos*, aliment) [14]

Certains champignons saprophytes seraient passés du saprophytisme au parasitisme occasionnel puis au parasitisme strict et cela, a dû apparaître très anciennement lorsqu'ils auraient trouvé des conditions plus favorables pour leur croissance, chez les organismes vivants.

Le parasitisme des plantes et des animaux par les mycètes est effectué du fait que la taille des filaments de ces derniers est très inférieure à celle de l'hôte parasite. Chez les végétaux, la voie d'entrée peut être le stomate ou par dégradation de la cutine épidermique, soit à travers les blessures.

Les mycoallergies ont pour origine des formes de reproduction végétative, les spores, pouvant également être à l'origine d'un nombre d'infections, respiratoires, cutanées ou autres ; ce pouvoir peut être rencontré chez la plupart des mycètes à dictyospores*.

4.2.1. Parasites obligatoires

Ce sont les mycètes incapables de se développer en dehors de leur hôte, à titre d'exemple l'espèce *Histoplasma capsulatum* devient pathogène dès qu'elle pénètre dans l'organisme humain.

4.2.2. Parasites facultatifs

Ils sont appelés aussi, parasites de faiblesse, à l'origine saprophytes, comme certaines espèces des genres *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* et *Absidia*, exerçant leur action pathogène occasionnellement sur les organismes immunodéprimés.

4.2.3. Néctrotrophes

A la différence des saprophytes simples, les néctrotrophes attaquent l'organisme vivant, déclenchent dessus des effets pathologies mortelles et en puisent tout de suite leurs besoins vitaux ; des espèces de *Fusarium*, de *Verticillium* et de *Botrytis* sont les néctrotrophes les plus répandus.

4.3. Symbiose

(Du grec *sum*, avec, *bio*, vie) [51]

Contrairement à la notion de parasitisme, la symbiose se traduit par l'association d'un champignon à un organisme différent, ils cohabitent dans un équilibre physiologique. Les deux, présentent ensemble, une complémentarité de structure et d'activités.

4.3.1. Lichens

Appelés aussi mycobionte ou phycobionte (*myco*, champignon ; *phyco*, algue ; *biont*, forme de vie).

Schwendener avait décrit la véritable nature de ces organismes dont l'appareil végétatif n'est qu'un réseau de filaments (hyphes du champignon supérieur) donnant asile à l'intérieur des mailles, à des cellules chlorophylliennes (gonidies de l'algue). Le champignon des lichens est souvent un Ascomycète, d'où *Ascolichens* (*pyrenolichens* et *discolichens*) [14].

4.3.2. Les mycorhizes

Ce sont des formes de cohabitation en relation étroite et à intérêt mutuel entre champignons et végétaux supérieurs. Ces derniers étant incapables d'absorber les éléments minéraux en raison de leur faible solubilité dans le sol, ils se sont adaptés à ces conditions en s'associant à des mycètes qui développent un réseau de filament autour des racines (ectomycorhizes) ou dans leurs tissus corticaux (endomycorhizes), leur fournissant un maximum de contact avec les solutions ou particules du sol [26], [51]. Ce phénomène est peu rencontré en milieu aquatique où les végétaux peuvent utiliser directement les éléments minéraux dissous dans l'eau, à savoir le phosphore, le cuivre et le zinc [14].

4.4. Champignons des eaux douces

Une mycoflore dense détermine les milieux dulçaquicoles, comprenant, à côté des *Phycomycètes* un groupe fortement actif dans le cycle de la matière, de champignons filamenteux appartenant aux genres *Leptomitus*, *Fusarium*, *Aqueductum*, *Subbaromyces*, *Saprolegnia*, *Ascoidea*, *Geotrichum* et d'autres [34], [18].

Leur hyphes croissent sur la matière nutritionnelle immergée alors que la sporulation n'a lieu que lorsque le mycète est à l'extérieur du milieu aquatique ou à sa surface. Certains

genres rencontrés dans les eaux stagnantes tels que *Helicoon*, *Helicodendron*, *Helicosporium* possèdent des spores de forme hélicoïdale ou de sphères grillagées ; ils ont développé ce système d'adaptation qui consiste à piéger les bulles d'air pour pouvoir flotter. Peu de connaissances sont développées leur écologie et leur physiologie.

5. Classification et cycles de vie

C'est au niveau du cycle de développement et des modalités de la reproduction sexuée qui apparaissent les différences entre les sous embranchements des champignons ; au cours de l'étude, nous nous intéresserons uniquement au *Zygomycètes*, *Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et les *Deuteromycètes* (qui ne présentent pas de phase de reproduction sexuée), ce sont les diverses classes des eumycètes.

5.1 Zygomycètes :

La classe des zygomycètes renferme un grand nombre d'espèces étant les premiers colonisateurs du substrat en décomposition, à côté de certains parasites de plantes, d'animaux et d'insectes.

Leur mycélium est cénocytique, typique, de diamètre variant entre 5 et 10 μm .

5.1.1. Cycle de vie

Groupe de mycètes se multiplie par voie **asexuée** grâce à des spores haploïdes immobiles, enkystées dans des sacs appelés sporocystes* (sporangies), différenciés sur sporocystophores* (fig.: 2.6.) à paroi épaisse dressés ça et là sur les filaments mycéliens rampantes.

A maturité, les spores sont libérées par gélification de la paroi du sporocyste, elles se disséminent par forte impulsion, soit par aérotransport ou par l'intermédiaire de différents vecteurs (insectes, animaux, humains et d'autres).

Chacune d'elles possède une paroi épaisse et renferme ou plusieurs noyaux (spores plurinucléés) (fig. : 2.6).

La reproduction **sexuée** est rare dans la nature ; in vitro, elle n'apparaît que lorsque le milieu de culture est appauvri en matière nutritive.

Il est de sorte que deux filaments de thalles hétérogènes arrivent l'un à proximité de l'autre, s'incurvent ou émettent un diverticule qui amène leur fusion (plasmogamie*) aboutissant à la formation d'un cénozygote (fig.2.6). Les noyaux des deux mycéliens restent côte à côte, à

un stade dicaryotique* ($n + n$ chromosomes) ; à ce stade ils se divisent séparément par simple mitose (fig: 2.6).

Ceux qui échappent à la dégénérescence subissent une caryogamie* (la véritable fécondation), donnant naissance à la zygospore*, élément principal de la reproduction sexuée et aussi, le seul stade diploïde du cycle (fig.2.6).

La zygospore pourvue d'une paroi épaisse et verruqueuse, se divise par méiose au moment de la formation du mitosporange* qui libère des spores uninuclées haploïdes (fig.2.6).

La phase diploïde est donc relativement courte et le cycle de vie est généralement haploïde.

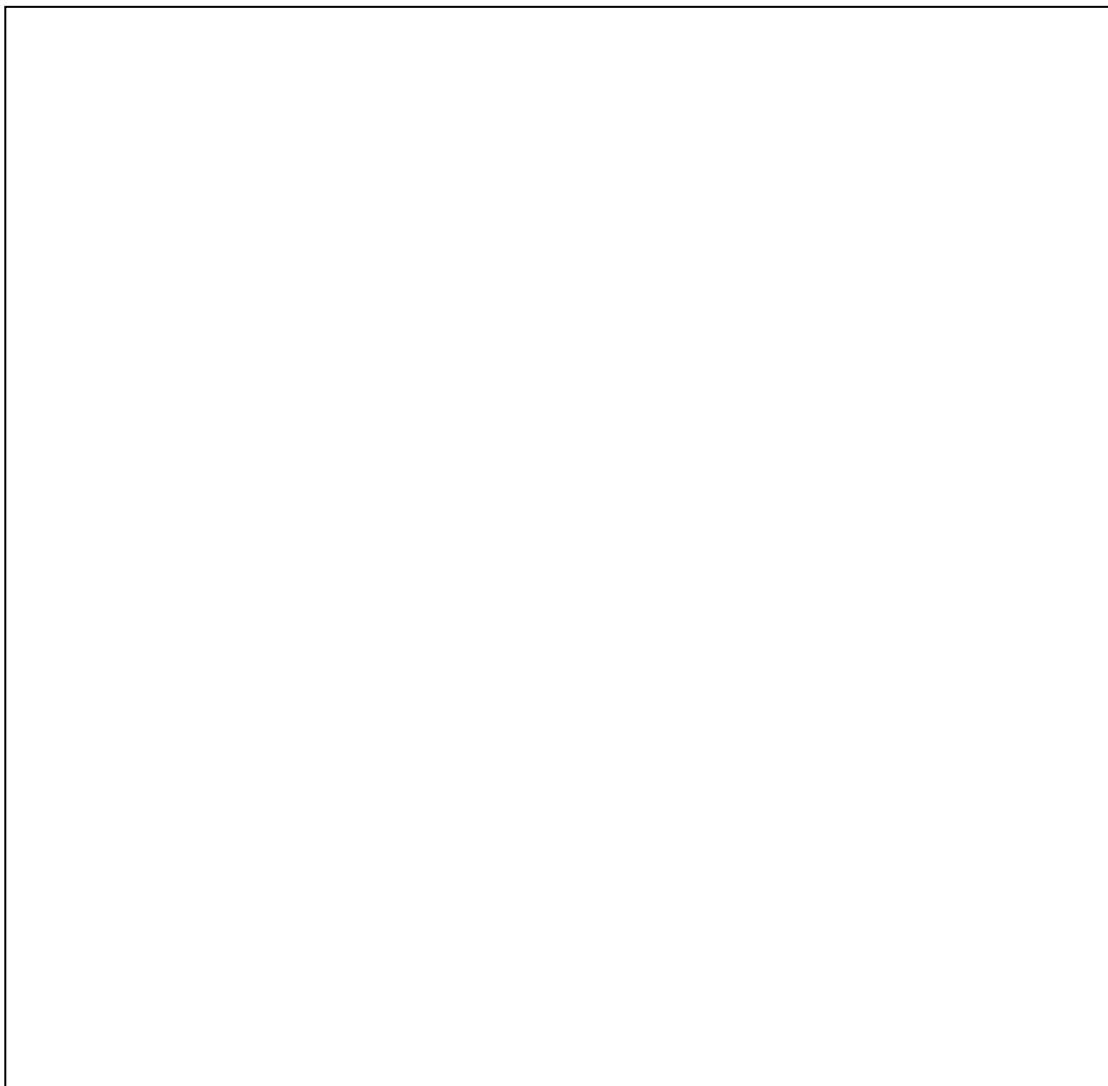


Fig. 2.6. : cycle de vie du genre Mucor.

- **Remarque :**

En présence d'anaérobiose et dans un milieu riche en matière nutritionnelle à forte pression osmotique, la morphologie de certaines espèces du genre Mucor est convertie de la forme

filamenteuse du mycelium (M) vers une forme levure (L), il s'agit de la transition (ML) rencontrée dans le phénomène appelé **dimorphisme**.

5.1.2. Classification

le phylum des Zygomycotina regroupe deux classes dont seulement environ 1% des espèces ont été identifiés.

a) *Classe des zygomycètes* (voir tab. 3)

Elle comprend plus de 800 espèces réparties sur 29 familles et 6 ordres : Mucorales, *Endogonales*, *Zoopagales*, *Kickxellales*, *Entomophtorales* et *Ecctrinales*.

L'ordre des Mucorales incluse environ 300 espèces, 56 genres et 13 familles dont la fameuse pourriture du pain, l'espèce *Rhizopus Stolonifer* (appelée aussi *R. nigricans*) et également les espèces du genre *Mucor*.

b) *Classe de Trichomycètes*

Elle renferme 4 ordres, 7 familles, 52 genres et 210 espèces, rencontrées sur la peau et le tube digestif des Arthropodes [14].

Tab. 3. : Classification des zygomycètes

Phylum	Zygomycotina	
Classe	Zygomycètes	
Ordre	Mucorales	Entomophtorales
Exemples de genres	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Mucor</i> • <i>Adsidia</i> • <i>Rhizopus</i> • <i>Rhizomucor</i> • <i>Cunninghamella</i> • <i>Syncephalastrum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Basidiobolus</i> • <i>Conidiobolus</i>

5.2. Ascomycètes

C'est la plus importante dans le règne des champignons vrais ; les Ascomycètes sont pour la plupart, des pyrénomycètes (du grec *pyren*, noyau dur) à périthèce, et des pléctomycètes

sont à cleistothèce et renferment les micromycètes téléomorphes des Deuteromycètes pathogènes.

Les filaments mycéliens sont septés, réguliers, de diamètre plus faible que chez les Zygomycètes (5 à 10 μ) avec des ramifications à angle aigu [14].

Les espèces de cette classe sont fortement diversifiées par leur formes, leur tailles et leur modes de vie et de reproduction.

5.2.1. Cycle de vie

A maturité, les spores asexuées sont facilement disséminées partout dans l'environnement et ne germent que lorsque elles sont retrouvées dans des conditions favorables à la croissance mycélienne (fig. : 2.8.).

Chez les Ascomycètes, le gamétocyste femelle (à n chromosomes) appelé trichogyne, fusionne avec le spermatocyste (ou gamétocyste mâle, à n chromosomes), d'un même thalle ou de thalle différent.

Les noyaux mâles migrent dans le gamétocyste femelle (fig. : 2.8.) mais ne fusionnent pas avec les noyaux de ce dernier c'est la trichogamie (fig. : 2.8) les filaments contenant les deux type de noyaux sont appelés hyphes ascogènes qui développent des septa au moment où les noyaux s'apparient par paires dans chaque compartiments Après la maturation la caryogamie se déroule au niveau des compartiments retrouvés à l'extrémité terminale des hyphes, ce sont les cellules mères des asques [51].

Le noyau diploïde de résultant rentre par la suite dans une série de divisions méiotique et mitotique à l'intérieurs des futur- asques.

Les asques (fig. : 2.7) mûres contiennent de 4 à 8 ascospores après séparation des noyaux par des parois.

Elles germent lorsqu'elles retrouvent dans des conditions convenables à leur croissance (fig. : 2.8)

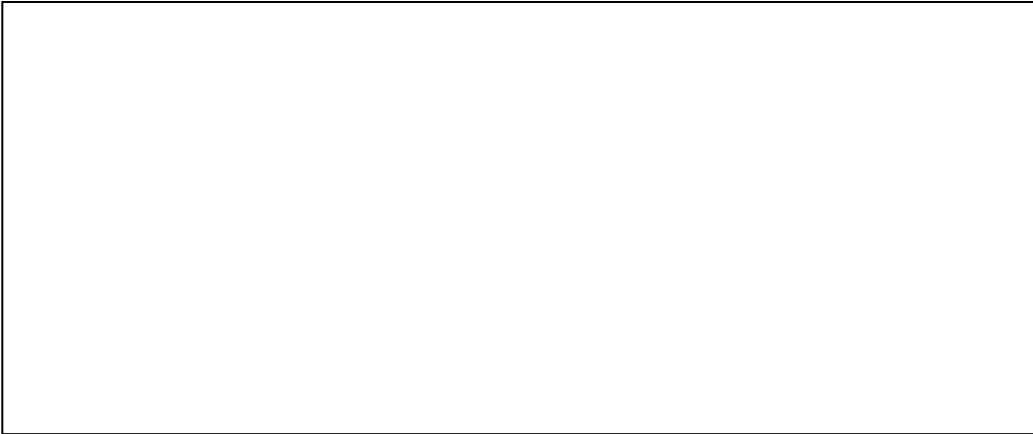


Fig. 2.7. : représentation des différentes formes d’asques.

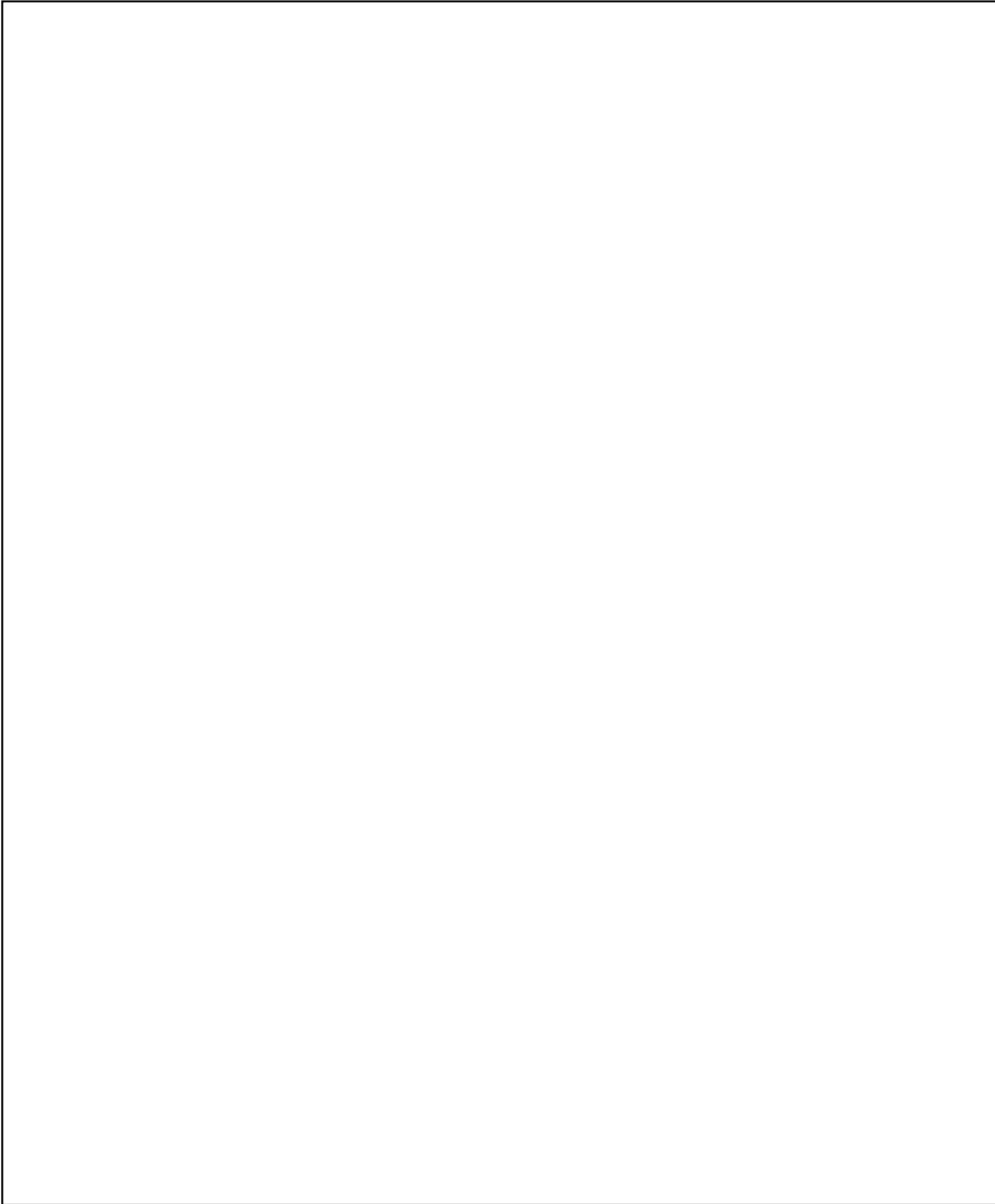


Fig. 2.8. : cycle de vie du genre *Eurotium*.

5.2.2. Classification

La classe des Ascomycètes contient près de 35000 espèces en majorité microscopiques et submicroscopique à coté d'environ un millier d'espèces lichénisantes.

Tab.4. : Classification des ascomycètes

Phylum	ASCOMYCOTINA		
CLASSE	ASCOMYCETES		
Section	HEMIASCOMYCETES (asque nues)	EUASCOMYCETES (asque dans un ascocarpe)	
Sous classe	HEMIASCOMYCETIDAE	PLECTOMYCETIDAE (asque dans gynnothèce ou cleistothèce)	DISCOMYCETIDAE (asque dans apothécie)
Exemples De genres	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Saccharomyces</i> • <i>Dipodascus</i> • <i>Geotrichum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Arthroderma</i> (<i>Trichophyton</i>) (<i>Microsporum</i>) • <i>Eurotium</i> • <i>Emericella</i> • <i>Neosartorya</i> • <i>Talaromyces</i> (<i>Penicillium sp.</i>) 	

5.3. Les Basidiomycètes

Ce sont les plus perfectionnés et différent des Ascomycètes par le fait que le cycle biologique est en majorité sexué. Ils sont connus communément par le nom de « Champignons à chapeau » et forment la plupart des macromycètes. Néanmoins l'espèce levure *Cryptococcus neoformans* en fait partie [51].

5.3.1. Cycle de vie

Après germination et croissance végétative d'une basidiospore, le mycélium haploïde monocaryote résultant, appelé aussi mycelium primaire peut fusionner avec un deuxième mycélium sexuellement différent, il se produit un mycélium primaire peut fusionner avec un

deuxième mycélium sexuellement différent ; il se produit un mycélium dit secondaire à partir de cette fusion.

Le mycélium secondaire développe des cloisonnements pour donner naissance à des cellules mères des basides, contenant chacune deux noyaux de type sexuel différent [51].

À l'extrémité terminale de chaque hyphes, est formée une baside, au sommet de laquelle les deux noyaux fusionnent et donnent un noyau diploïde qui subit, à un moment donné, une méiose, pour former 4 noyaux haploïdes à l'origine de 4 basidiospores mûres libérées à maturité.

5.3.2. Classification

Les basidiomycètes sont pour la plupart des macromycètes et comprennent environ 30000 espèces dont 14000 ont été décrites.

Tab.5 : Classification des basidiomycètes

PHYLUM	BASIDIOMYCOTINA	
CLASSE	BASIDIOMYCETES	
SOUS CLASSE	HETEROBASIDIOMYCETIDAE (Basides isolées)	HOLOBASIDIOMYCETIDAE (Basides sur un hyménium)
Exemples de genres	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Filobasidiella</i> • <i>Rouilles</i> • <i>Carbons</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bolets</i> • <i>Amanites</i> • <i>Girolles</i>

5.1. Classe des Deuteromycètes

On appelle « champignons imparfaits » ou *Deuteromycota*, les champignons qui ne présentent pas la forme de reproduction sexuée connue.

Il ne s'agit donc pas d'un groupement naturel mais un ensemble artificiel créé par les systématiciens pour faciliter la reconnaissance toujours délicate des espèces de champignons appartenant des classes variées. On en exclut par principe, les champignons à thalle cénocytique, ils ne comprennent que des mycètes à thalle cloisonné ou des espèces levuriformes.

Classification

Tab. 6. : Classification des Deuteromycètes

Phylum	Deuteromycotina			
Classe	Blastomycètes Bastosporulation Sur levure	Hyphomycètes Spores produites Directement sur le mycélium végétatif		Coelomycètes Spores produites dans pycnides (hyphes septes)
Ordre		Moniliales		
Famille		Moniliaceae (Mycélium claire)	Dematiaceae (Mycélium mélanisé)	
Exemples de genres		<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Geotrichum</i> <i>Scopulariopsis</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Fusarium</i> <i>Acremonium</i> <i>Blastomyces</i> <i>Edermophyton</i> <i>Microsporum</i> <i>Trichophyton</i> <i>Sporotrichum</i>	<i>Atemaria</i> <i>Phialophora</i> <i>Cladosporium</i> <i>Wangiella</i>	

6. Utilités et nuisances

Bien que l'on n'a révélé qu'environ 5,1% de la mycoflore totale existante sur notre planète et, bien que d'éventuelles utilisations des champignons restent encore mal définies, le 21^{ème} siècles avait connu un énorme progrès industriel grâce à la découverte de l'intérêt des micromycètes dont l'utilité avait touché la quasitotalité des domaines technologiques et économiques.

En contre-parti, ces microorganismes sont, pour la majorité, néfastes et peuvent altérer de nombreux substrats organiques et minéraux, comme ils peuvent être à l'origine de maladies variablement graves, parfois mortelles, atteignant de plusieurs façons les organismes vivants, végétaux animaux et autres.

6.1. Utilités

L'intégration des microorganismes, exceptionnellement les champignons et leur bagage enzymatique dans l'industrie moderne basée sur les moyens les plus rentables et les moins coûteux, progresse d'un jour au lendemain, au fur et à mesure que l'on découvre leur intérêt et leur rendement dans la biotransformation de différents produits, en dehors de leur rôle principal classique dans les fermentations et les aromatisations alimentaires.

6.1.1. Production primaire

La biomasse fongique sert depuis longtemps, de source considérable de protéines alimentaires, pour compenser l'insuffisance du régime nutritionnel chez certains des peuples pauvres comme ceux des pays Africains et du sud Asiatique [64].

La production primaire des mycètes peut aussi se voir dans les produits chimiques d'un intérêt industriel très important, tels que les acides organique (citrique, gluconique, itaconique, kogique et l. ascorbique, à titre d'exemple) et les alcools industriels (Ethanol, sucres polyols et chitosanes).

Certains microchanpignons des genres *Aspergillus*, *Curvularia*, *Fusarium* et *Penicillium*, sont entre autres, capables de produire à la fin de leur métabolisme, du CO₂, du méthane et d'autres hydrocarbures pouvant servir de sources d'énergie [64], [66].

6.1.2. Activités cellulitique et ligninolytique des micromycètes

Le rôle des exoenzymes responsables de telles activités est clairement observé dans les industries du bois et de papeterie, car c'est à partir des milliers de tonnes de bois constitué

de matière ligninocellulosique, que l'on en puise une immense énergie, bien autant que de la matière première destinée à de nombreuses industries dont la production de papier.

La mise en œuvre de la mycoflore spécialisée dans la dégradation de la cellulose et de la lignine, ainsi que le blanchissement de la pâte à papier, paraît le meilleur remplaçant des processus physicochimiques excessivement coûteux et sources de pollution menaçant l'environnement ; il s'agit des agents de la pourriture du bois, l'espèce *Coriolus versicolor* ainsi que l'espèce *Rhizopus stolonifer* ou, seulement de leur extraits enzymatiques [66].

Cette activité apparaît aussi, dans la nature surtout dans la transformation de la matière végétale en décomposition, rencontrée sous forme d'humus.

6.1.3. Liquéfaction du charbon

Les champignons sont également utiles dans la transformation du charbon à des dérivés liquides que l'on trouve dans certaines industries chimiques.

Ceci peut se réaliser à des températures ambiantes et sous pression atmosphérique, contrairement aux mécanismes physicochimiques nécessitant des degrés extrêmement élevés de température et de pression [64].

La composition du charbon étant généralement proche de celle du bois, les mycètes y intervenant sont les mêmes que celles rencontrées dans la biodégradation de ce dernier ; on parle principalement des espèces *Rhizopus stolonifer* et *Phanerochaete chrysosporium*, des enzymes ligninases, peroxydases et d'autres [64].

6.1.4. Déparaffinage et déshuilage

Certaines moisissures appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Fusarium* et *Cladosporium*, peuvent biodégrader les huiles, déversées le plus souvent d'accidentellement, dans le milieu aquatique ou terrestre, jouant ainsi un rôle dans la dépollution de l'environnement [66].

Dans les industries pétrolières, le principe consiste à dégrader les paraffines dans les produits pétroliers bruts, afin de bénéficier de leur énergie, pour la mise en marche de certains moteurs à des températures est assurée par les enzymes estérasés dont le rôle est d'éliminer les cires paraffiniques [64].

Il est de même lors du recyclage des huiles végétales.

6.1.5 Production des enzymes fongiques d'un intérêt industriel

Cette industrie récente consiste à l'extraction, la purification et l'amplification de la quantité des enzymes extrêmement actives dans les divers domaines industriels. Elle est basée sur la culture des mycètes [66].

6.1.6 Leur rôle en métallurgie

En biotechnologie minérale, les mycètes sont d'un intérêt moindre que les microorganismes autotrophes. Néanmoins, l'action de certains mycètes filamenteux sur la structure cristalline des aluminosilicates conduit par exemple à libérer des composés acides ou alcalins, attaquant les roches aluminosilicatées par **biocorrosion** [64].

Certains mycètes filamenteux interviennent dans la libération d'un grand nombre d'éléments minéraux de leurs composés bruts, par l'action des produits fongiques acides ou basiques ; c'est le cas du Nickel, Cuivre, Plomb, Bronze, soufre, Fer et l'Uranium [64], [13].

D'autres mycètes sont utilisés dans l'élimination des composés phosphatés de la matière première de l'acier pour améliorer sa qualité ainsi que sa valeur commerciale.

6.1.7 Autres domaines d'utilisation

Le pouvoir d'assimiler les pesticides, a conduit à l'utilisation des champignons dans la détoxification de nombreux produits dangereux.

Bien que ceci peut être indésirable lorsque l'action est involontaire.

Ces microorganismes peuvent absorber les métaux lourds et également, diminuer la charge des pluies acides, et protéger, par conséquent les eaux superficielles et souterraines de toute pollution chimique [66].

Leur utilisation avait également été bénéfique dans l'élimination des hydrocarbures et les dérivés naphthéniques.

L'intérêt de certains produits secondaires fongiques tels que les antibiotiques n'a pas été limité seulement la destination anthropique, mais aussi dans le but de lutter contre certaines maladies infectieuses touchant les animaux pareillement que les végétaux.

6.2. Nuisances

Par leurs activités enzymatiques et selon la nature du substrat ainsi que les conditions environnementales et les interactions microbiennes (concurrence ou syntrophie...), les

champignons arrivent à transformer un grand nombre de produits ou de tissus en améliorant sa qualité dans le sens positif, soit dans le sens négatif.

6.2.1. biodégradations

Parmi les dégâts résultants des biodégradations des **denrées alimentaires**, les altérations organoleptiques et les risques d'intoxications, menacent le consommateur des céréales, des produits laitiers, des viandes et charcuteries ainsi que des dérivés des œufs et des oléagineux, les fruits et les légumes attaqués par les champignons lors du stockage ou durant le transport dans des conditions favorisant la prolifération des moisissures [13].

Parmi les hyphomycètes responsable de ces dégâts, des espèces de *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Trichoderma* et autres sont dit "des moisissures de champs", ils sont généralement cellulolytiques ; d'autres, tels que *Aspergillus candidus*, *A.ochraceus* et *A.versicolor*, *Eurotuin* et *Penicillium cyclopium*, sont des agents d'acidification.

Les Mucorales comme *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* sont rencontrés sur les aliments les plus altérés [13].

Divers autres produits constituent une source de nutrition fongique, qu'il s'agisse des différents textiles de nature animale ou végétale, ou d'autres substrats à savoir le liège, la matière plastique, le cuir, le caoutchouc, les produits cosmétiques et même le verre, les peintures et adhésifs [13], [64],[66].

Le risque de la prolifération fongique est inquiétant lorsqu'il s'agit des espèces résistantes aux fongicides en les dégradant ; c'est le cas de divers *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Cladosporium*...etc.

6.2.2. maladies fongiques

Les mycoses superficielles et profondes dues à certains parasites, sont aussi des formes de nuisance caractérisant les mycètes, elles se sont aggravées depuis l'apparition des agents antibactériens à large spectre (tels que les cyclines) qui, en détruisant la flore naturelle des l'organismes, favorisent l'invasion de la mycose, il s'agit des Mucormycoses, Alternarioses, Blastomycoses, Histoplasmoses, Fusarioses et Aspergilloses, à titre d'exemple.

1. Echantillonnage

1.1 Choix du site d'échantillonnage

A proximité de l'embouchure de l'Oued El-Messida, sur le coté Sud-est du lac Oubeïra, s'installe une conduite de rejet d'eaux résiduaires urbaines, provenant du village Mechta AbdelKader (voir page 4); en 1997, le PNEK déclare la présence d'une rupture de la conduite près du pont vanne (photo 2.), entraînant un écoulement permanent d'eaux usées brutes dans le lac ; malgré les difficultés d'accès lors de la saturation en eaux naturelles pendant la saison pluviale, ce site nous a servi pour l'échantillonnage, en raison de sa localisation au voisinage de Mechta-Bouh'chicha, une zone marquant une activité agricole considérable dans la région ; l'exploitation illégale de l'eau lacustre au profit des diverses activités domestiques– irrigation, breuvage et pêche entre autres, pose un problème de danger public, difficilement contrôlable.

Dans le but de déterminer la qualité microbiologique de cette eau, nous en avons prélevé un échantillon et, dans un travail d'équipe, nous l'avons soumis à des examens microbiologiques incluant la mise en évidence des bactéries indicatrices de pollution fécale, les *Staphylocoques*, les levures et les moisissures ; seules ces dernières font l'objet de ce mémoire.

1.2 Prélèvement, conservation et transport de l'échantillon

L'échantillon d'eaux résiduaires a été prélevé manuellement au niveau du site décrit, au début du mois d'Avril 2003, le niveau d'eau étant assez élevé pour permettre l'écoulement des crues de l'Oued El-Kebir vers le lac; outre, l'eau elle même ne marque pas de modification de concentration par les précipitations ni par l'évaporation.

- **Principe**

L'échantillon d'eau à analyser est prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuses, pour éviter toute contamination accidentelle durant la manipulation. Soigneusement conservé à basse température et en une courte durée de temps, ne dépassant pas 24 heures, cet échantillon est correctement transporté et destiné à l'analyse microbiologique.

- **Matériel et méthode**

- Quatre flacons de 500ml, en verre borosilicaté, préalablement lavés, rincés soigneusement pour éliminer toute trace d'un éventuel détergeant, puis séchés et stérilisés au four pasteur à 500° pendant 4 heures.
- Au moment de prélèvement, le flacon est rincé avec de l'eau à examiner.
- Le prélèvement manuel est effectué à la surface, au niveau d'une zone assez agitée par le courant de l'effluent où le risque de sédimentation est diminué.
- Les flacons remplis complètement puis bouchés instantanément au téflon sont recouverts au niveau du bouchon au papier aluminium pour assurer une double protection contre toute contamination probable.

1.3 Conditions climatiques

Les données climatologiques que nous avons collectées dans la station météorologique d'El Kala sont affichées dans le tableau 6 ; elles concernent les mois de Mars et Avril.

Tab. 7: données climatologiques.

Mois	Température (°C)			Précipitation (mm)		Evaporation (mm)	Humidité (%)
	T°	T°x	T°n	P	Px		
Mars	14,7	24	7,4	23	42	7,8	57
Avril	17,6	32	8,3	36	115	7,4	62

T° étant la température mensuelle moyenne, T°x la température maximale mensuelle, T°n la température minimale mensuelle, P la précipitation mensuelle et Px la précipitation moyenne mensuelle.

1.4 Description de l'échantillon

L'échantillon d'eau prélevé est un mélange d'eaux naturelles lacustre et pluviale d'une part, associées à des eaux de vannes chargées en matière fécale et des eaux ménagères de lavages divers (eaux usées urbaines); nous citons essentiellement **les décharges de dérivés pétroliers** provenant de la pompe à essence du village Boutella-Abdallah faisant l'objet d'une étude en cours d'exécution au niveau du PNEK), d'autre part. Il apparaît trouble, à faible odeur d'égouts, présentant des matières en suspension visible à l'œil nu et de couleur plus ou moins grisâtre.

2. Préparation des dilutions

- **But**

La diminution de la charge microbienne par dilution de l'échantillon d'eau à analyser, a pour but une purification plus aisée des colonies bien séparées obtenues en culture mixte.

- **Principe**

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de l'eau en micro-organismes, d'abord à 1/10 puis à 1/100 et ainsi de suite jusqu'à réduire la concentration microbienne de l'échantillon mère au facteur de 10^{-6} ; ainsi l'eau est prête à l'analyse microbiologique, bien que la probabilité d'éliminer un nombre considérable d'espèces microbiennes est non nulle.

- **Matériel et méthode**

- Créer une zone stérile de ~ 30cm de diamètre, par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée;
- Homogénéiser l'échantillon mère par agitation du flacon de prélèvement;
- Prélever à l'aide d'une pipette graduée, 1ml d'échantillon mère, puis l'ajouter à 9ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai, permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à 10^{-1} par rapport à l'échantillon mère ;

- Prélever 1 ml de la suspension 10^{-1} agitée -à l'avance à l'aide d'un vortex- avec une pipette pasteur neuve et diluer dans un second tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile, pour arriver à une dilution de 10^{-2} ; et ainsi de suite, à chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de 10^{-6} .

- **Précaution**

Eviter les courants d'air pour empêcher une évidente contamination par les spores aéro-transportées.

3. Mise en culture

Ensemencer un nombre suffisant de boîtes de Petri contenant les milieux de culture spécifiques, de routine et d'autres plus sélectifs des champignons microscopiques. La culture des micromycètes filamenteux sur un milieu gélosé leur fournit le support solide indispensable pour leur croissance en colonies bien distinguées.

La variation de la température d'incubation a pour but de favoriser la croissance des saprophytes et des parasites (dermatophytes et autres pathogènes de l'Homme).

3.1 Milieux de culture utilisés

Nous avons utilisé des milieux de culture systématiquement favorables au développement des micromycètes ; certains d'entre eux sont dits de routine (à savoir : gélose nutritive, TGEA, Sabouraud simple...etc.), d'autres ont été rendus plus sélectifs par addition d'antibiotiques à large spectre d'action tels le chloramphénicol, la gentamycine et l'oxytétracycline (agents antibactériens agissant sur les ribosomes 50S) [37].

3.1.1. Gélose nutritive (GN)

Un milieu de culture microbienne, peu favorable à la croissance fongique à cause de la concurrence bactérienne. Le pH de la GN est de 7,2.

- Principaux constituants de la GN [1]

➤ Peptone

Un composé polypeptidique extrait du blé, soit de la viande et dont l'aminogramme comporte les éléments suivants à des doses variables de l'ordre de (g/100g) :

Alanine- arginine- acide aspartique- cystine- acide glutamique- glycine- histidine- isoleucine- lysine- méthionine- phénylalanine- proline- serine- thréonine- tryptophane- tyrosine- valine. La GN est constituée de 10g/l de peptone.

➤ **Extrait de viande**

Extrêmement riche en matière nutritionnelle organique et minérale nécessaire à la croissance des microorganismes hétérotrophes et surtout des souches démesurément exigeantes. Il rentre dans la composition de la GN avec une concentration de 5g/l.

➤ **chlorure de sodium (NaCl):** comme élément minéral ;5g/l.

3.1.2. Milieu gélosé à base de tryptone, de glucose et d'extrait de viande (TGEA)

C'est un milieu de culture électif, exempt d'antibiotique, à pH 7,2, utilisé non seulement pour cultiver les mycètes, mais aussi pour la culture bactérienne.

- Principaux constituants du milieu TGEA [01]

➤ **Glucose**

Source directe de carbone et d'énergie, dont la concentration est de 1g/l.

Un hexose de forme aldéhyde, parmi les composés le plus classiquement assimilables par les mycètes [37], [30], [44], [64].

. Il est d'une concentration assez suffisante, 30g/l.

➤ **La tryptone (peptone de caséine)**

Apporte de l'azote organique au milieu ; elle est obtenue par hydrolyse enzymatique contrôlée de la caséine. Elle mesure 5g/l dans le milieu TGEA.

➤ **Extrait de viande (voir GN).**

3.1.3. Milieu de Sabouraud

C'est un milieu semi-synthétique, de routine, présenté sous sa forme simple à 40g/l de glucose, comme source directe de carbone et d'énergie (pH de 6,65) ; le milieu de Sabouraud à 2% de glucose (à pH 5,6) n'en contient que 20g/l. Son pH lui permet d'inhiber la croissance bactérienne tandis que les champignons sont pour la plupart acidophiles ou acidotolérants.

La sélectivité du milieu vis-à-vis des champignons pathogènes au détriment des saprophytes est effectuée par addition de cycloheximide (actidione) [30].

- Principaux constituants du milieu de Sabouraud [01]

- **Glucose** (voir TGEA).
- **Peptone** (voir GN).

Le milieu de Sabouraud contient 10 g/l de peptone qui présente une source d'azote organique ; les espèces capables de dégrader la peptone marqueraient une énorme importance dans le recyclage de l'azote minéral dans la nature.

La peptone peut également jouer le rôle d'une source secondaire de carbone et d'énergie. Certains mycètes se montrent incapables de métaboliser la peptone en raison des effets toxiques suscités par les acides aminés qu'elle contient [64].

3.1.4. Milieu gélosé à base de glucose et d'extrait de levure additionné à l'oxytetracycline (OGYA)

Un milieu sélectif, semi synthétique à base de glucose et d'extrait de levure additionné à l'oxytetracycline (inhibiteur bactérien affectant Gram+, Gram- et bactéries intracellulaires). Le pH du milieu ~ 6,5.

- Principaux constituants du milieu OGYA [01]

- **Glucose**

Il représente la source de carbone et d'énergie en concentration de 20g/l.

- **Extrait de levure**

Riche en éléments nutritifs divers de nature fongique, des sources de carbone d'énergie et d'azote, des éléments minéraux et également des métabolites essentiels tels les vitamines et les coenzymes. L'extrait de levure est présent à 5g/l dans le milieu OGYA.

3.1.5. Milieu Czapek

Ce milieu est absolument synthétique, présent sous deux formes principales :

- ✓ Czapek simple à pH = 6,8 ;
- ✓ Czapek concentré à pH = 5.

- Principaux constituants du milieu Czapek [01]

➤ Saccharose

Constitue l'unique source de carbone et d'énergie ; la molécule est un dioside composé de deux unités d'hexose, le glucose (aldose) et le fructose (cétose). Le saccharose est de 30g/l dans ce milieu de culture.

➤ Nitrate de sodium

Une source d'azote minérale dont la concentration $\sim 2\text{g/l}$ dans la formule simple et de 40g/l dans la composition du Czapek concentré.

➤ Eléments minéraux

Présentent des concentrations de l'ordre de 10^{-1} à 10^{-2} ; le phosphore, élément nécessaire à la nutrition, est sous forme de phosphate dipotassique (KH_2PO_4) ; le soufre est à l'état de sulfates en association à des oligoéléments tels que le Magnésium, le Fer, le Cuivre et le Zinc.

3.1.6. Milieu Chapman

Un milieu semi-synthétique utilisé essentiellement pour isoler les bactéries halophyles telles que les Staphylocoques ; son inclusion dans notre étude, a été hasardeuse.

- Principaux constituants du milieu Chapman [01]

➤ Mannitol

Un sucre-alcool très rarement utilisé par les champignons microscopiques [37]. Sa concentration est de 10g/l .

➤ Peptone : 10g/l ;

Source organique de nutrition, essentiellement d'azote.

➤ Extrait de viande : 1g/l .

(voir GN).

➤ NaCl

Une concentration élevée de chlorure de sodium, de 75g/l , caractérise le milieu Chapman sélectif pour les microorganismes halophiles.

3.1.7. Milieu à la farine d'avoine

Milieu naturel utilisé pour pousser la sporulation des micromycètes.

3.1.8. Milieu à base de cellulose

Un milieu semi-synthétique utilisé pour isoler les souches cellulolytiques.

- Principaux constituants du milieu à base de cellulose [37]

➤ Papier filtre

Composé majoritairement de cellulose ; c'est un complexe glucidique, source de carbone et d'énergie dont la dégradation nécessite des microorganismes adaptés enzymatiquement à l'activité cellulolytique

3.1.9. Milieu chitine

Milieu empirique utilisé généralement pour cultiver les actinomycètes (bactéries filamenteuses), permet très rarement la culture fongique

- Principaux constituants du milieu chitine

➤ Chitine

Un complexe glucidique dérivé de la cellulose, il comporte un groupement acétylamine, extrait des téguments superficiels de certains groupes d'organismes vivants tels que les orthoptères (la blatte) ; la chitine est une source organique de carbone et d'azote très rarement assimilable par les mycètes.

➤ Les éléments minéraux

Principalement les sulfates associés à d'autres facteurs de croissance comme le Fer, le Magnésium et le Zinc.

3.2 Ensemencement

Tout en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile:

- bien homogénéiser le contenu du tube à essai contenant la suspension diluée à 10^{-6} ;
- prélever à l'aide d'une pipette pasteur, une goutte de cette suspension ;
- l'étaler à l'aide d'un râteau, à toute la surface de la boîte de Petri (Le râteau en verre est flambé avant et après chaque utilisation).

Trois boîtes de Petri sontensemencées de la manière décrite ci-dessus, pour chaque milieu de culture. La procédure est reprise pour toutes les dilutions préparées, allant du moins dilué au plus dilué, jusqu'à l'ensemencement à partir de l'échantillon mère.

3.3 Incubation et lecture

- une boîte est mise en culture à température ambiante.
- une autre boîte est étuvée à 37° afin de mettre en évidence les dermatophytes.
- une troisième boîte est incubée dans le réfrigérateur à $\sim 7^{\circ}$ pour les psychrophiles.

Compte tenu des variations des vitesses de croissance chez les différentes espèces de moisissures, les boîtes mises en culture sont lues à différents intervalles de temps, d'abord à 24 heures, à 48 heures, à 72 heures et à 5 jours sur les cultures dites jeunes, puis après 7 jours, 10 jours et 15 jours dans le but d'observer des formes bien différenciées. Certains dermatophytes peuvent avancer dans l'incubation jusqu'à 21 jours voir un mois [22], [30].

4. Isolement des mycètes filamenteux

Une microflore fongique variée et pousse en mélange après l'incubation; elle est de moins en moins confluyente sur les boîtesensemencées à partir des suspensions les plus diluées.

• Technique

À l'aide d'une anse de platine stérile, gratter, au bord de la colonie un fragment du mycélium et le déposer au centre de la nouvelle boîte de Petri contenant le même milieu de culture sur lequel elle a été récoltée ou, un milieu voisin pouvant être plus sélectif. L'incubation des cultures est effectuée en maintenant les mêmes conditions écoclimatiques correspondantes à chaque souche.

5. Préparation du matériel fongique pour l'étude microscopique

Cette étape consiste à décrire les spécificités morphologiques détaillées qui font, à côté des caractères culturels et comportementaux, les critères d'identification des moisissures.

- **Principe**

La préparation microscopique consiste à choisir un fragment mycélien à partir d'un site de prélèvement, sur le thalle, intermédiaire du mycélium juvénile à la marge et le vieux mycélium au centre, ceci permet le visionnement idéal des appareils sporifères.

Le matériel biologique fongique est préparé pour l'observation sous microscope photonique, aux différents grossissements.

5.1. Préparation des observations microscopiques à l'état frais

- **Matériel et méthode**

Dans les mêmes conditions d'hygiène et d'asepsie, la préparation du matériel fongique pour l'observation microscopique à l'état frais est réalisée comme suit :

- Prélever un échantillon du mycélium dans la colonie, à l'aide de l'anse de platine stérile puis le déposer dans une goutte de liquide de montage sur une lame porte-objet stérile. Le Lactophénol d'Amann [30] est utilisé comme liquide de montage éclaircissant en raison des avantages qu'il assure à l'opérateur ; contrairement à l'eau physiologique et à l'alcool, le lactophénol donne des résultats satisfaisants car il n'apporte aucune modification de forme ni de dimensions au champignon. Il est peu volatil et permet de conserver les préparations (voir composition en annexe).
- Dilacérer le fragment mycélien avec l'anse de platine pour le rendre moins dense et mieux observable, sans autant l'abîmer complètement ;
- Recouvrir la préparation à l'aide d'une lamelle et la faire passer légèrement par dessus la flamme de la veilleuse du Bec Bunsen pour éliminer les bulles d'air formées. L'observation microscopique est réalisée aux grossissements (x10), (x20), (x40).

✚ Les lames préparées sont conservées par la méthode de Riddell [13], qui consiste à appliquer une couche de vernis à ongles tout autour de la lamelle, sur une zone sèche dans le but de sceller la préparation et la protéger contre l'assèchement par l'évaporation du lactophéno.

5.2. Préparation des observations microscopiques à immersion

- **But**

L'observation des organes différenciés au grossissement X100 et accomplir la description morphologique.

- **Principe**

Nous avons procédé à la coloration de GRAM, une méthode usuelle employée en bactériologie.

Mode opératoire

- ✓ Dilacerer un fragment très fin de mycélium dans un goutte d'eau physiologique sur la lame porte-objet ;
- ✓ Fixer le frottis à la flamme du bec Bunsen ;
- ✓ L'émerger avec du violet de Gentiane pendant 60 secondes ;
- ✓ Ajouter le Lugol et laisser agir encore 30 secondes ;
- ✓ Rincer la lame à l'eau du robinet, puis verser quelques gouttes d'éthanol puis rincer après une minute à l'eau du robinet ;
- ✓ Ajouter de la fuschine en laissant agir pendant une 30 secondes ;
- ✓ Rincer à l'eau et sécher les préparations à l'aide de papier filtre ;
- ✓ Au moment de l'observation, ajouter une goutte d'huile de cèdre (observation à immersion).

6. Identification et classification des champignons

- **But**

Classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification des champignons filamenteux.

- **Principe**

Par manque de moyens de bord, la détermination de l'appartenance d'un mycète à un certain groupement ou taxon a été satisfaite par la définition de ses caractères cultureux et comportementaux accomplis par l'observation morphologique sans avoir procédé aux techniques modernes d'identification qui se basent sur les tests de biochimie et de biologie moléculaire.

Les souches mises en évidence dans notre étude ont été classées en se basant sur la bibliographie spécialisée à l'identification des moisissures qui établit des clés de détermination complètes à partir des caractères cultureux et morphologiques, il s'agit des références [13], [17], [22], [31], [34], [35], [46], [56].

6.1. Conditions de culture

Milieu de culture favorable ; pH du milieu ; Température d'incubation ; Diamètre de la colonie en fonction du temps d'incubation.

6.2. Caractères cultureux

Texture et Couleur du thalle; présence ou absence de mycélium aérien ; dimensions de la colonie ; présence ou absence de pigment, diffusible ou non ; présence ou absence d'exsudat ; adhérence au milieu et type de propagation.

6.3. Aspect microscopique

La méthode de classification que nous nous sommes adaptés à regrouper les moisissures en trois principaux sous classes en se basant sur la structure et l'organisation du mycélium.

6.2.1. Zygomycètes

Filaments irréguliers à cloisons rares présents seulement pour séparer le mycélium jeune des filaments vieux déjà différenciés ou en dégénérescence.

✓ Critères d'identification

Dimensions ; Présence ou absence de rhizoïdes* ; Ramification du sporocystophore* ; Forme des sporocystes* ; Présence ou absence de columelle* ; Présence ou absence d'apophyse* ; Forme de spores ; Présence ou absence de stolons ; Reproduction sexuée.

✓ Genres typiques

Absidia, Mucor, Rhizomucor, Rhizopus, Syncephalastrum.

- a- asporangiophore;
- b- sporange ;
- b- columelle ;
- c- spores
- d- rhizoides.

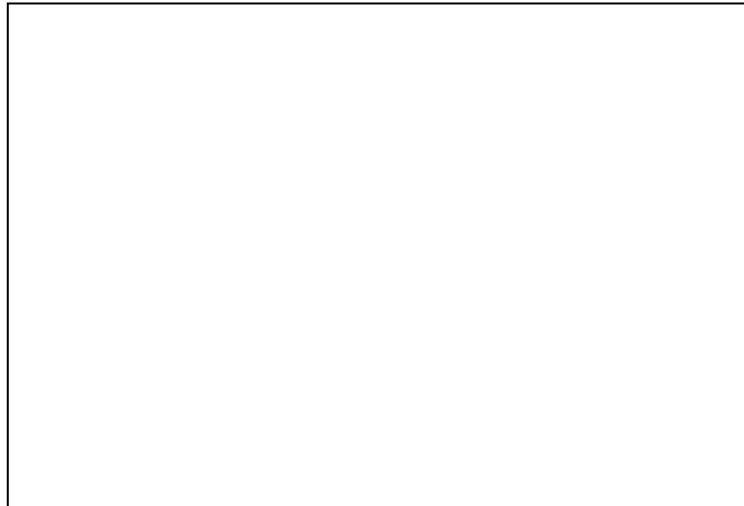


Fig. 3.2 Représentation générale des mucorales[17].

6.2.2. Hyphomycètes

Filaments fins, de diamètres réguliers, séptés par des cloisons perforées qui assurent la continuité cytoplasmique.

La couleur du thalle y est un critère essentiel d'identification.

6.2.2.1. Champignon noir (démâtié)

La paroi contient de la mélanine, le mycélium apparaît donc brun noir.

6.2.2.1.1. Démâtié à blastospores

Mode de reproduction par bourgeonnement, spores unicellulaires.

✓ **Critères d'identification**

Dimensions ; Aspect et couleur des filaments ; Présence ou absence d'articulations ; Forme et couleur des conidiophores ; Forme, couleur et arrangement des spores ; Emplacement des cellules conidiogènes ; Présence/absence de chlamydospores ; Présence/absence d'endoconidies*.

✓ **Genres typiques**

Aureobasidium, Cladosporium, Exophiala, Hortea, Nigrospora, Wangiella

- a- ramoconidies ;
- b- conidie ;
- c- conidiophore.

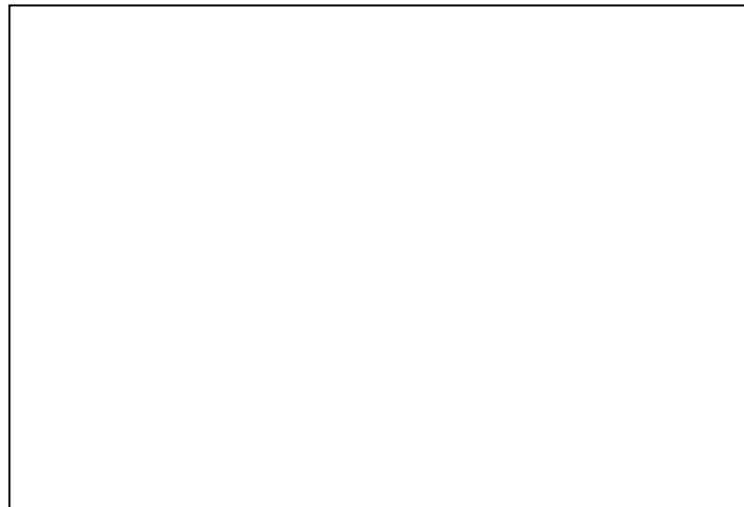


Fig.3.3 : Représentation du genre *Cladosporium* [17].

6.2.2.1.2. Dématié à dictiospores

Spores généralement murales avec sépta transversales, obliques et longitudinales en nombre variable.

✓ **Critères d'identification**

Dimensions ; Couleur des filaments ; Conidiophores ; Aspect et arrangement des pores ; Présence ou absence de bec*.

✓ **Genres typiques**

Alternaria, Epicoccum, Ulocladium, Stemphylium.

- a- conidiophore ;
- b- dictyospore.

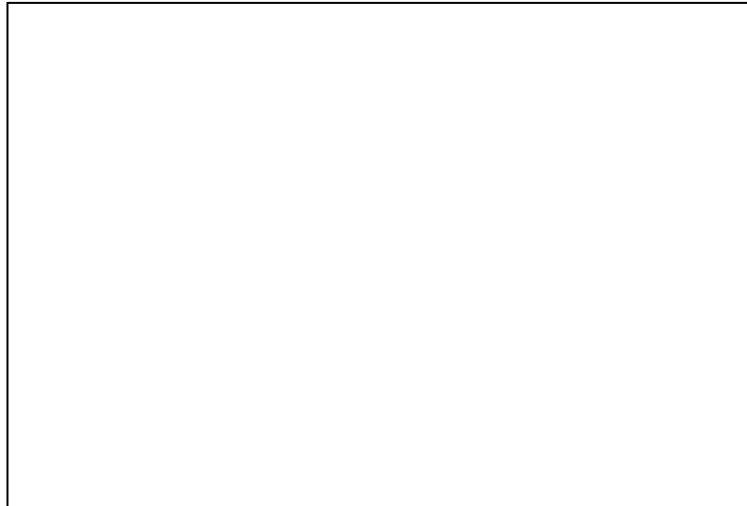


Fig. 3.4: Représentation de *Alternaria alternata* [17].

6.2.2.2. Champignon hyalin

6.2.2.2.1. Mycélium hyalin à phialospores

Mode de reproduction par formation successive de conidies à partir d'un rameau en forme de bouteille.

6.2.2.2.1.1. Conidiophore en pinceau

✓ Critères d'identification

Dimensions ; Couleur du conidiophore ; Couleur des têtes conidiennes ; Forme du verticille* ; Présence/absence de ramification (métules*) ; Forme des phialides* ; Forme, ornementation et emplacement des spores ; Structure de la paroi sporale.

- **Remarque :**

En présence d'anaérobiose et dans un milieu riche en matière nutritionnelle à forte pression osmotique, la morphologie de certaines espèces du genre *Mucor* est convertie de la forme filamenteuse du mycélium (M) vers une forme levure (L), il s'agit de la transition (ML) rencontrée dans le phénomène appelé dimorphisme.

Penicillium, Peacilomyces, Scopulariopsis, Trichoderma, Verticillium.

- a- pinceau monoverticillé ;
- b- pinceau biverticillé fourchu
(furcatum) ;
- c- pinceau triverticillé.

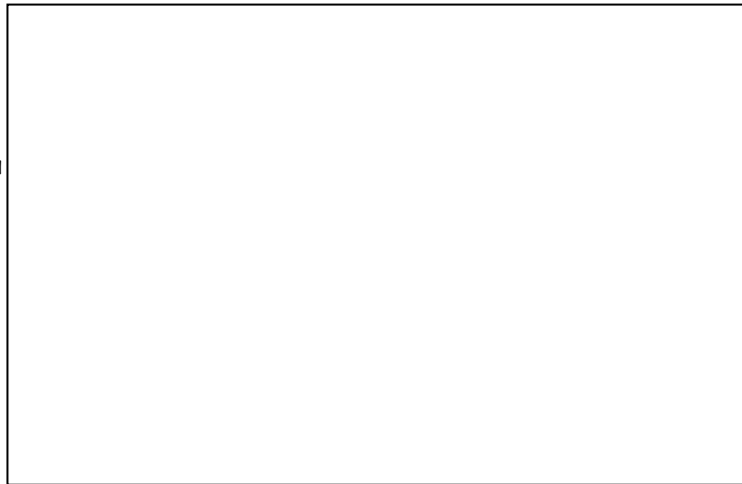


Fig. 3.5: Caractères morphologiques des *Penicillium* [17].

6.2.2.2.1.2. Conidiophore en goupillon

Les organes de reproduction asexuée en forme de vésicules* uni ou bisériées*, portant des phialides productrices de conidies.

✓ Critères d'identification

Dimensions ; Tête conidienne ; Couleur et aspect du conidiophore ; Forme de la vésicule ; Spores ; Formes végétatives ; Formes de résistance.

✓ Genres typiques

Aspergillus, Eurotium, Neosartoria, Emericella.

- a- phialides ;
- b- vésicule ;
- c- conidiophores ;
- d- conidies.

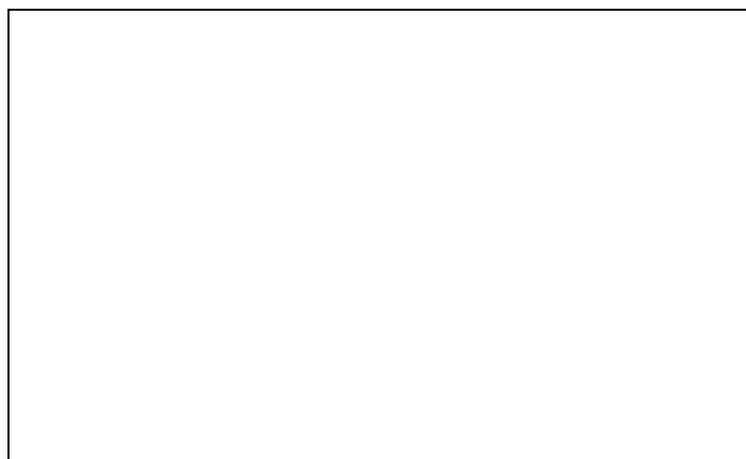


Fig. 3.6: Représentation du genre *Aspergillus* [17].

6.2.2.2.1.3. Conidiophore en bouquet (fausses têtes)

Spores agglomérées au sommet de la phialide isolée sur le conidiophore.

✓ Critères d'identification

Dimensions ; Conidiophore ; Nombre de phialides ; Foot-cell* et cellule apicale* ; Microconidies* ; Mésoconidies* ; Macroconidies* et nombre de sépta* ; Chlamydoconidies* ; Présence/absence de sporodochia*.

✓ Genres typiques : *Fusarium*, *Acremonium*.

a- spores isolées ;
b- fausses têtes ;
c- phialides.



Fig. 3.7: Représentation de *Acremonium* sp.[17].

6.2.2.2.2. Mycélium hyalin à arthrospores

Mode de reproduction asexuée par désarticulation d'un filament au niveau des cloisons.

✓ Critères d'identification

Dimensions ; Aspect et couleur des filaments mycéliens ; Arthroconidies*.

✓ Genres typiques : *Geotrichum*, *Onychola*.

a- arthrospores
b- conidiophore



Fig. 3.8: Représentation de *Geotrichum candidum*[17].

6.2.3. Identification des champignons dermatophytes

L'étude macroscopique étant pratiquement semblable à celle rencontrée chez les autres champignons imparfaits, nous nous limitons à ne citer que les critères microscopiques ; Taille des filaments ; Emplacement des chlamydozoospores dans le cas de leur présence ; Ramifications ; Forme et arrangement des microconidies ; Type et arrangement des macroconidies ; Ornementations particulières (organes pectinés*, organes nodulaires*, organes triangulaires*).

- 1- filament normal (en bambou)
- 2- filament en raquette ;
- 3- hyphes spiralés ;
- 4- hyphes pectinés
(en bois de cerf);
- 5- chlamydozoospores ;
- 6- chandelier favique ;
- 7- organe nodulaire ;
- 8- microconidies en acladium.

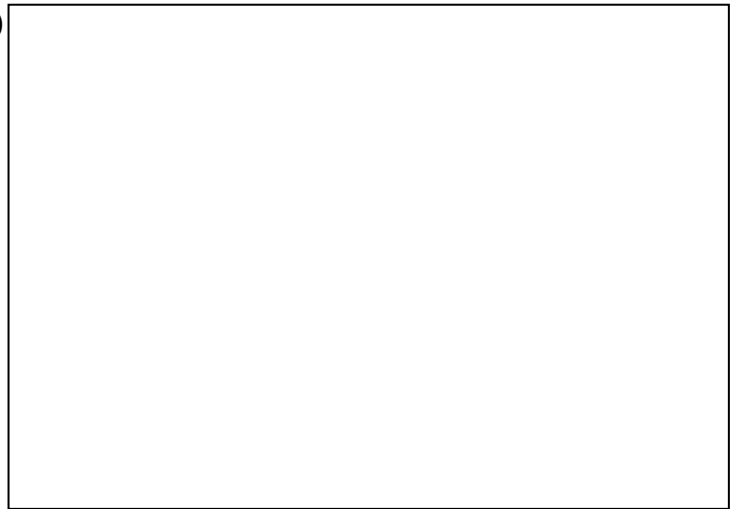


Fig. 3.9: Représentation de formes et ornements des dermatophytes.

- **Remarque :**

Les éléments 4, 5 et 8 sont les seules formes rencontrées dans nos résultats.

7. Conservation des champignons

- **But**

Ralentir le taux de la croissance mycélienne et limiter les possibilités de variation.

- **Principe**

La conservation du champignon est réalisée le plus simplement en le cultivant sur gélose inclinée à température favorable au développement, puis le soumettre à des conditions défavorables en maintenant le thalle à son état de résistance ; il peut être revivifié dès que le climat le permet.

Méthode I

- Repiquer les champignons en tubes sur gélose inclinée ;
- Les maintenir en cultures à température optimale pendant 2-3 semaines en fonction de leurs vitesses de croissance ;
- Visser ensuite les tubes hermétiquement afin de créer une ambiance anaérobie défavorable à leur développement, sois les stocker au réfrigérateur à moins de 7°.

Remarque

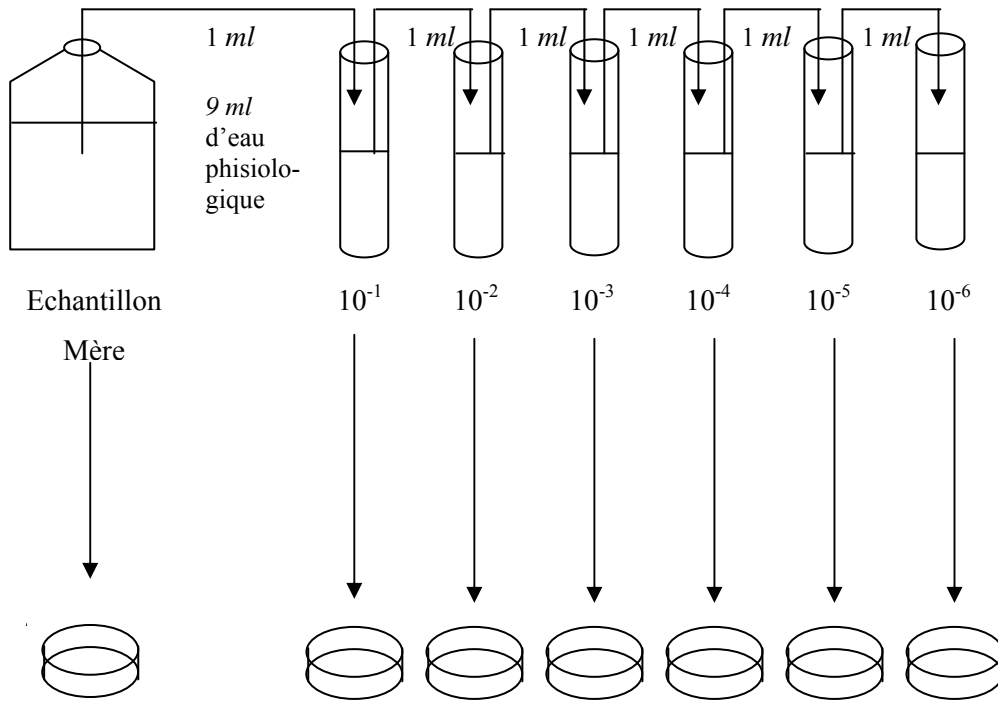
Les repiquages doivent être renouvelés tous les 03 mois.

Méthode II

Elle consiste à pousser la déshydratation des géloses déjàensemencées lors de l'isolement des souches fongiques en les exposant à une température supérieure à 30° pendant plus d'une semaine puis protéger chaque boîte en appliquant du parafilm sur tout son tour, ceci entraîne également la déshydratation du champignon qui quitte la *trophophase* et entre en *idiophase* [14]. Les souches sont en état de dormance mais très facilement revivifiables lors des repiquages même après une année, ce qui rend cette méthode pratiquement plus fiable que la précédente.

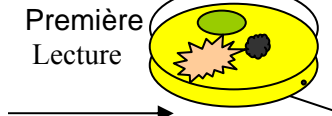
Les différentes étapes du protocole expérimental sont représentées par la figure 3.1.

1) Dilution décimale



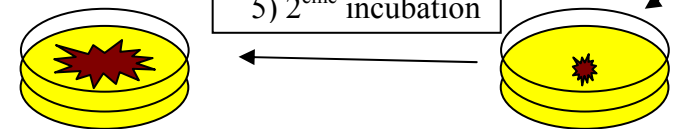
3) première incubation

- à 25 c°
- à 30 c°
- à 37 c°



4) Repiquage

5) 2^{ème} incubation



6) 2^{ème} lecture (Identification)

7) conservation

- Conditions de culture
 - milieu de culture favorable ;
 - pH de croissance ;
 - T° d'incubation, etc.
- Caractères cultureux
 - Texture, couleur et dimensions de colonie, etc
- Aspect microscopique

Variable suivant l'anatomie du mycète

Les examens microbiologiques basés sur l'aspect des colonies, la structure et la morphologie du thalle, tant que les conditions de culture, ont servi à la mise en évidence de 51 espèces de moisissures réparties sur 13 genres.

I. Identification

Par des méthodes classiques d'identification citées plus haut, nous avons mis au point la dominance qualitative – en nombre d'espèces – du genre *Aspergillus* avec 39 % de la totalité des souches isolées ; les espèces du genre *Penicillium* sont classées en deuxième position, correspondant à 18 % de celle-là.

Les *Zygomycètes* en occupent 9,4% tandis que les espèces du genre *Fusarium* en constituent 7,4 %. Les dermatophytes interprètent 9,5% de l'ensemble des souches obtenues et le genre *Cladosporium* n'en comporte que 3,8 %.

Les souches restantes correspondent à 6 % et incluent les genres suivants :

Acremonium, *Alternaria*, *Geomyces*, *Geotrichum*, *Trichoderma* et *Verticillium*, dont chacun n'est représenté que par une seule espèce (fig. 3.17).

Nous avons classé les genres décrits, dans l'ordre décroissant suivant la dominance du nombre d'espèces, en dressant les tableaux comparatifs suivants, conduisant à la détermination (en %) de l'analogie phénotypique entre chaque souche de moisissure et sa référence. Aussi, nous avons représenté leur arrangement systématique à la fin de chaque genre par une représentation schématique de leurs positions taxonomiques (voir pages 113, 134, 143, 149', 154 , 162, 174).

1.1. Le genre *Aspergillus*

Nous avons purifié 21 souches appartenant à ce genre.

1.1.1. Description de la souche <i>Aspergillus terreus</i> spp.1		
	souche de référence	souche à identifier
conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 5 c° ; atteint 3,5 à 5 cm au bout de 7 jours	La culture débute en 48 heures sur milieu de Sabouraud + Chloramphénicol, à 37°C. Elle préfère un pH de 6,63- 6,65. Atteint plus de 6 cm de diamètre au bout d'une semaine.
caractères cultureux	Thalle velouté ou parfois floconneux, à revers dans les tons du jaune à brun sal exsudat ambré, parfois abondant.	Colonie plate à croissance très rapide, poudreuse, de couleur blanc cassé au jeune âge, marron-cannelle au stade de vieillissement, contour régulier, échancré, à pigment jaune-brun diffusible dans la gélose (photos 9 et 10).
aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, très longues, cylindriques, compactes, cannelle à brun sable, plus rarement brun orangé ; - conidiophores hyalins, lisses, - vésicules hémisphériques, - métules, ne couvrant que la moitié supérieure densément ou les trois quarts, - phialides densément groupées, parallèles. - conidies globuleuses et légèrement elliptiques, lisses. 	<p>Tête aspergillaire en colonne (photo 11);</p> <p>Conidiophore lisse, incolore ;</p> <p>Deux séries de stérigmates sur la partie supérieure de la vésicule sub-hémisphérique ;</p> <p>Petites conidies globuleuses, lisse.</p>

Analogie phénotypique: 100%.

PHOTO : 9

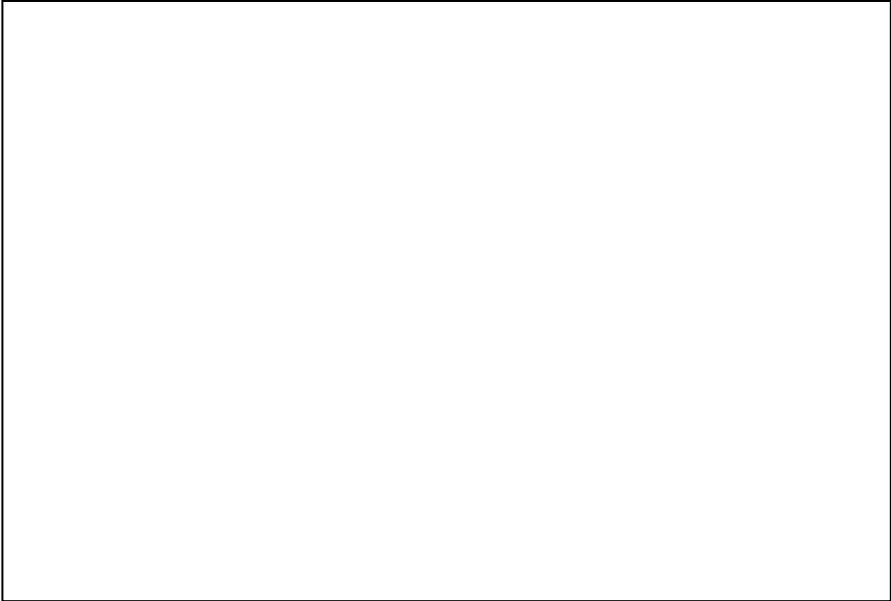
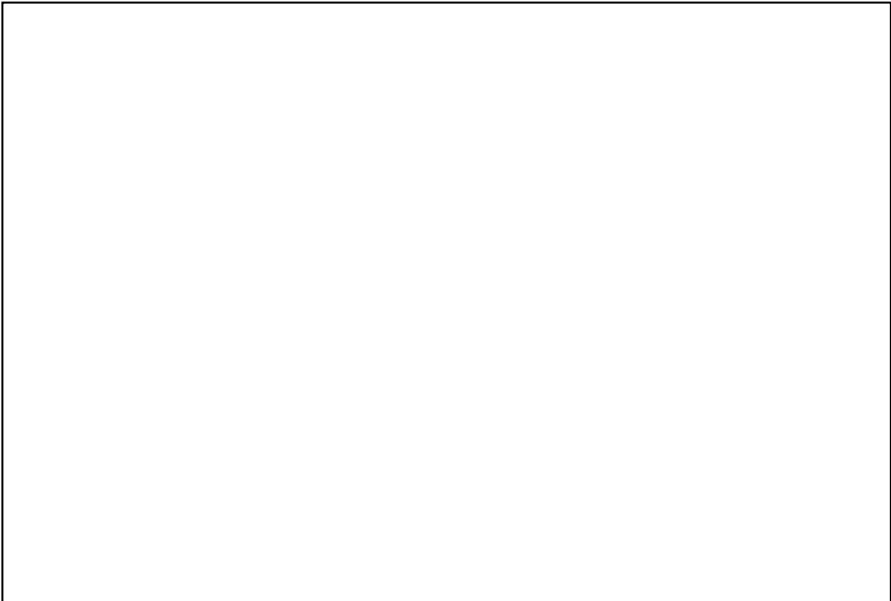


PHOTO: 10



PHOTO : 11



1.1.2. Description de la souche *Aspergillus terreus* spp.2

- **Conditions de culture**

La souche est cultivée sur milieux TGEA, Czapek simple et concentré dont les valeurs de Ph sont respectivement : 7,2- 6,8 et 5. la colonie atteint 0,7 à 2 cm de diamètre au bout de 3 jours et 3 cm après une semaine d'incubation à 25°C.

- **Caractères cultureux**

Colonie plate, farineuse, ombiliquée, à contour échancré et plus ou moins régulier à diamètre d'environ à 2 cm; elle est de couleur brun-sable (photo 12) ; le revers est pigmenté en brun avec un halo brun-verdâtre à la périphérie (photo 13).

- **Aspect microscopique**

- Tête aspergillaire en longue colonne ;
- Conidiophore hyalin, lisse, se terminant par une vésicule recouverte de deux étage de phialides parallèles donnant à la tête une forme de ventail.
- A un stade avancé de culture, la tête devient facilement écrasable.
- De petites spores lisses, globuleuses, sont produites en de longues chaînettes basipétales.

- **Analogie phénotypique avec le souche de référence : 93,80%. (voir page 73).**

PHOTO : 12

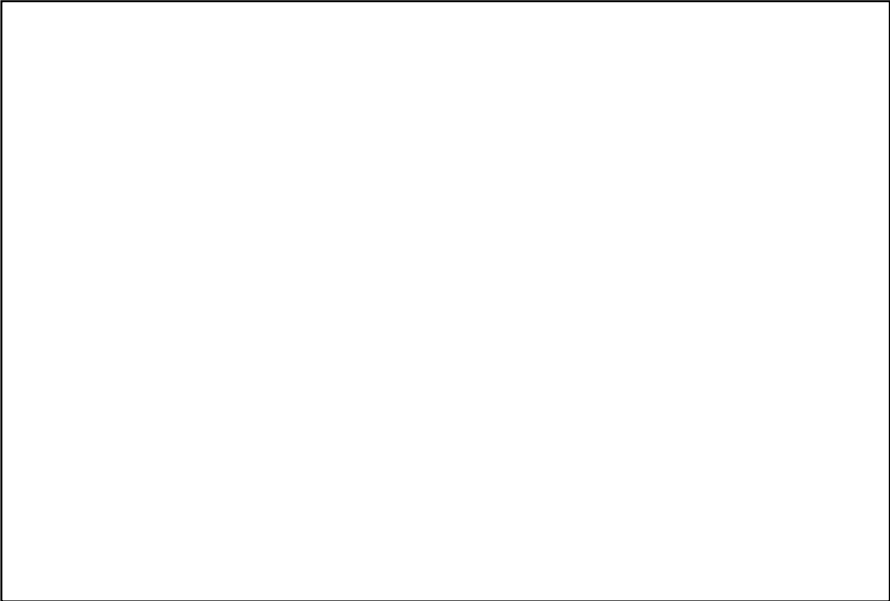


PHOTO: 13

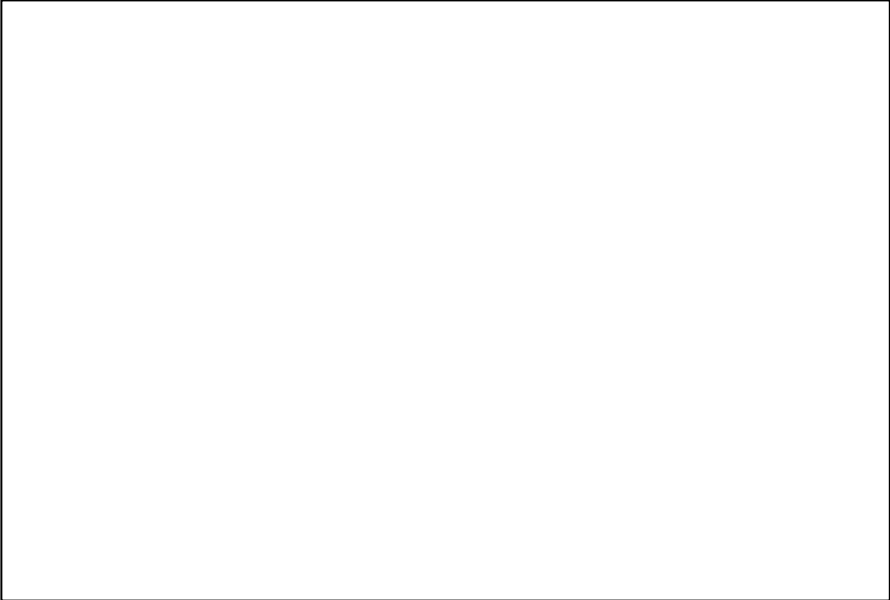


PHOTO : 14



I. I.3. : Description de la souche *Aspergillus terreus* spp.3

- **Conditions de culture**

Culture sur milieu Czapek et de Sabouraud + chloramphénicol, à 30°C atteint 0,7cm de diamètre après 48 heures, 1 cm après 4 jours. Le pH de croissance est de 6,5 à 6,8.

- **Caractères cultureux**

Après 48 heures, la colonie est blanche-jaunâtre, plate, veloutée, lisse, à contour échancré de 0,7 cm de diamètre ; revers jaune. Après 7 jours d'incubation à 35°C, la colonie est duveteuse, d'un aspect feutré, présentant un bouton central, quelques plis radiaires et un contour lobé, adhérente au milieu, jaunâtre puis marron clair de diamètre ~ 4,5 cm (photo15).

Revers jaune du à un pigment diffusible dans la gélose (photo16)..

- **Aspect microscopique**

- Tête aspergillaire en forme de ventail (photo17) ;
- conidiophore, hyalin assez long, se termine par une vésicule hémisphérique courte sur toute sa moitié supérieure (ou les 2/3) bi sériée ;
- les phialides hyalins, parallèles, produisant des spores lisses, globuleuses.

- **Analogie phénotypique avec le souche de référence : 75% (voir page 73).**

PHOTO : 15

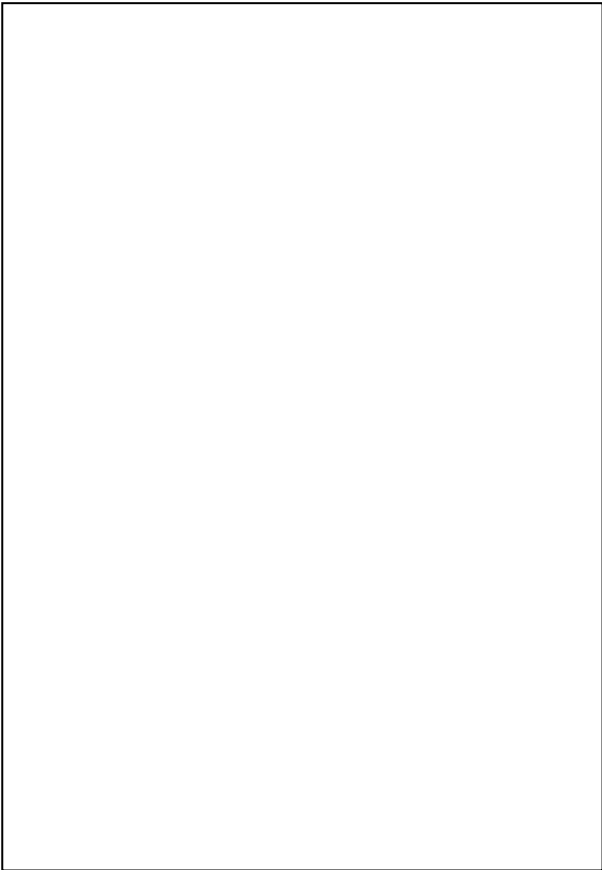


PHOTO : 16

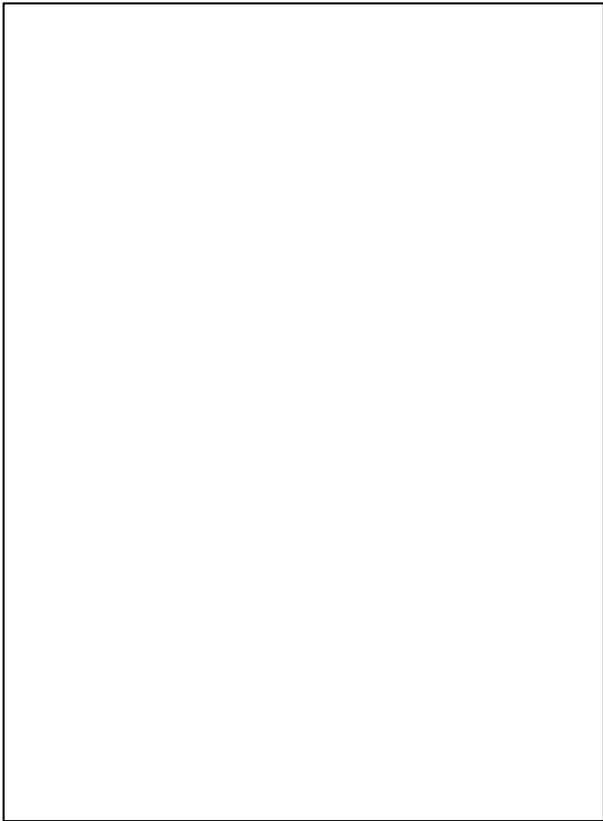
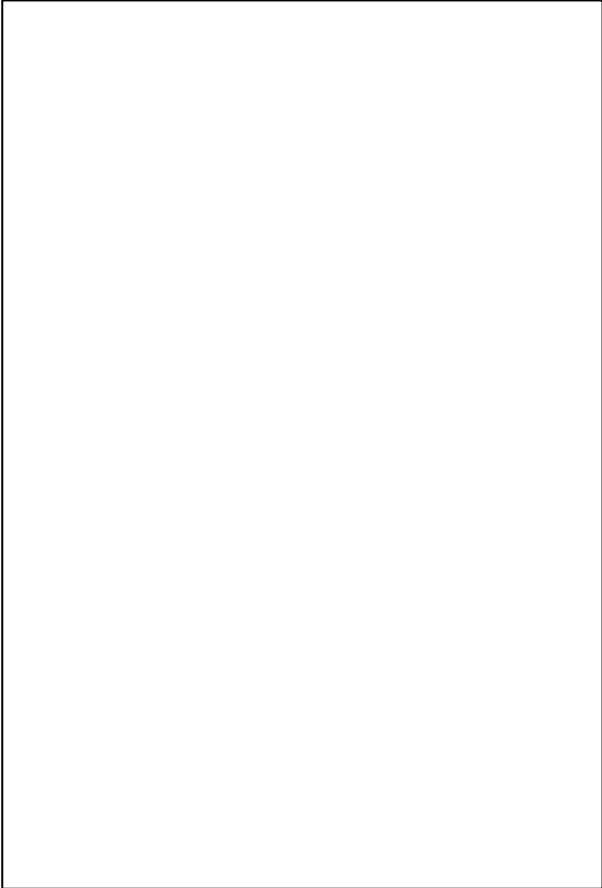


PHOTO : 17



I.I.4. : Description de la souche *Aspergillus fumigatus*

	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse su milieu Czapek à 25 c°, plus rapidement à 37 c° ; atteint 3 à 5 cm après 7 jours.	Pousse sur milieu Czapek, à 25°C ; atteint ~ 5 cm de diamètre au bout de 5 jours d'incubation. pH favorable ~ 6,8.
Caractères cultureux	Thalle d'abord bleu-vert puis virant au vert bronze ; revers incolore, jaune, vert, ou brun rouge suivant les souches.	Thalle blanc feutré au jeune âge, tendant après 5 jours au vert-grisâtre, poudreux ; la colonie est à ce stade plate, duveteuse, à centre élevé et à contour régulier ; la couleur du thalle devient de plus en plus foncée en vieillissant, ce qui donne un gradient de couleur à la colonie (photo18). Revers incolore avec un centre jaune (photo19). Après 10 jours, on marque l'envahissement sur toute la boite de pétri par de nombreuses colonies filles.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes unisériées en colonne compacte. - conidiophores courts, lisses, verts, s'élargissent insensiblement au sommet en vésicule sub-hémisphérique ; - vésicules vertes fertiles dans leur moitié supérieure ; - phialides dressées, densément groupées vertes. - conidies sub-globuleuses à globuleuses, échinulées. 	<p>Tête conidienne uni sériée, bleu- vert ; conidiophore lisse, court, s'élargissant légèrement au sommet (photo20) ; vésicule subhémisphérique (photo20)verte, fertile à sa moitié supérieure ; phialides courtes, dressées, densément groupées, verts produisant des conidies globuleuses, lisses (photo21).</p>

Analogie phénotypique: 90%

PHOTO 18

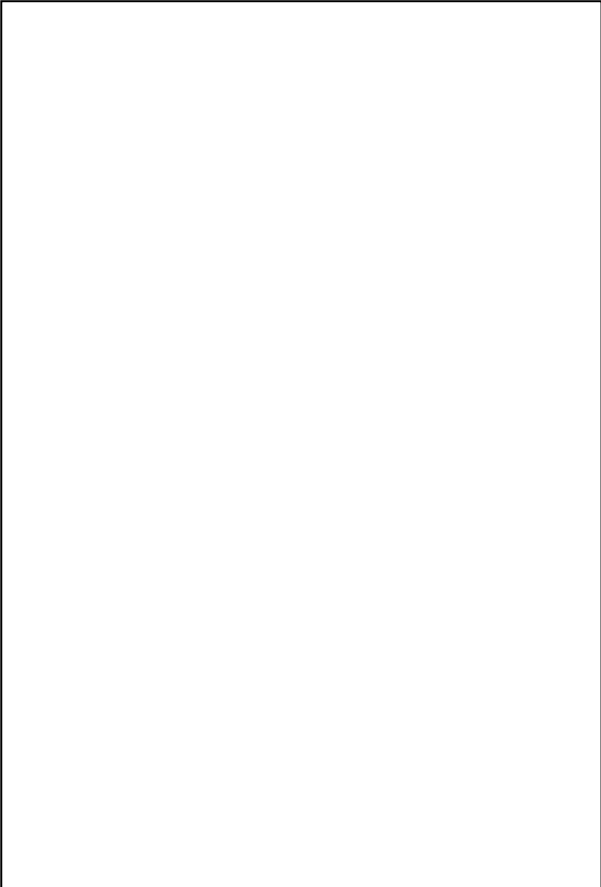


PHOTO 19

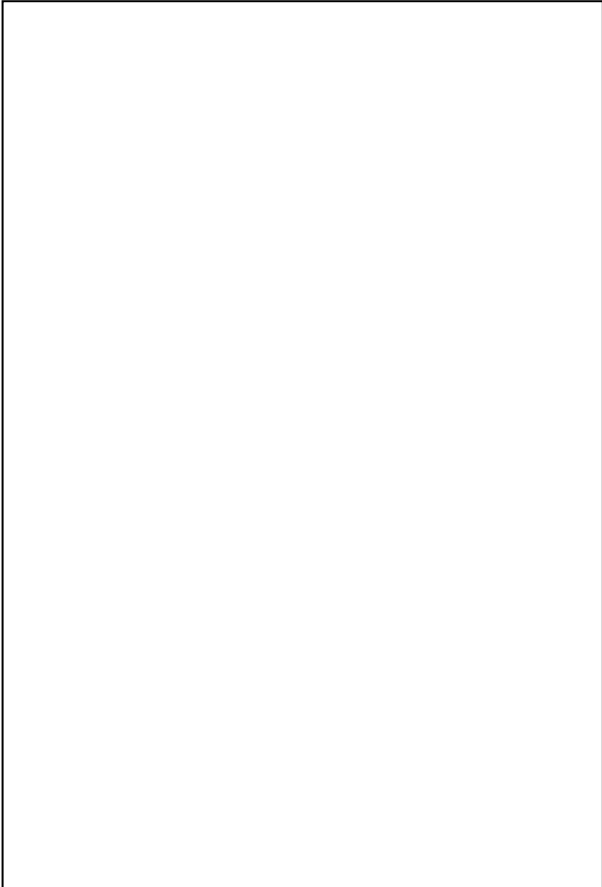


PHOTO 20

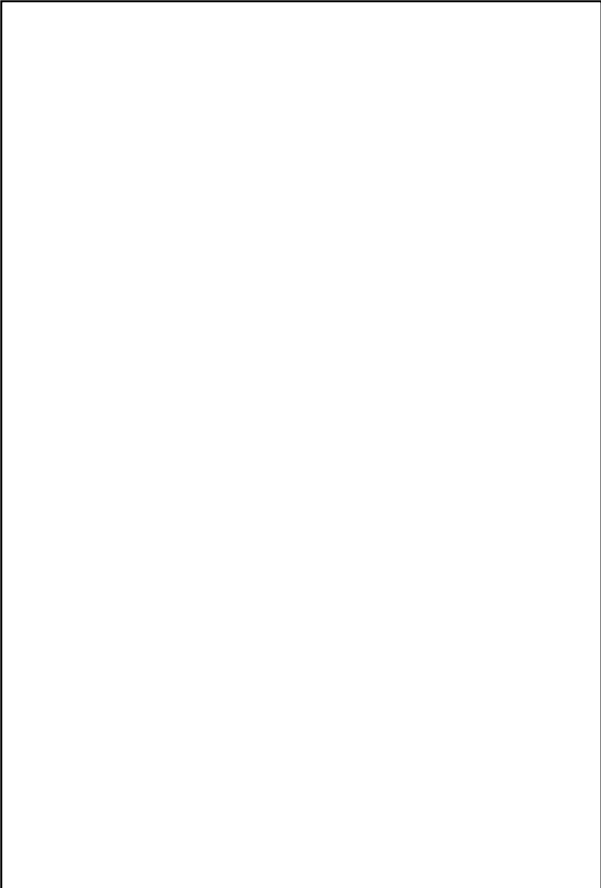
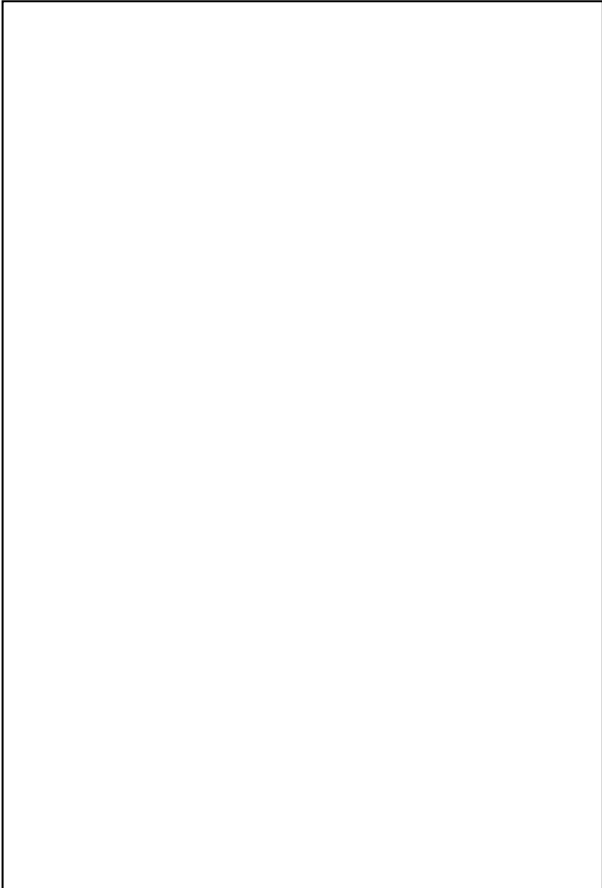


PHOTO 21



<i>I.I.5. : Description de la souche <i>Aspergillus itaconicus</i></i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture		La colonie dépasse 3 cm de diamètre après 4 jours d'incubation sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose (pH de 5,6) et sur milieu Czapek simple (pH de 6,8), à 25°C- 30°C. La croissance est moins rapide à 37°C.
Caractères cultureux	Thalle vert très floconneux, à revers jaune d'or, champignon osmophile.	<p>Colonie feutrée au stade juvénile à floconneuse en vieillissant, verte à duvet blanc surélevé, lui donnant un aspect bombé, elle est ombiliquée, à contour régulier et de croissance stratifiée (photo22). Quelques plis radiaires sont marqués sur le revers jaune-brun (photo23).</p> <p>Sur milieu Czapek et au bout de 21 jours, toute la surface de la boîte de pétri est envahie par une seule colonie (photo24), dont le revers est coloré d'un pigment pourpre-grisâtre diffusible dans la gélose (photo25).</p>
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes unisériées, globuleuses à radiées vertes. - conidies lisses, hyalins, rétrécis fortement sous la vésicule. - phialides produisant des conidies piriformes elliptiques échinulées. 	<p>Tête aspergillaire unisériée, globuleuse, verte (photo26) ;</p> <p>Conidiophore lisse, hyalin, peu rétréci sous la vésicule sub-globuleuse fertile à sa moitié supérieure par une série de phialides dressées, parallèles, produisant des conidies globuleuses lisses (photo27).</p>

Analogie phénotypique: 90 %.

PHOTO 22

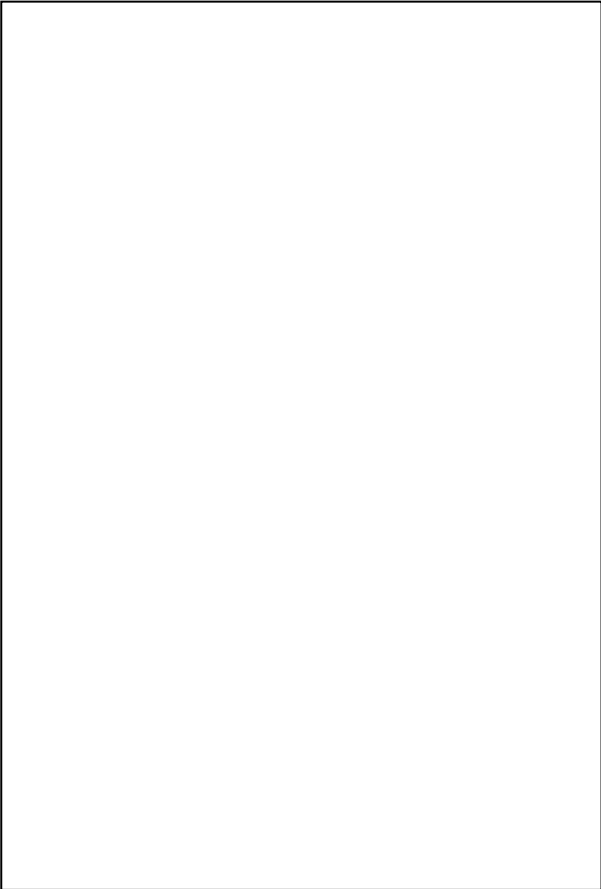


PHOTO 23

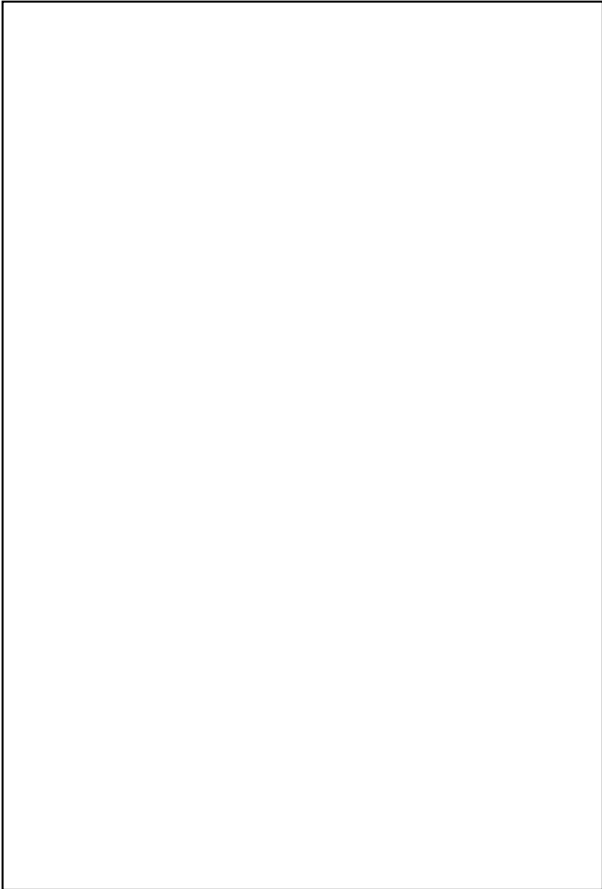


PHOTO 24

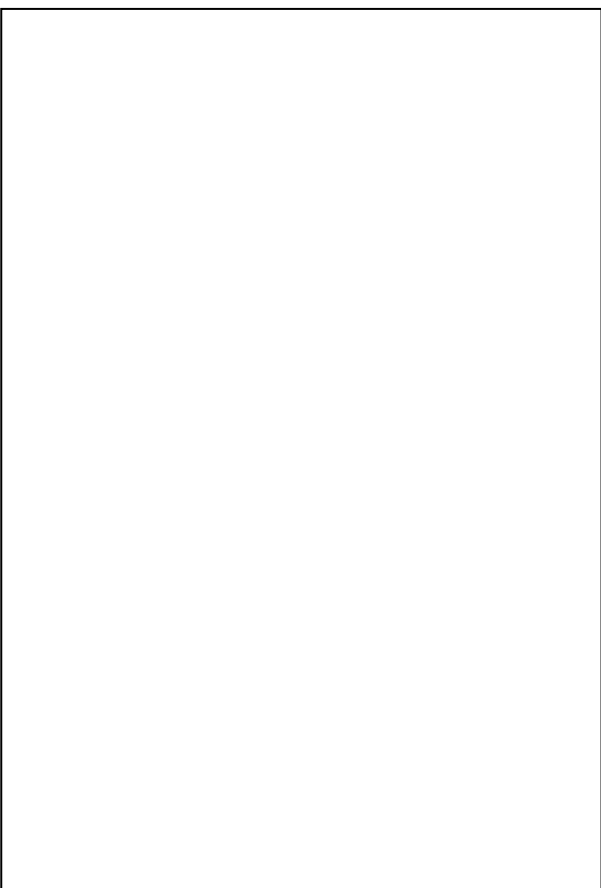


PHOTO 25

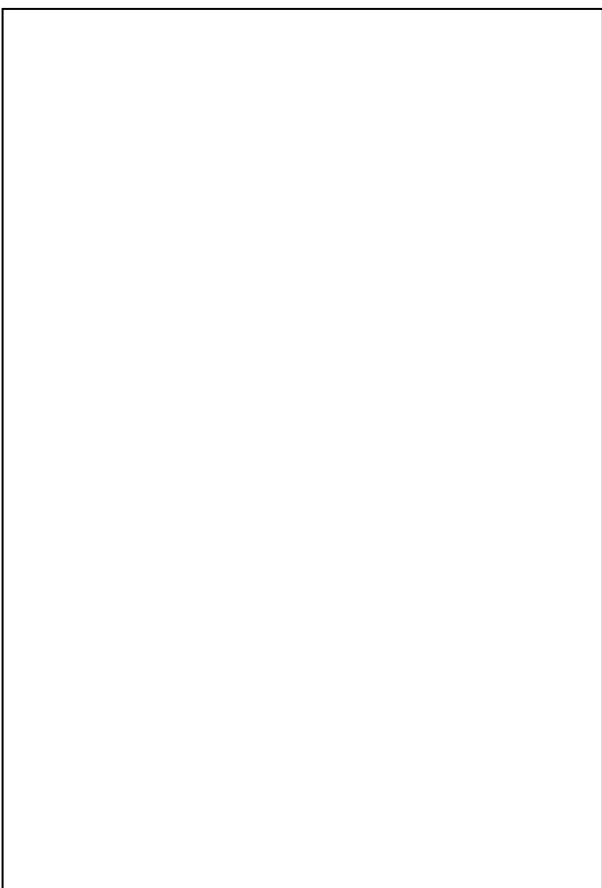


PHOTO 26

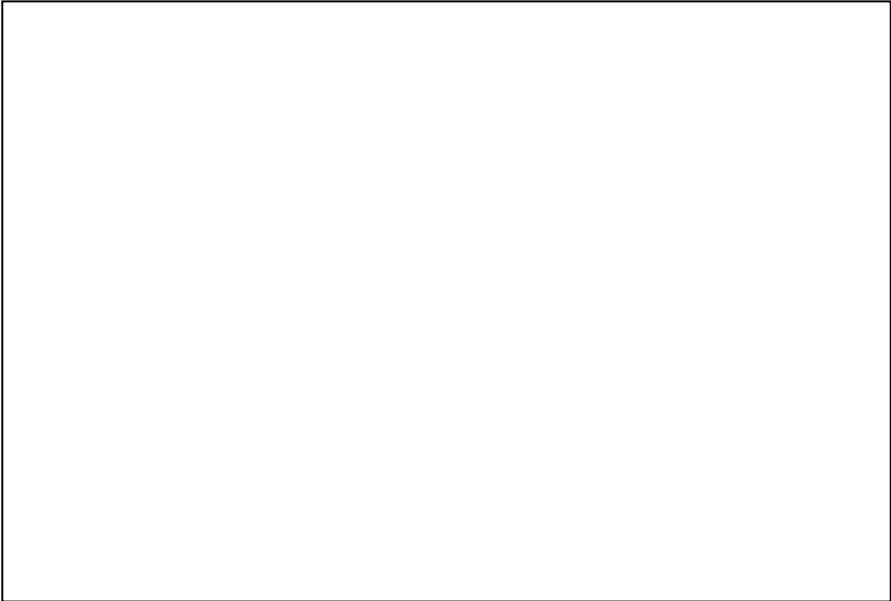
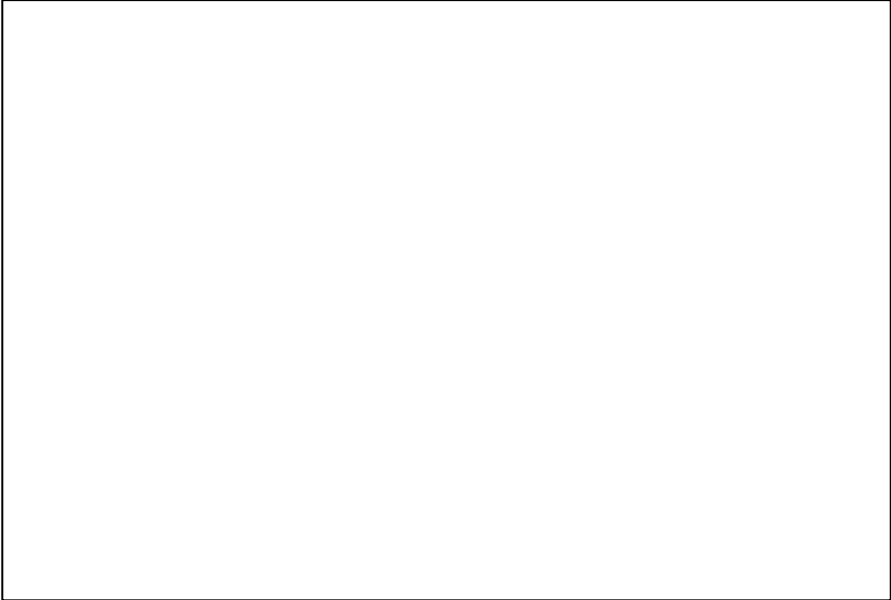


PHOTO 27



<i>I.I.6. : Description de la souche <i>Aspergillus fischeri</i></i>		
<u>Téléomorphe</u> : <i>Neosartorya fischeri</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek Les cleistothèces sont formés à 25°C, tandis que le stade an amorphe domine à 35°C, température décroissance 26- 45 °C.	Pousse sur milieu de Sabouraud à 2% de glucose (pH 5,6) ainsi que sur milieu Czapek (pH de 6), à 30°C jusqu'à 37°C. Atteint ~ 4,5 cm de diamètre après 4 jours.
Caractères culturaux	Colonies blanc beige avec des zones bleu-gris et des granulations blanc crème, les cleistothèces, visibles à l'œil nu.	Colonie blanc-beige avec des zones bleu-gris, plate, poudreuse, à contour régulier et à croissance stratifiée (photo28). Revers jaune (photo29).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Cleistothèces à paroi cellulaire très fine ; asque avec ascospores en forme de poulie ou moins rugueuses. - têtes conidiennes unisériées, cylindriques; - conidiophores allongés, vert gris ; - phialides groupés sur la moitié ou les trois quarts supérieurs de la vésicule, verdâtres. - conidies sub-globuleuses à elliptiques, rugueuses. 	Tête aspergillaire uni sériee du groupe fumigatus (photo30), vertes, de taille assez grande ; conidiophores allongés ; courtes phialides groupées sur la moitié ou les trois quarts supérieurs de la vésicule, verdâtre.

Analogie phénotypique: 50%

PHOTO 28

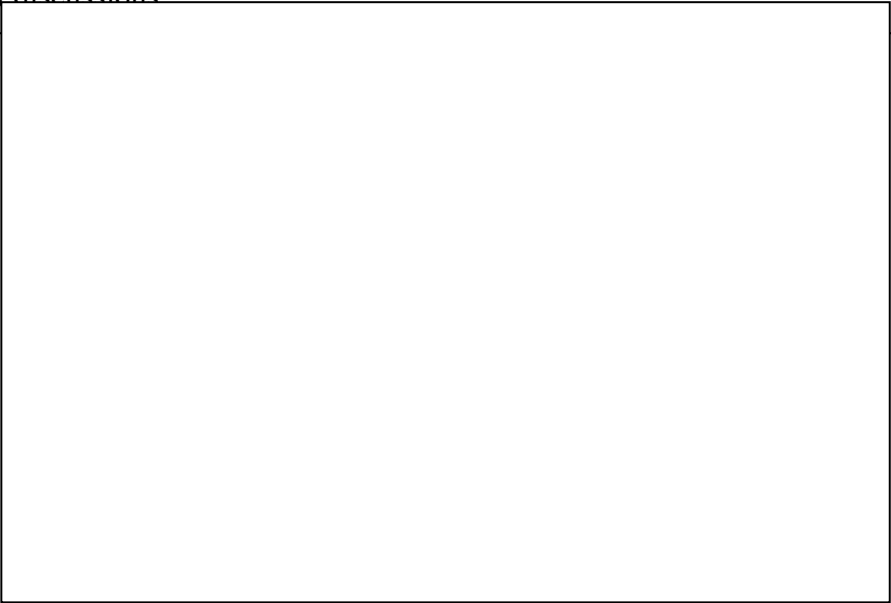


PHOTO 29

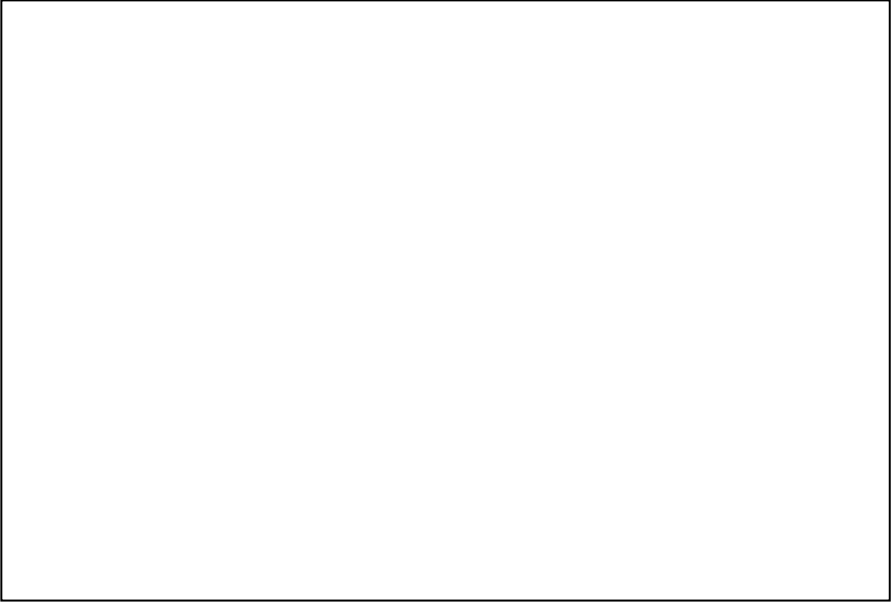


PHOTO 30



<i>I.I.7. : Description de la souche <i>Aspergillus flavipes</i></i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture		Pousse très rapidement sur milieu de Sabouraud glucosé à 2 % à pH de 5,6 et à 37°C. La colonie atteint 5 cm de diamètre après 5 jours d'incubation.
Caractères cultureux	Thalle blanc à chamois pâle ; revers brun- jaune à brun rouge ; Exsudat formant de grosses gouttelettes ambrées.	Colonie plate, farineuse, blanche au stade jeune, virant plus tard au beige puis au chamois pâle ; elle est ombiliquée, à contour plus ou moins régulier. A la surface apparaissent des grains de couleur beige (photo31). Revers et milieu de culture bruns (photo32).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, cylindriques ou radiées suivant les souches ; - conidiophores lisses, brun-jaune ; - vésicules sub-globuleuses, ovées, ou allongées, peu colorées ; - métules et phialides réparties sur toute leur surface ; - conidies globuleuses à subglobuleuses à paroi épaisse. 	<p>Tête conidienne bisériée, radiée (photo33);</p> <p>Conidiophore lisse, hyalin ;</p> <p>Vésicule sub-globuleuse allongée, elle porte des métules et des phialides dressés, parallèles, couvrant toute sa surface.</p> <p>Conidies globuleuses à sub-globuleuses lisses.</p>

Analogie phénotypique: 75 %.

PHOTO 31

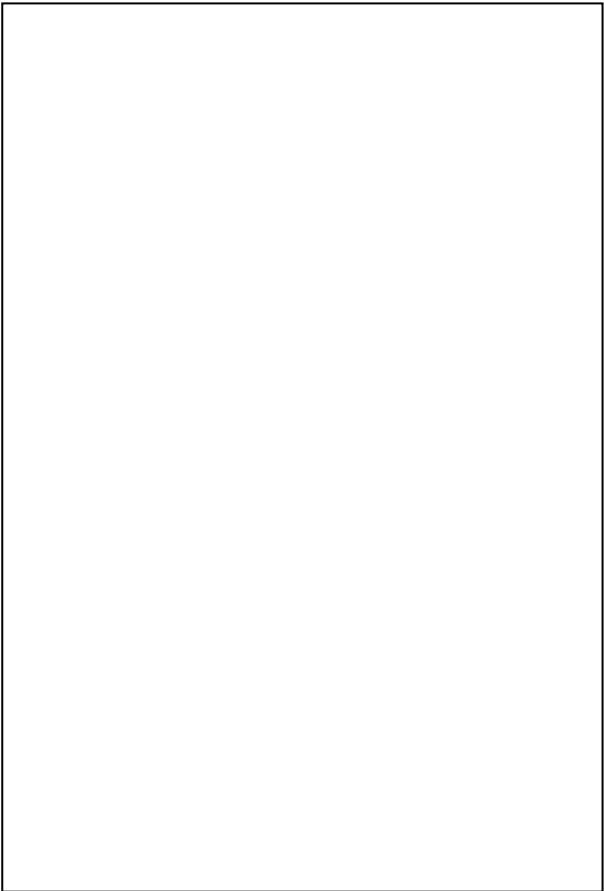


PHOTO 32

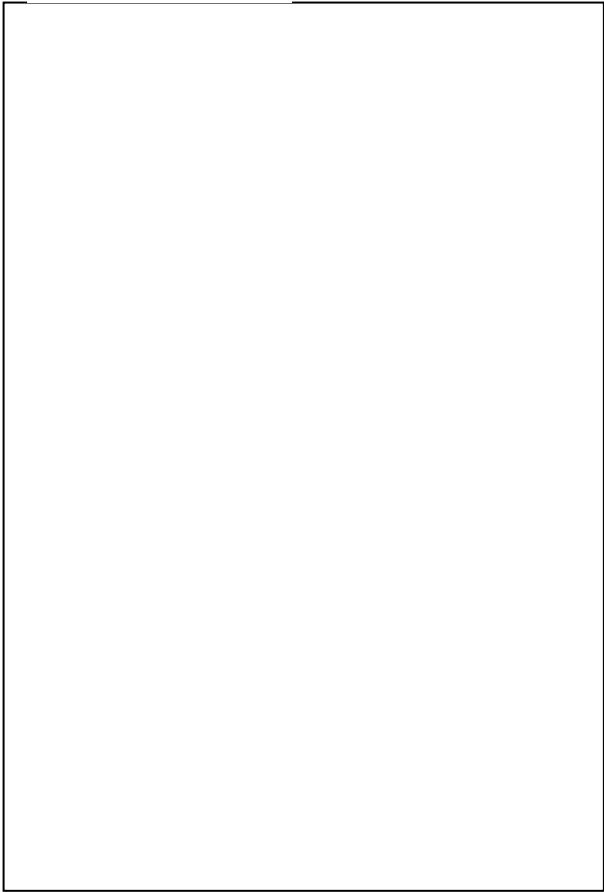
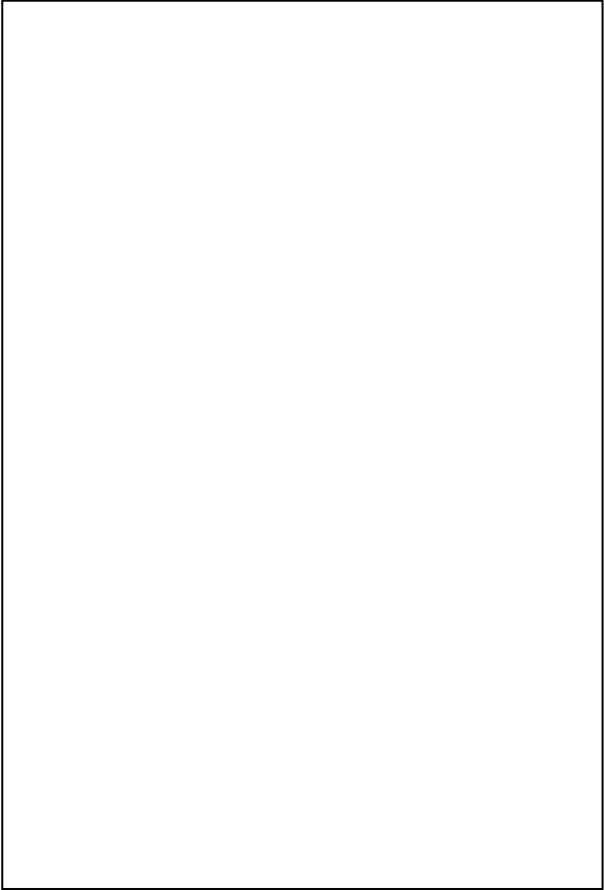


PHOTO 33



<i>I.I.8. : Description de la souche Emerciella nidulans</i>		
<i>Anamorphe : Aspergillus nidulans</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt à 24 c°, atteignant 6- 7 cm de diamètre au bout de 7 jours.	Croissance très lente à 25°C, plus rapide à 30°C –35°C ; atteint ~3 cm de diamètre après 5 jours d’incubation sur milieu Czapek à pH 6,8.
Caractères cultureux	- Colonies vert foncé avec des granulations blanc crème ; revers rouge à brun rouge.	Colonie plate, à contour irrégulier, poudreuse, blanche au stade juvénile virant au vert cresson, à marge blanche, puis entièrement vert pistache avec des granulations blanc crème (photo34). Elle présente de grosses gouttelettes incolores sur le vieux mycélium. Revers rouge-brun (photo35) ; ce serait dû à la production d’un pigment : asperthécine. Présence de cleistothèces.
Aspect microscopique	- Têtes conidiennes bisériées allongées ; - conidiophores à paroi brune, lisses, courts ; - cellule podale bien distincte ; - vésicules fertiles au sommet ; - conidies en chaînettes, rondes, rugueuses ; - Cleistothèces rougeâtres entourées de cellules rondes à paroi épaisse : Hüll-cells, à ne pas confondre avec les asques, qui, eux, contiennent des ascospores.	Tête aspergillaire courte, en colonne ; Conidiophore lisse, court, en pied à la base ; Vésicule hémisphérique brune, recouverte à la partie supérieure de deux séries de stérigmates (photo36) qui produisent des spores lisses, globuleuses ; Présence de cellules creuses en noisette « Hüll cells » (photo37 a-), autour des cleistothèces de couleur brun-rouge (photo37 b-).

Analogie phénotypique: 92,30 %.

PHOTO 34

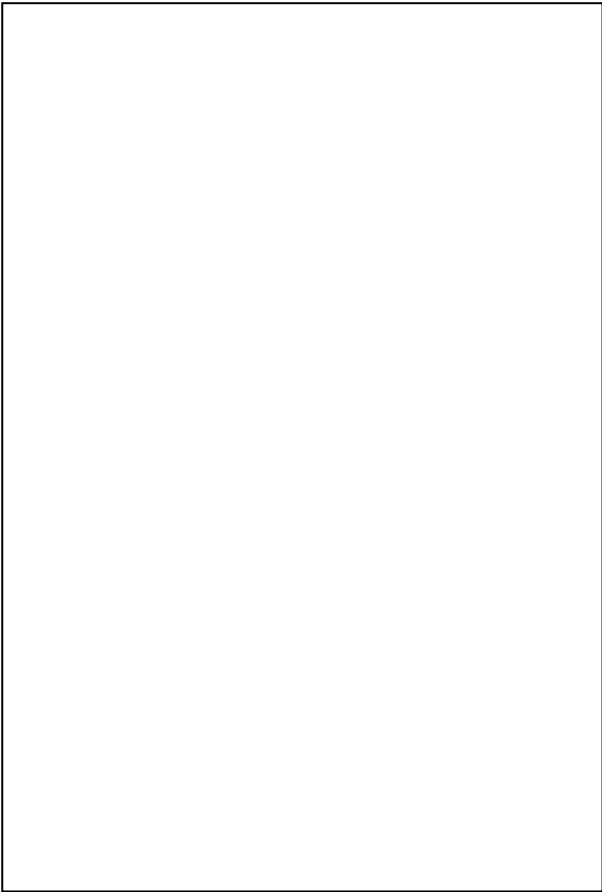


PHOTO 35

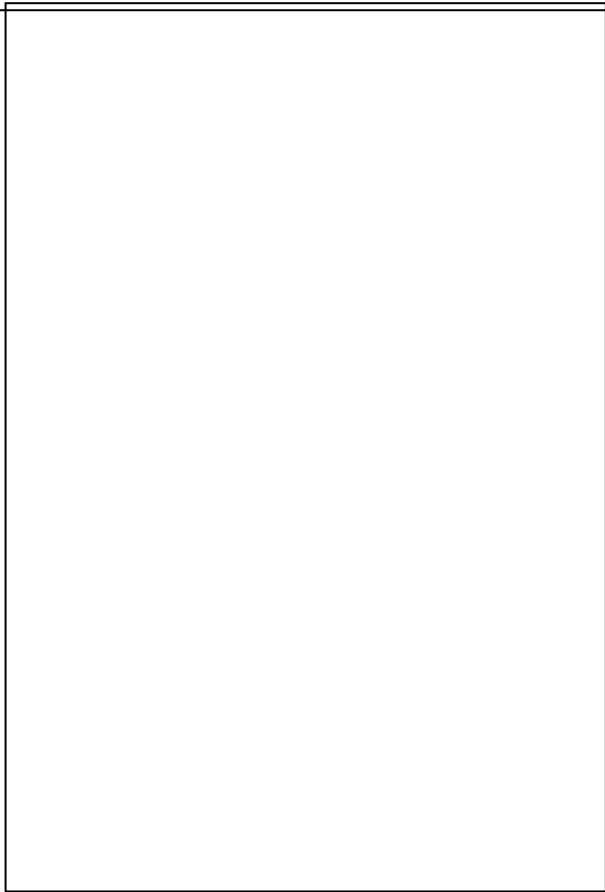


PHOTO 36

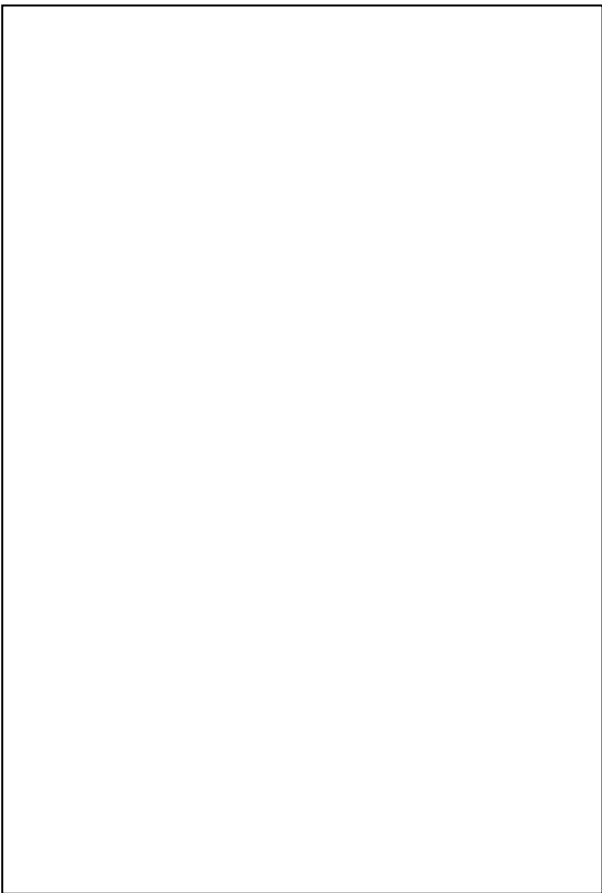
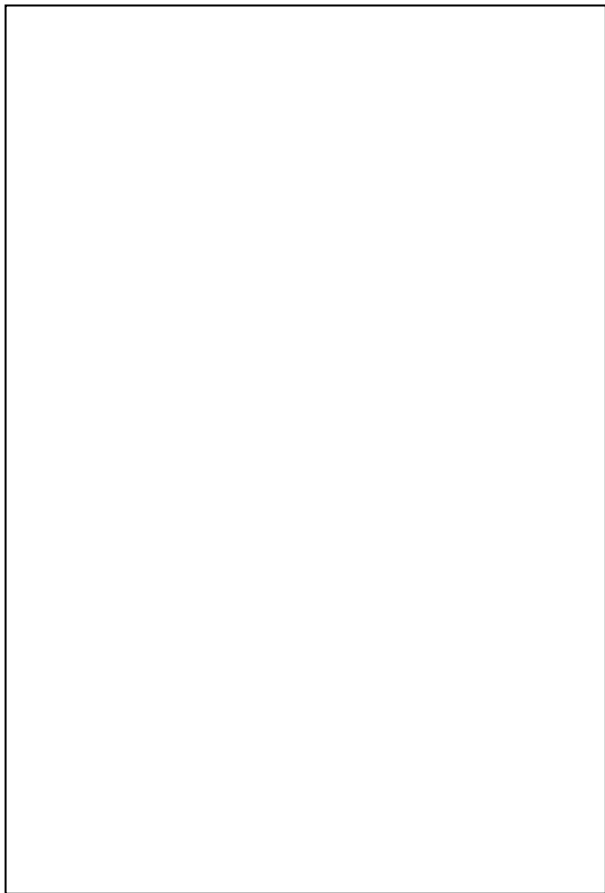


PHOTO 37



<i>I.I.9.</i> : Description de la souche <i>Aspergillus sydowi</i>			
		souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture			Pousse sur milieux Czapek simple (pH de 6,8) et concentré (pH de 5), à 35°C. Elle se propage par petites colonies.
Caractères cultureux	Thalle bleu puis bleu-vert très marqué à revers rouge corail à marron, parfois presque noir.		Colonie plate, farineuse, d'abord blanche puis bleue à bleu-vert pâle ; floconneuse au centre en raison du duvet jaune-soufre qui apparaît à partir du cinquième jour. Contour plus ou moins régulier, échancré, atteignant ~ 1 à 1,5 cm en fin de croissance (photo38); revers brun-rouge après un mois (photo39), présence d'exsudat incolore sur le duvet jaune.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, radiées ; - conidiophores hyalins, lisses, - vésicules sub-globuleuses ; - métules et phialides. - conidies globuleuses à sub-globuleuses nettement échinulées vertes. 		Tête aspergillaire bisériée, radiée (photo40); conidiophore hyalin, lisse ; vésicule sub-globuleuses à métules et phialides couvrant les deux tiers supérieurs ; conidies globuleuses à sub-globuleuses lisses.

Analogie phénotypique: 83 %

PHOTO 38

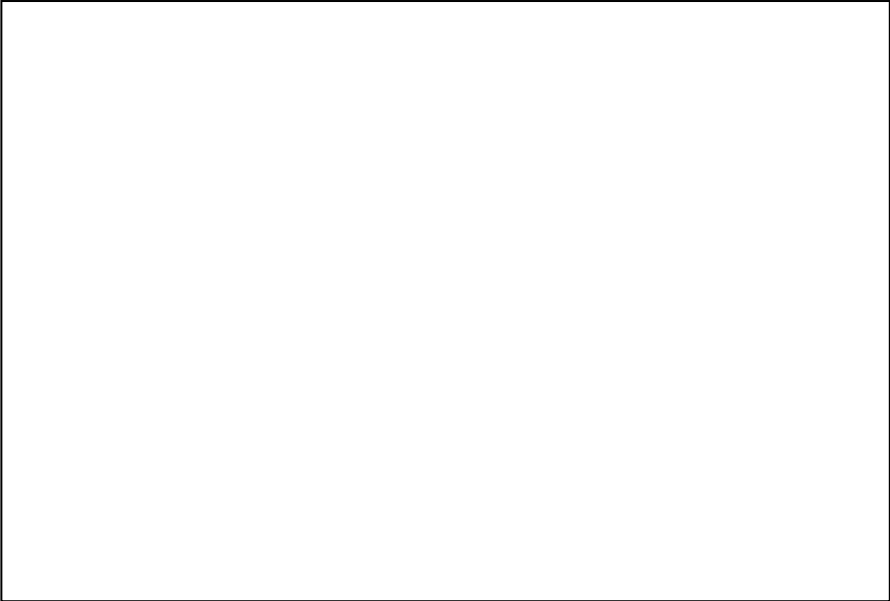


PHOTO 39

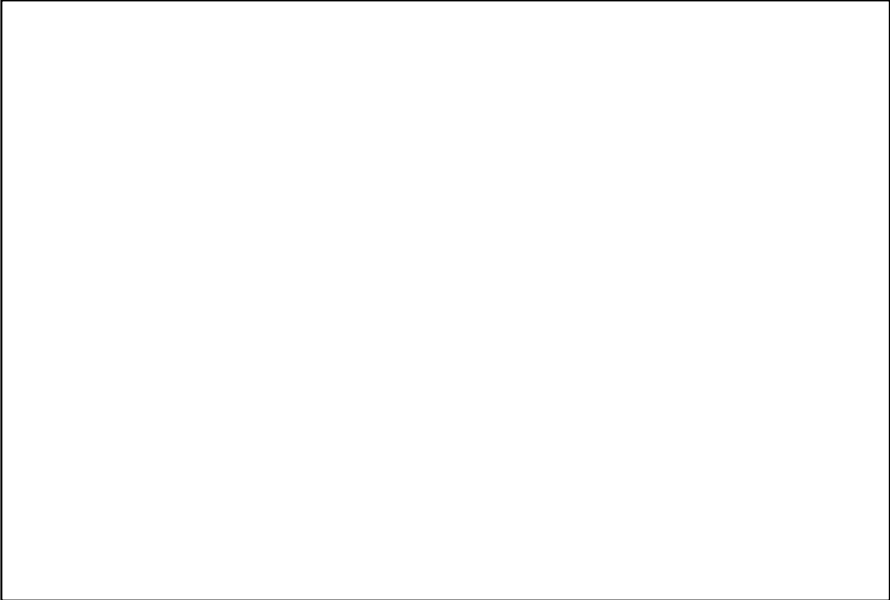
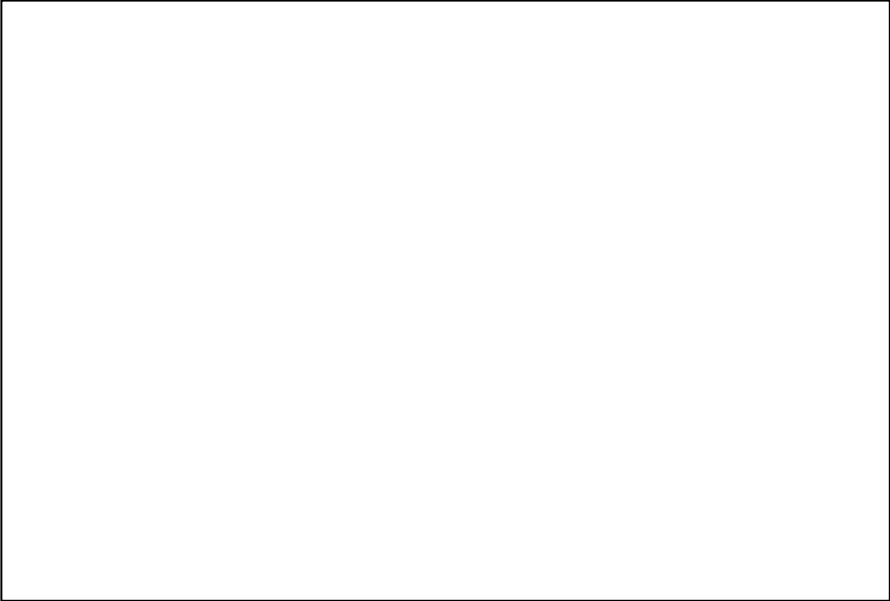


PHOTO 40



I.1.10. : Description de la souche *Aspergillus sp. 1*

	souche de référence <i>Aspergillus versicolor</i>	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 25 c° ; atteint 1,0 à 1,5 cm de diamètre en 7 jours	La souche croit sur milieux OGYA (à pH 7) et Czapek concentré (à pH5) et sur milieu de Sabouraud + chloramphénicol (à pH de 5,6); la croissance est possible à 25°C , à 30°C et 37°C. La colonie atteint 1,5 à 3 cm de diamètre 10 jours.
Caractères culturaux	Thalle d'abord blanc puis virant au jaune plus ou moins foncé, chamois et même rose par place. Revers hyalin ou rosé à rouge foncé.	Après 72 heures d'incubation à 25°C la colonie est blanche devenant jaunâtre avec le temps, duveteuse, feutrée à veloutée en moquette, peu élevée, adhérente au milieu, présentant des rides ; le contour étant lobé, irrégulier (photo41). Revers jaune à brun-orangé (photo42). Sur milieu de Sabouraud les colonies vieilles présentent des gouttelettes incolores à leur surface.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, radiées, - conidiophores incolores ou jaunâtres, lisses ; - vésicules subglobuleuses, portant deux étages de stérigmates. - conidies globuleuses à échinulées. 	<p>Tête aspergillaire bisériée, radiée à sub-cylindrique (photo43);</p> <p>Conidiophore lisse, hyalin, assez long ;</p> <p>Vésicule sub-globuleuse ou peu allongé, fertile sur les 2/3 supérieurs avec 2 séries de stérigmates (photo44) hyalins à verdâtres produisant des spores globuleuses lisses.</p>

Analogie phénotypique: 80 %

PHOTO 41

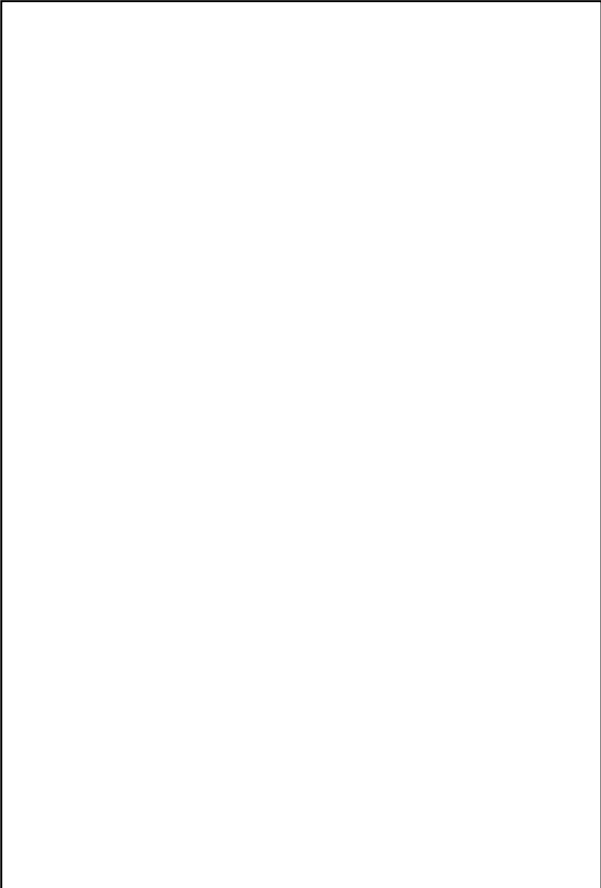


PHOTO 42

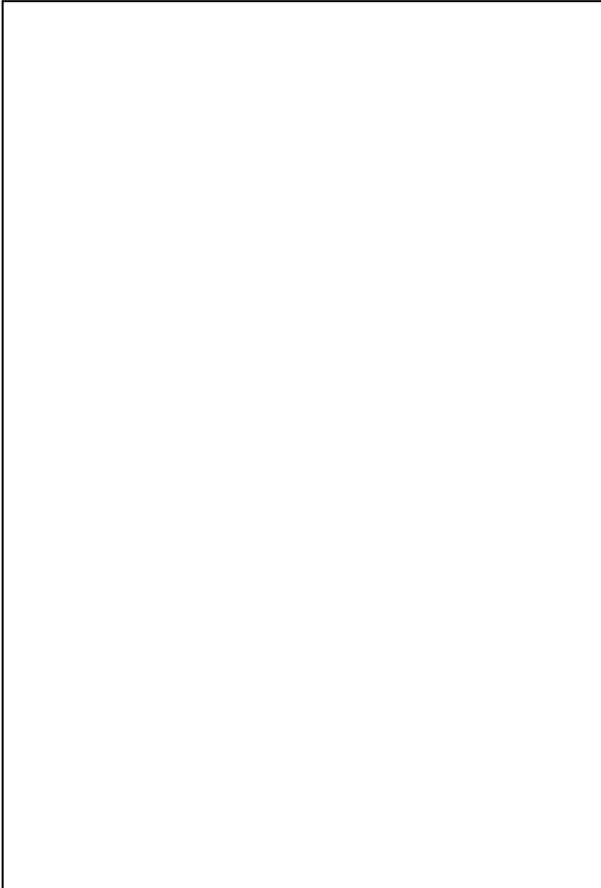


PHOTO 43

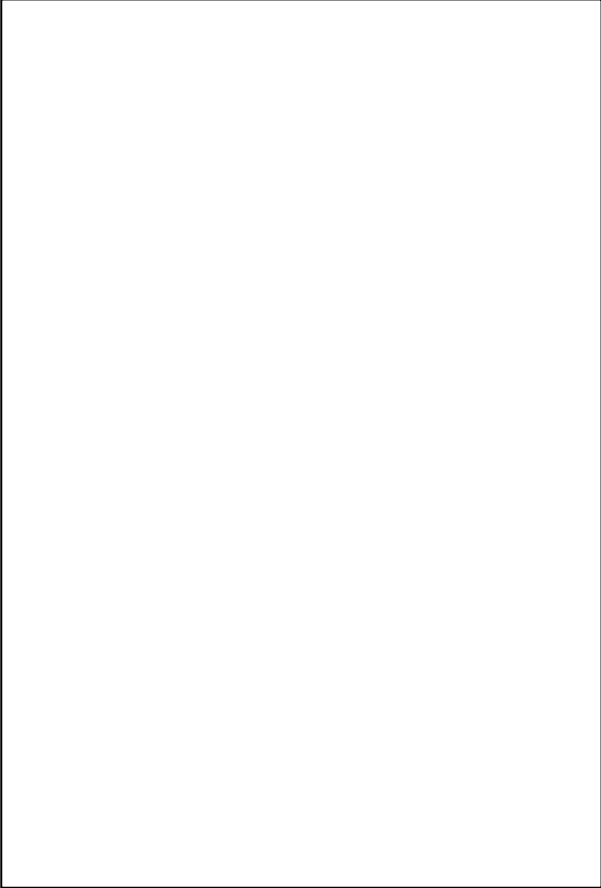
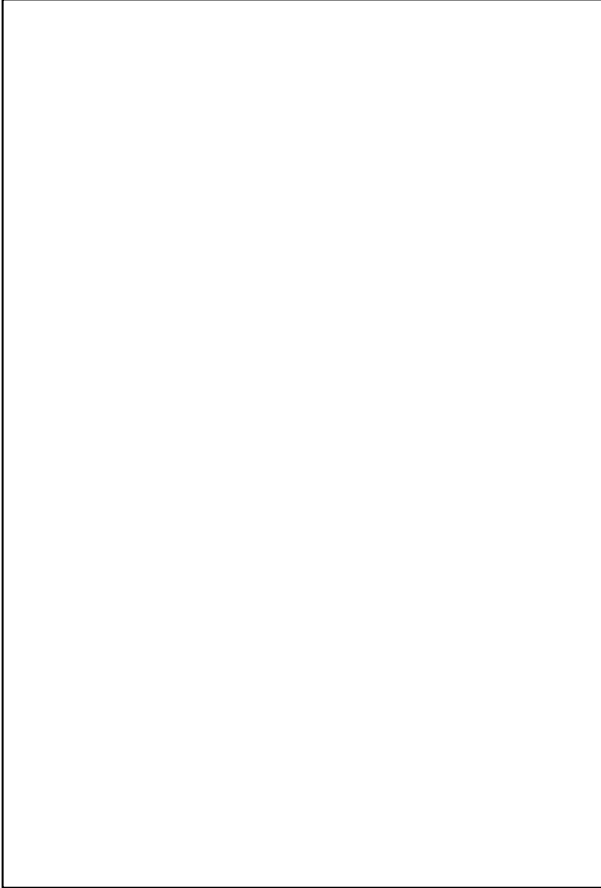


PHOTO 44



I.I.II. : Description de la souche *Aspergillus sp. 2*

- **Conditions de culture**

La croissance sur milieux Czapek simple (pH 6,8) et concentré (pH 5) débute après 24 heures. La colonie est de 1 cm de diamètre au bout de 5 jours ; elle pousse à pH = 5-6,8 et à température de 25°C, mieux à 30°C, cette souche ne pousse pas à 37°C.

- **Caractères culturaux**

Colonie bombée, veloutée, dense en moquette, d'un blanc cassé (photo45) pouvant virer au violet pâle après 3 semaines ; elle est de forme irrégulière et à contour lobé.

Elle disperse de petites colonies filles, à contour régulier et d'un diamètre allant de 0,2 - 0,7 cm, à toute la surface de la gélose, après une semaine.

Revers Jaune-brun, devenant brun-noir en vieillissant (photo46).

- **Aspect microscopique**

- Tête aspergillaire, globuleuse à radiée (photo47);
- Conidiophore hyalin, lisse, fortement rétréci sous la vésicule ;
- Vésicule allongée à conique, petite, fertile sur le 1/3 supérieur de deux séries superposées de stérigmates (photo48).

- **Analogie phénotypique avec la souche**

de référence *A. foetidus* : 72 % (voir page 96).

- **Analogie phénotypique avec la souche**

de référence *A. versicolor* : 86% (voir page 92).

PHOTO 45

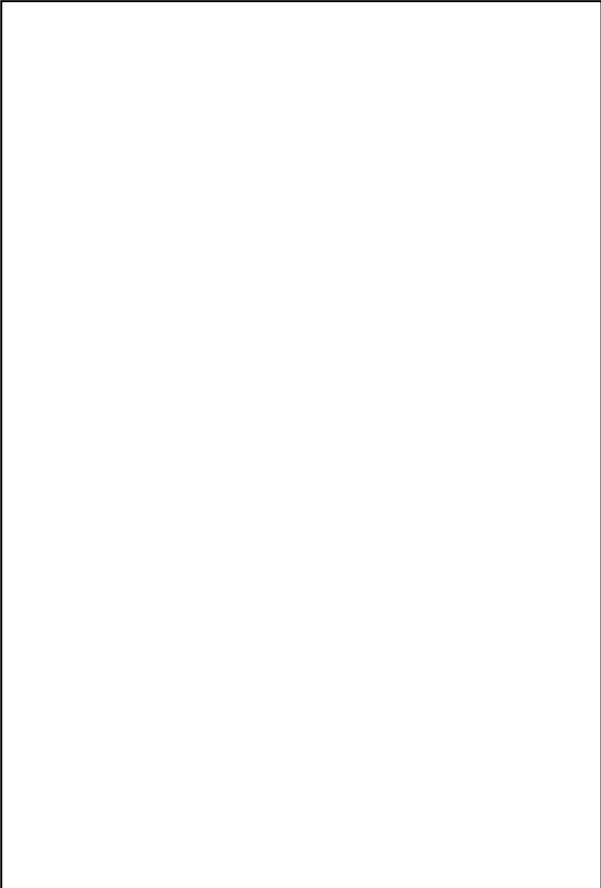


PHOTO 46

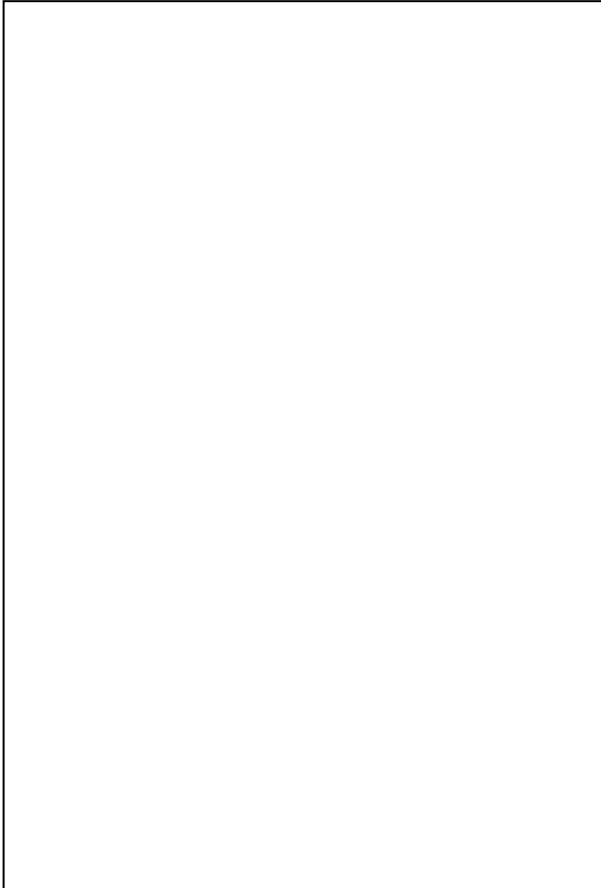


PHOTO 47

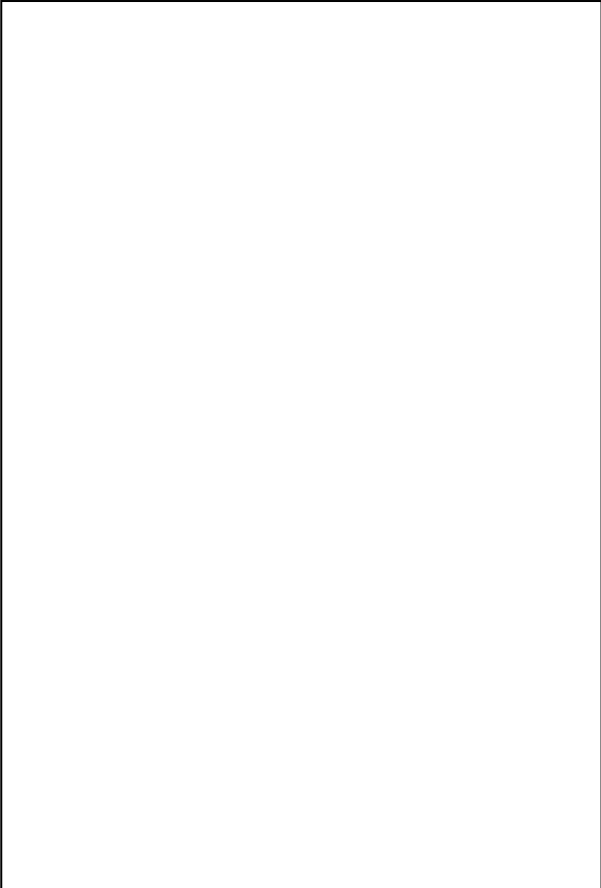
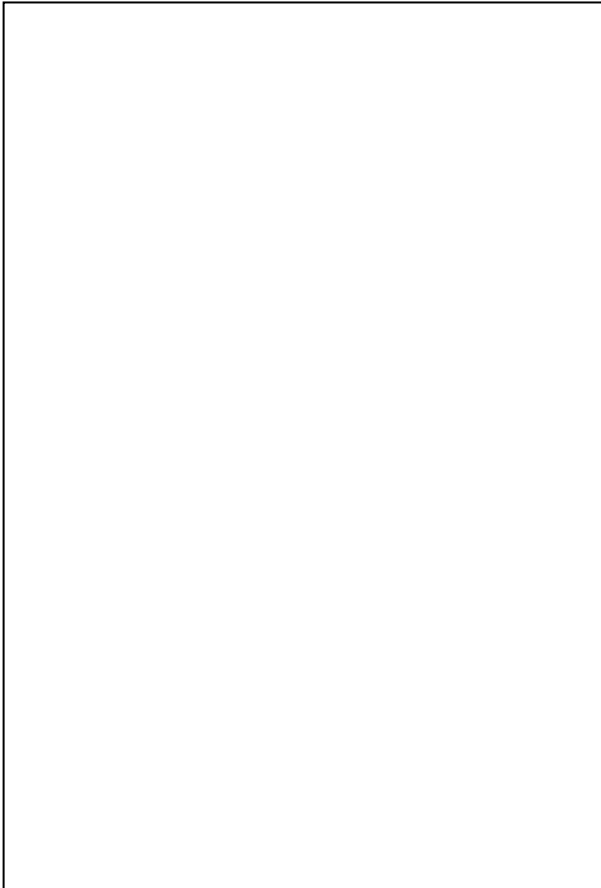


PHOTO 48



<i>I.I.12. : Description de la souche <i>Aspergillus foetidus</i></i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Thalle à croissance relativement lente sur milieu Czapek	Pousse sur milieu Czapek de pH ~6,8 à 30°C, ne dépasse pas 1cm de diamètre en fin de croissance.
Caractères cultureux	Mycélium blanc ou jaune, à revers jaune ou orangé virant au brun.	Thalle blanc à jaunâtre, revers jaune virant au brun noir (photo49) ; colonie d'un aspect velouté en moquette, bombée, à contour régulier, se propage en émettant de nombreuses petites colonies autour d'elle sur toute la gélose (photo50).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, globuleuses à radiées, brun olive à brun grisâtre. - conidiophores lisses, hyalins ou brunâtres vers le haut. - vésicules sub-globuleuses ou un peu allongées. - métules brunâtres, phialides brunâtres ; - conidies globuleuses, brunes presque lisses, finement verruqueuses. 	<p>Tête conidienne bi sériée radiée, brunâtre, en forme de pinceau (photo51);</p> <p>Conidiophore lisse hyalin ;</p> <p>Vésicule de forme conique, portant des métules et des phialides brunâtres ;</p> <p>Conidies petites et globuleuses.</p>

Analogie phénotypique: 58%.

PHOTO 49

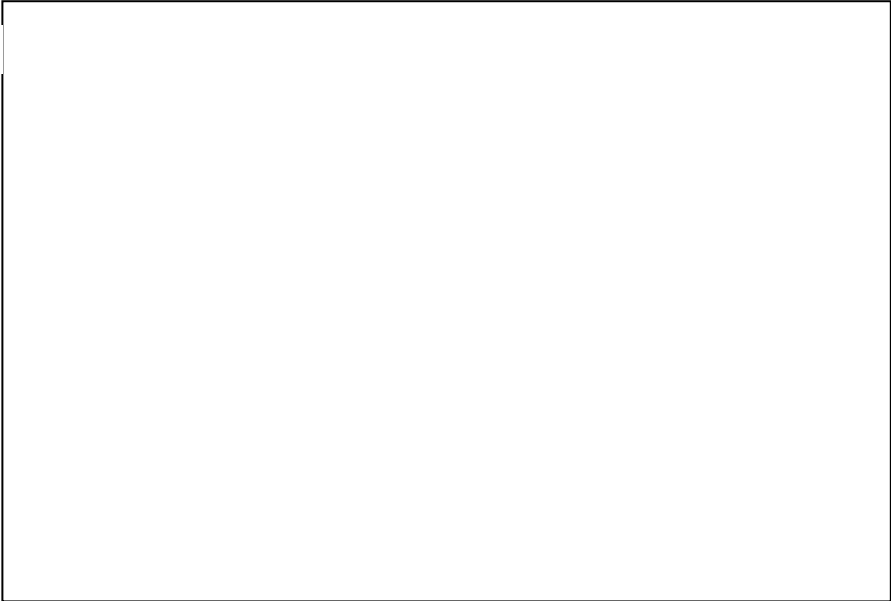


PHOTO 50



PHOTO 51



<i>I.I.13. : Description de la souche <i>Aspergillus sp. 3</i></i>		
	souche de référence <i>Aspergillus japonicus</i>	souche à identifier
Conditions de culture		<p>Pousse sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose, à 30°C et à 37°C, moins rapidement à 25°C. Le pH de croissance va de 5,6 à 7.</p> <p>La colonie est de 0,5 à 0,8 cm de diamètre au bout de 72 heures et atteint 3,5 cm après 5 jours à 25°C.</p>
Caractères cultureux	<p>Cette espèce se singularise à l'intérieur du groupe Niger par un thalle pourpre-brun à maturité.</p>	<p>Colonie blanche granuleuse, présentant un mycélium aérien plus ou moins abondant, fasciculé.</p> <p>Après 5 jours, le mycélium aérien disparaît, la colonie est plate à contour échancré, irrégulier et l'on marque la présence de grains brun-noir (à maturité) (photo 52).</p> <p>Elle présente un exsudat et un revers incolore, en présence de souche contaminante du genre <i>Penicillium</i>, le revers devient jaune (photo 53) ; ce serait en raison de la production d'un métabolite secondaire.</p>
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes strictement unisériées ; - vésicules petites ; - conidies globuleuses échinulées ; - sclérotés différenciés par certaines souches blanc à crème. 	<p>Tête aspergillaire globuleuse à sub-globuleuse ;</p> <p>Conidiophore hyalin, rugueux ;</p> <p>Au dessus de la vésicule 1e seule série de phialides courtes, couvrant le $\frac{3}{4}$ de la vésicule (photo 54).</p>

Analogie phénotypique: 71,42%.

PHOTO 52

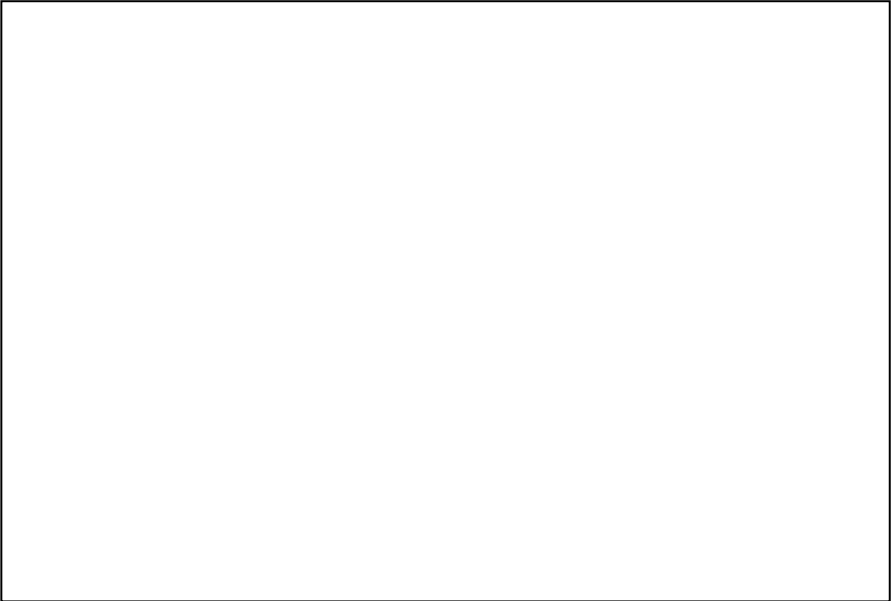
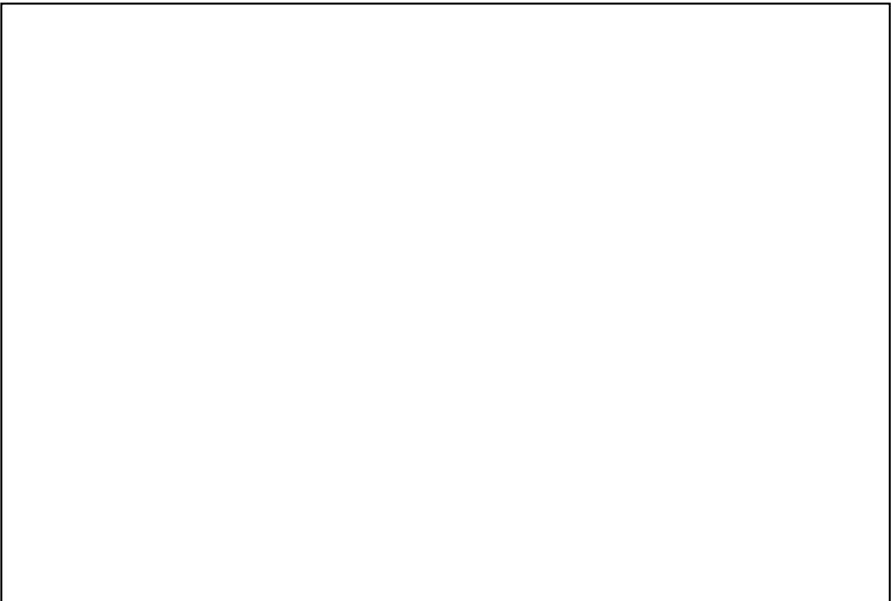


PHOTO 53



PHOTO 54



I.I.14. : Description de la souche <i>Aspergillus niger</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 25°C; atteint 4-5 cm de diamètre après 7 jours.	Pousse sur milieu sabouraud simple ou additionné à la gentamicine ou au chloramphénicol, sur milieu Czapek et sur OGYA, dont les pH varient de 6 à 6,8 ; elle dépasse 7 cm après 7 jours d'incubation à 25°C–30°C.
Caractères cultureux	Thalle blanc ou jaunâtre à mycélium aérien noir- brunâtre foncé ou noir.	Colonie plate, blanche à contour régulier, présente un mycélium aérien ras abondant portant des têtes conidiennes noires (photos 55, 57) à l'origine de l'aspect granuleux de la colonie. Revers blanc jaunâtre marquant des plis radiaires et un bouton central (photo56). La colonie est envahissante après 12 jours.
Aspect microscopique	Têtes conidiennes bisériées, radiées, se scindant en plusieurs colonnes ; - conidiophores de 1,5 à 3mm de long lisses, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure. - vésicules globuleuses, entièrement par une série de métules brunâtres variables ; - phialides produisant des conidies globuleuses parfois légèrement aplaties, brunes, échinulées à très verruqueuses.	Tête aspergillaire radiée, noire brunâtre (photo59) ; conidiophore hyalin à brun, d'un large diamètre, lisse, à paroi épaisse (photo60); vésicule entièrement fertile (photo61).

Analogie phénotypique: 95 %

PHOTO 55

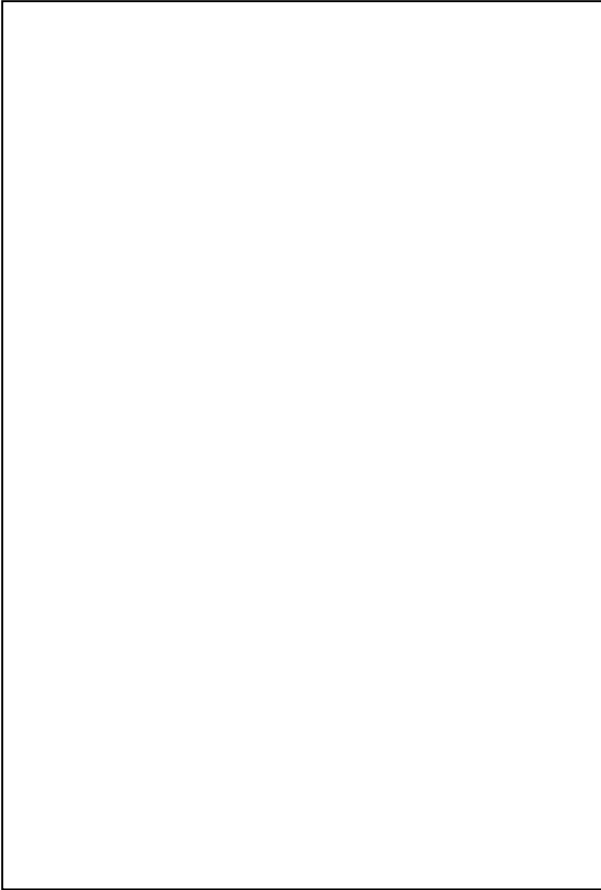


PHOTO 56

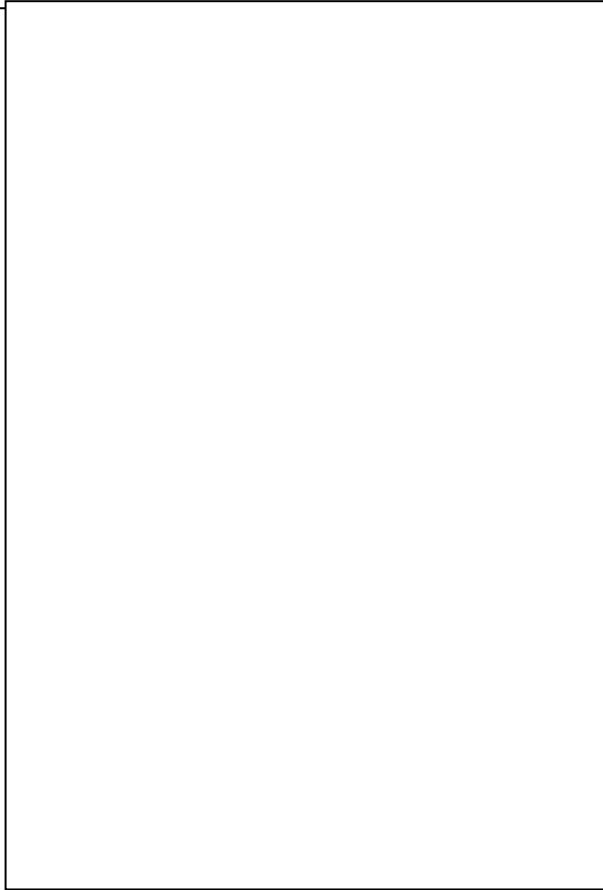


PHOTO 57

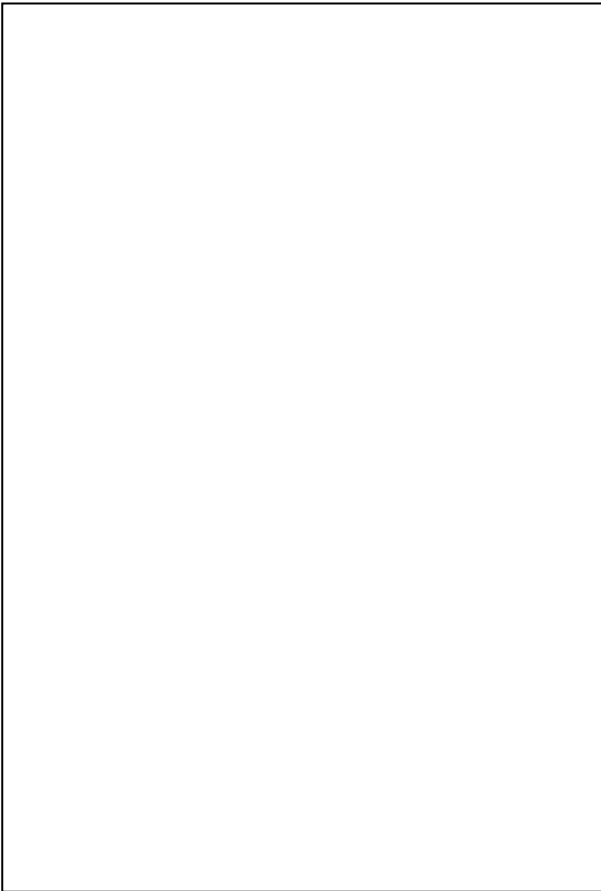


PHOTO 58

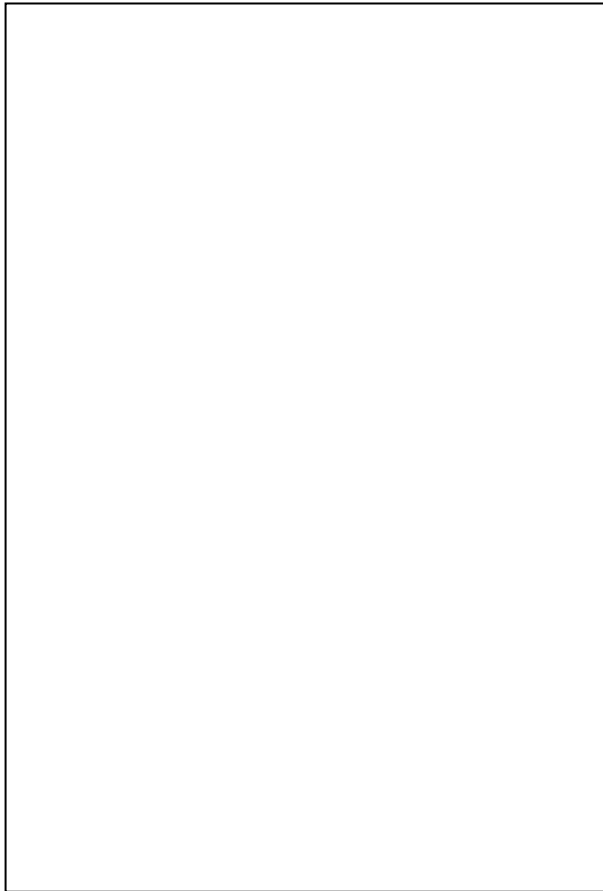


PHOTO 59

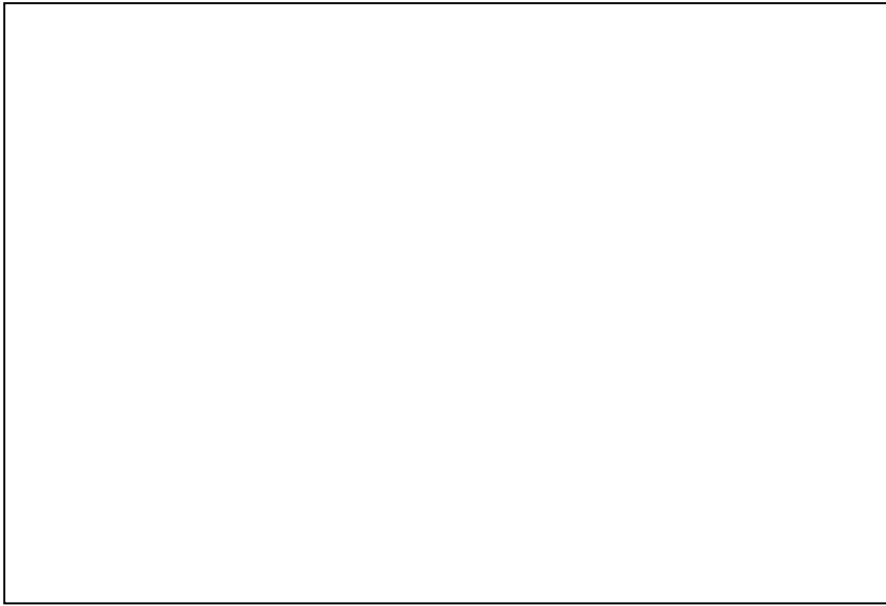


PHOTO 60

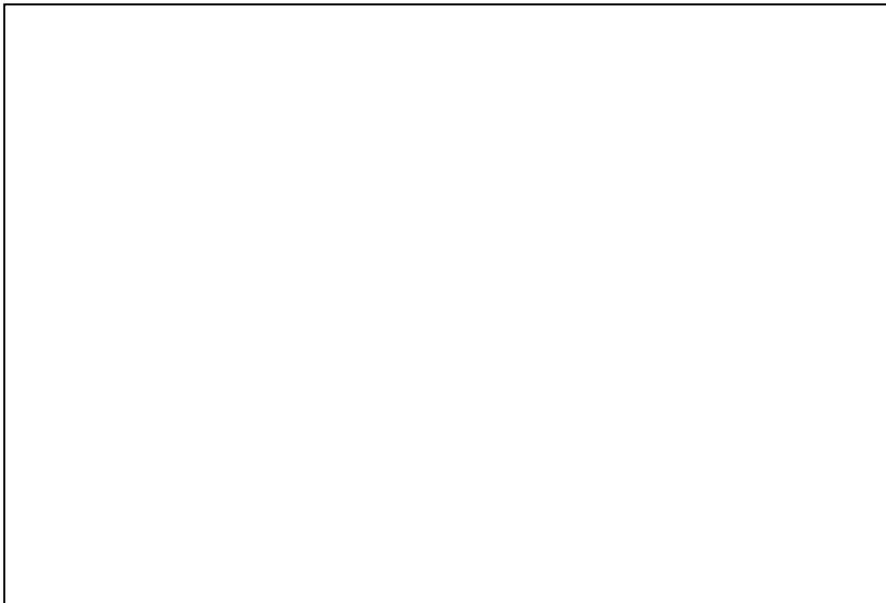


PHOTO 61



<i>I.I.15.</i> : Description de la souche <i>Aspergillus parasiticus</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Les colonies poussent à 25 c° sur milieu Czapek atteignant 2,5 à 3,5 cm de diamètre au bout de 7 jours.	Pousse sur milieu Sabouraud à 25°C à un pH allant de 6 à 6,8 ; atteint ~1 cm de diamètre au bout de 72 heures.
Caractères cultureux	Mycélium aérien d'un vert plus foncé que celui de <i>Aspergillus flavus</i> dont il est voisin.	Thalle poudreux à mycélium aérien ras, très abondant, de couleur d'abord jaune verdâtre, virant au vert foncé (photo 62) après 5 jours d'incubation à 25°C. La colonie est envahissante par extension et également par production de colonies filles sur toute la gélose ; elle est ombiliquée avec quelques plis radiaires, le revers étant dans les tons du jaune-orangé (photo 63).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes exclusivement unisériées, radiées ; - conidiophores - vésicules globuleuses; phialides apparaissent directement sur les vésicules. - conidies globuleuses très verruqueuses ou fortement échinulées. 	<p>Tête aspergillaire radiée uni sériée verte (photo 64 a-);</p> <p>conidiophore lisse, incolore (photo 64 b-) ;</p> <p>vésicule hémisphérique ;</p> <p>phialides larges, couvrant toute la vésicule ;</p> <p>conidies globuleuses, vertes, fortement crénelées (photo 65).</p>

Analogie phénotypique: 89 %

PHOTO 62

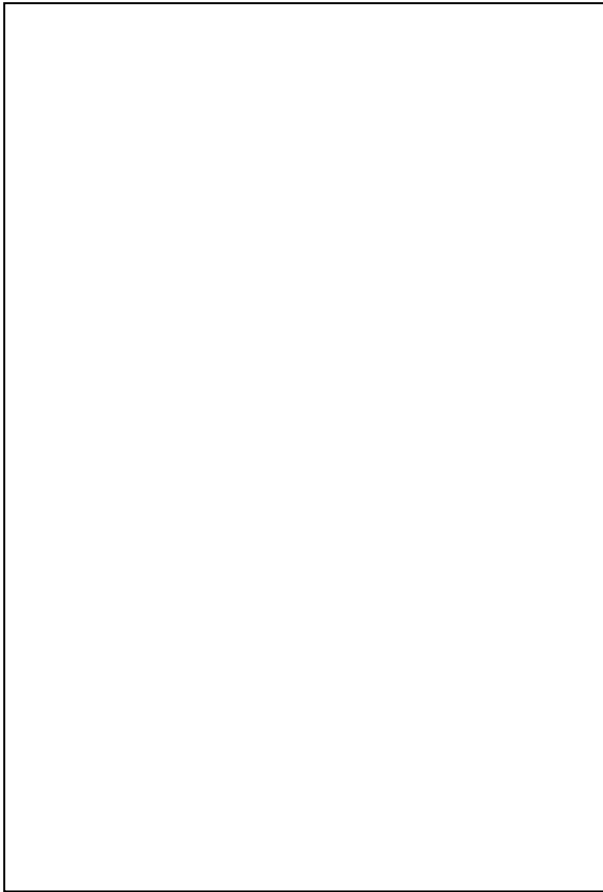


PHOTO 63

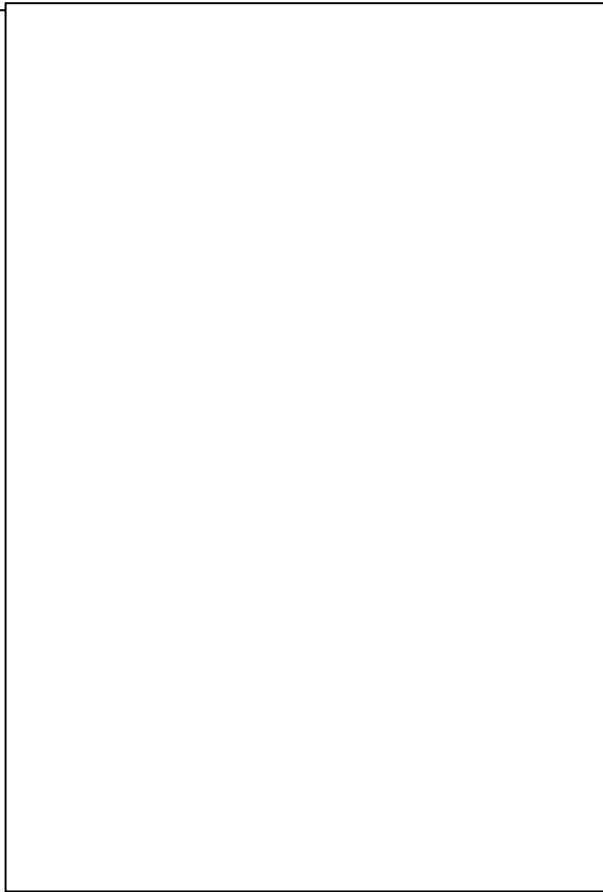


PHOTO 64

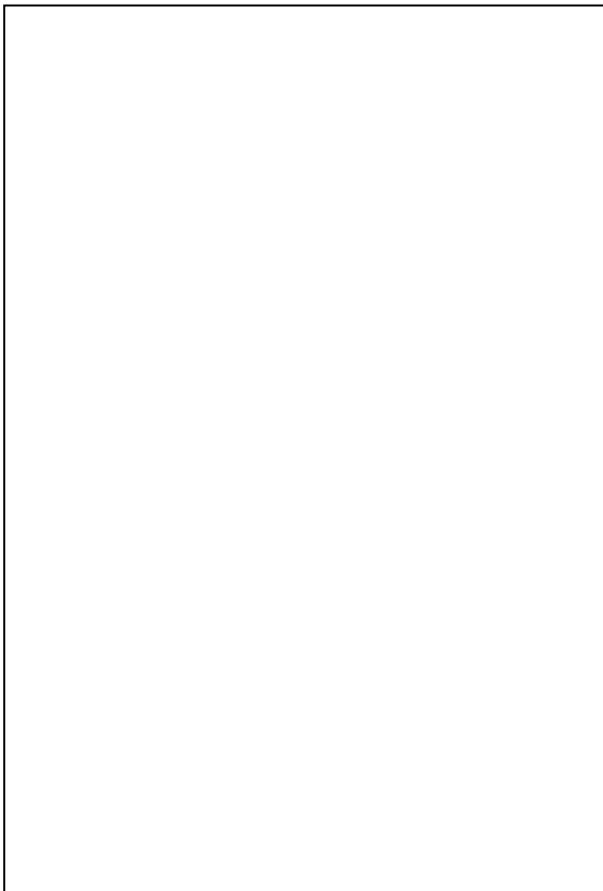
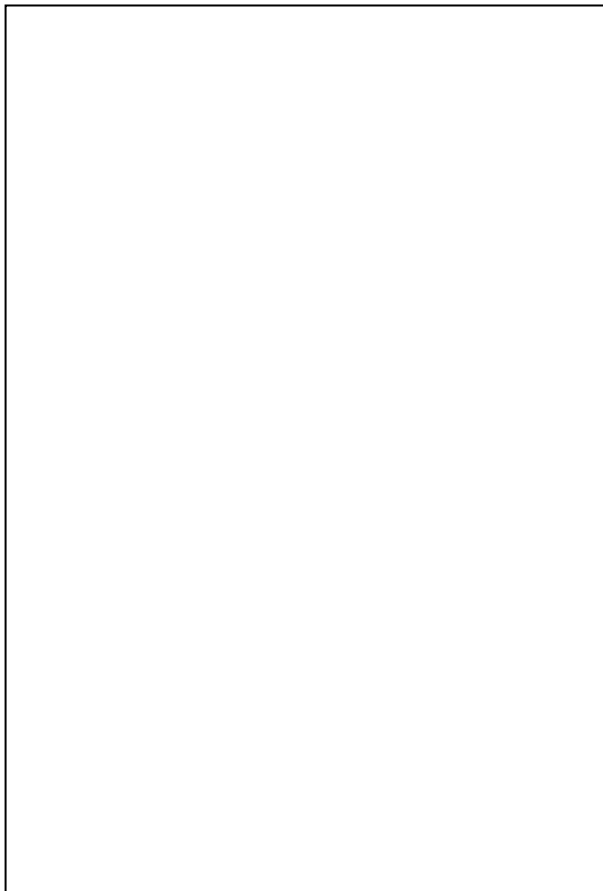


PHOTO 65



I.I.16. : Description de la souche <i>Aspergillus flavus</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Colonie pousse sur milieu Czapek à 25 c°; atteint 3 à 5 cm de diamètre au bout de 7 jours	Croissance rapide sur milieu Czapek à 25°C, avec un pH de 6,8 atteint 4,5 cm de diamètre en 7jours d'incubation.
Caractères cultureux	Mycélien aérien abondant, d'abord jaunâtre puis vert-jaune foncé ; Revers incolore, rosâtre à brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés.	Thalle d'abord blanc floconneux, devenant tardivement poudreux, plat, jaune-verdâtre puis vert foncé au centre, contour régulier (photo 66), revers jaunâtre, présentant un brun-rouge très foncé au niveau du vieux mycélium (photo 67). Avec des plis radiaires.
Aspect microscopique	Têtes conidiennes unisériées ou bisériées, radiées, puis se scindant en plusieurs colonnes sporales; - conidiophores hyalins, verruqueux, longs ; - vésicules sub-globuleuses, vert pâle, verruqueuses; - sclérotés d'abord blancs, puis virant au brun- rouge foncé et au noir.	Tête conidienne uni ou bi sériée, radiée (photo 68 a-), conidiophore hyalin, verruqueux (photo 68 b-), long ; vésicule sub-globuleuse, presque entièrement fertile par deux étages de phialides . Conidies globuleuses à sub-globuleuses, verruqueuses volumineuses à paroi épaisse (photo 68 c-).

Analogie phénotypique: 85 %

PHOTO 66

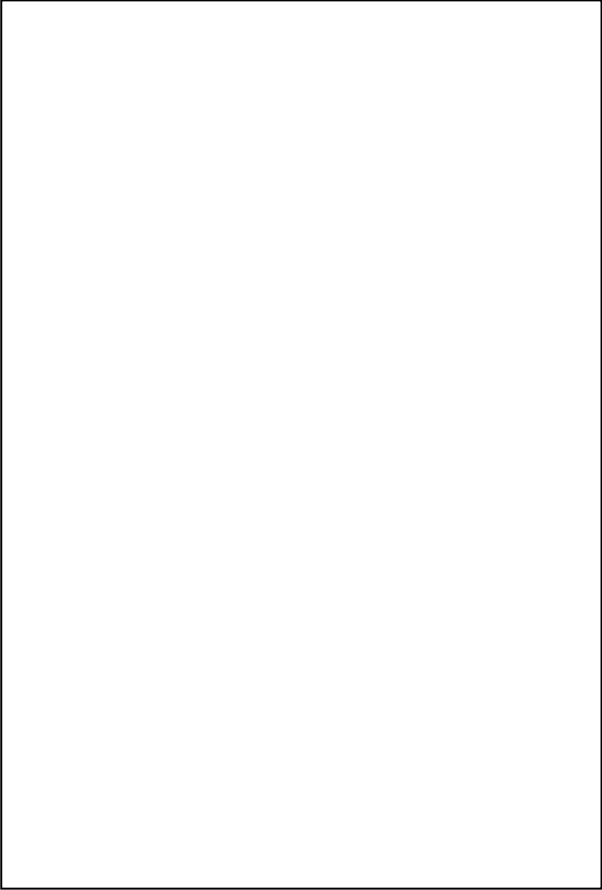


PHOTO 67

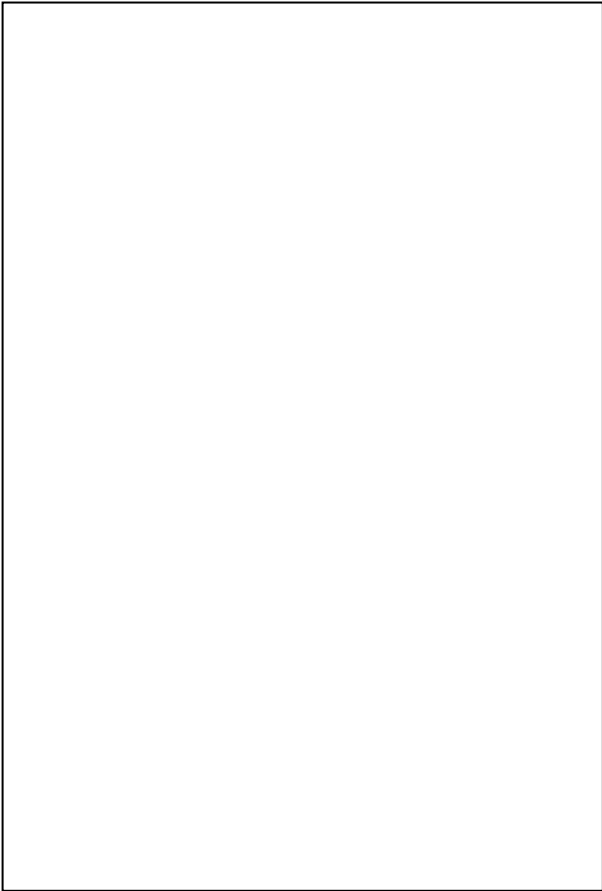
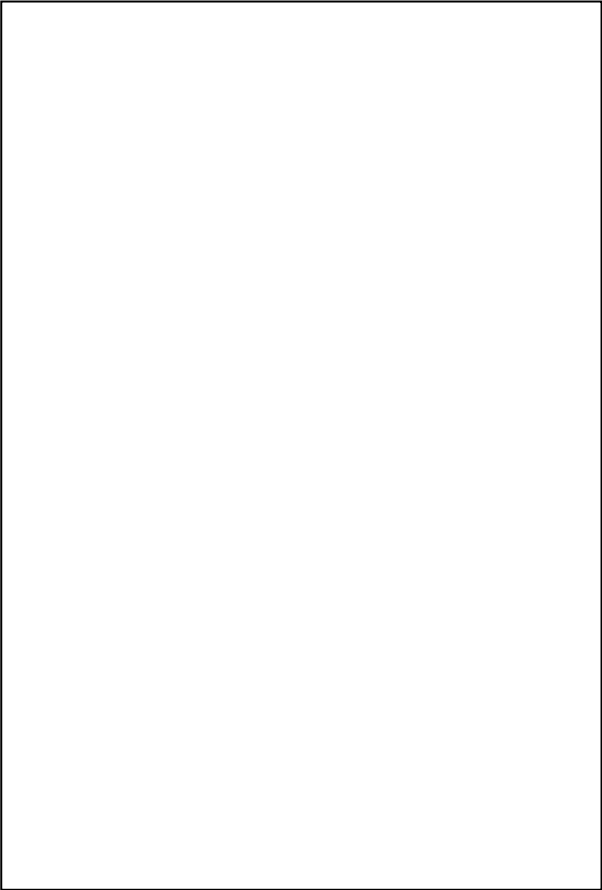


PHOTO 68



<i>I.I.17.</i> : Description de la souche <i>Aspergillus oryzae</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Colonie atteint 4 à 5 cm de diamètre après 7 jours d'incubation sur milieu Czapek à 25c°.	Pousse sur milieu de Sabouraud, simple ou rendu sélectif par addition de chloramphénicol et de gentamicine à pH ~6 –6,65. La température de croissance est de 20°C à 25°C. La température de croissance est de 20°C à 25°C. La filamentation débute au bout de 72 heures.
Caractères cultureux	Mycélium aérien rarement d'un vert franc d'abord jaunâtre puis jaune verdâtre à vert olive, enfin dans les tons du brun ; Revers incolore.	Au stade juvénile le thalle est blanc, fasciculé de texture laineuse, après 5 jours il présente un mycélium aérien jaune-verdâtre avec un exsudat incolore, la colonie est à ce stade ombiliquée à contour irrégulier et de 1 cm de diamètre (photo 69). Revers jaune-brun à brun au centre (photo70). Le 8ème jours, toute la colonie est recouverte de mycélium aérien vert-olive, d'un aspect poudreux stratifié, atteint ~2 cm de diamètre et présente un exsudat transparent, après 10 jours, elle est alors d'un vert-brun et à revers rouille.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes uni ou bisériées, radiées ; - conidiophores hyalins, souvent longs, plus ou moins verruqueux suivant les souches ; - vésicules sub-globuleuses, à paroi mince ; - métules et phialides produisant des conidies de taille variable, lisses à finement verruqueuses. 	<p>Tête conidienne bi sèriée, radiée(photo71), jaune-verdâtre à vert olive ;</p> <p>conidiophore hyalin, plus ou moins verruqueux ;</p> <p>vésicule sub-globuleuse à piriformes ;</p> <p>conidies globuleuses, vertes, lisses.</p>

Analogie phénotypique: 95 %

PHOTO 69

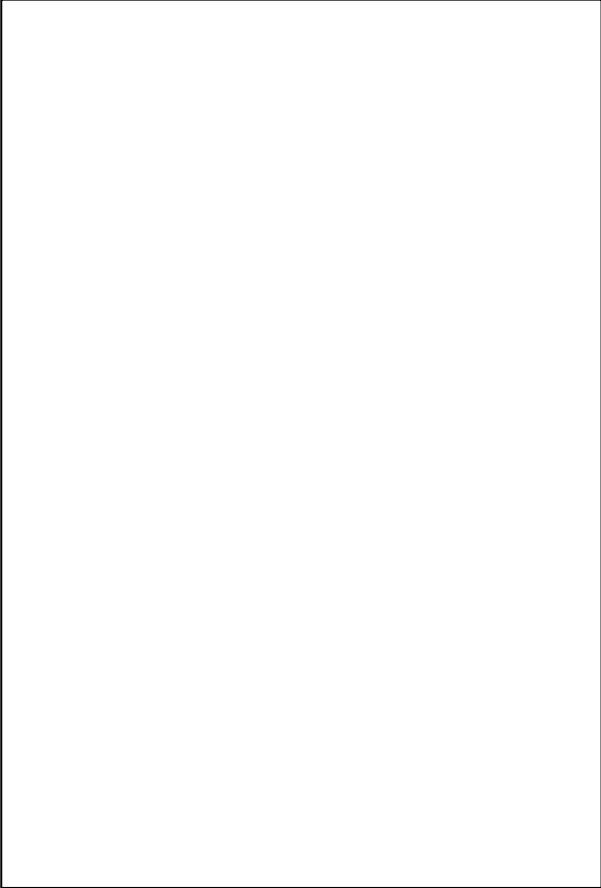


PHOTO 70

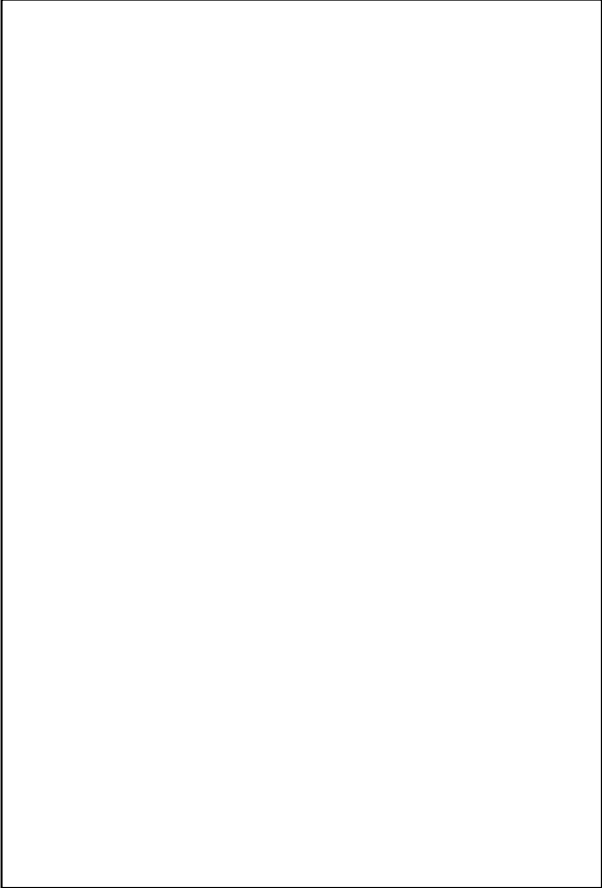


PHOTO 71

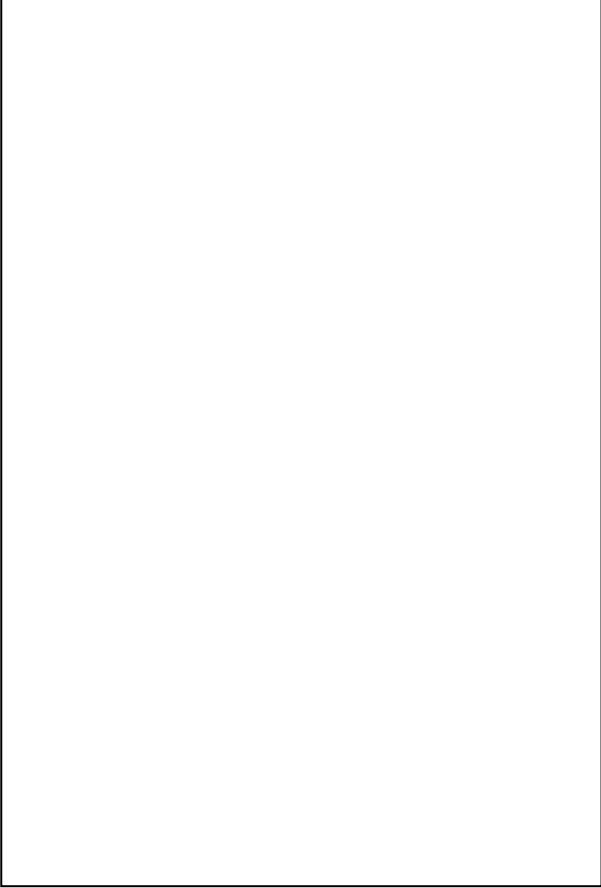
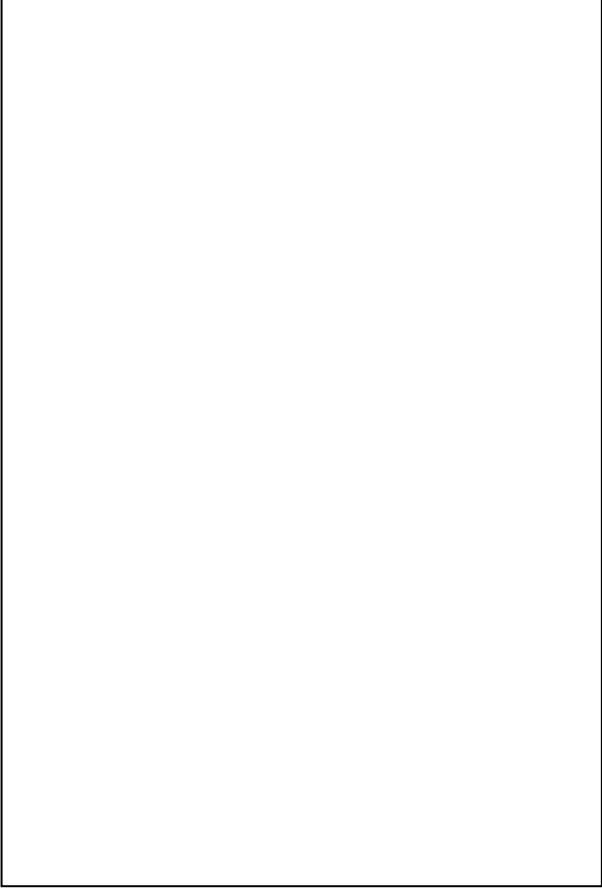


PHOTO 72



I.I.18. : Description de la souche <i>Aspergillus tamaritii</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Les colonies poussent rapidement sur milieu Czapek à 25 c°; atteignant 4 à 5cm de diamètre après 7 jours	Croissance débute après 24 heures sur milieu Czapek à 25°C et à pH 6,8. Pousse également sur gélose nutritive à pH ~7.
Caractères cultureux	<ul style="list-style-type: none"> - Mycélium aérien d'un abord brun, jaune verdâtre virant rapidement au brun vert foncé, puis au brun ; - Revers incolore ou rosâtre. 	<p>Colonie au bout de 48 heures d'incubation, blanche adhérente au milieu, présentant mycélium aérien fasciculé vert-jaunâtre ; le diamètre atteint plus de 1 cm et arrive, après 5 jours à 3 cm, à ce stade la colonie est d'un vert-brun puis brun, ombiliquée, à contour irrégulier, plate (photo73) .</p> <p>Revers incolore à rosâtre (photo74).</p>
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes uni ou bisériées, radiées; -conidiophores hyalins, verruqueux ; - vésicules globuleuses à sub-globuleuses, fragiles entièrement fertiles; - métules et phialides produisant des conidies jaune brun, cylindriques à piriformes puis globuleuses, ornementées de tubercules et de crêtes. 	<p>Tête conidienne bi sériee, radiée (photo 75) ; conidiophores hyalins verruqueux à large diamètre ; vésicule globuleuse fragile et entièrement fertile par une série de métules surmontée d'un étage de phialides productrices de conidies de couleur jaune-brun, globuleuses, à paroi épaisse.</p>

Analogie phénotypique: 94 %

PHOTO 73

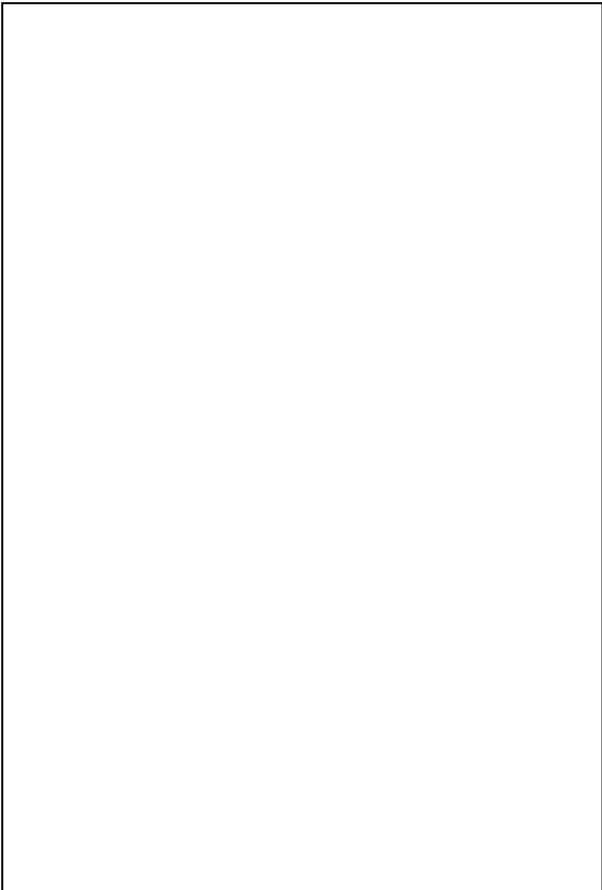


PHOTO 74

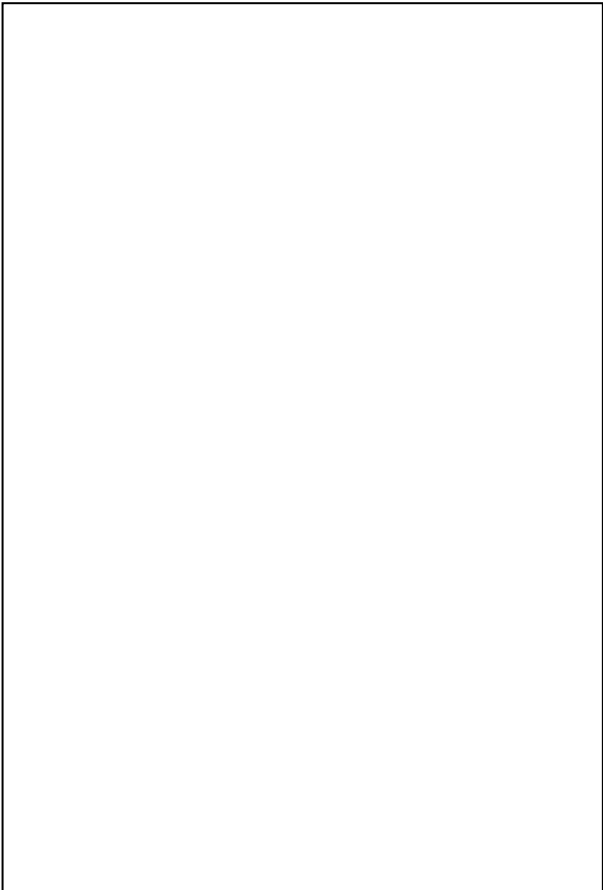


PHOTO 75

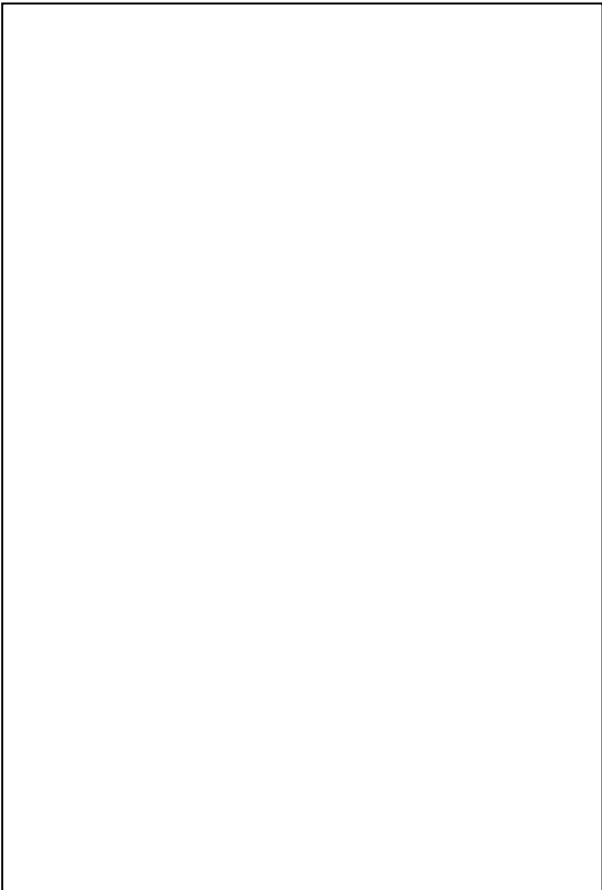
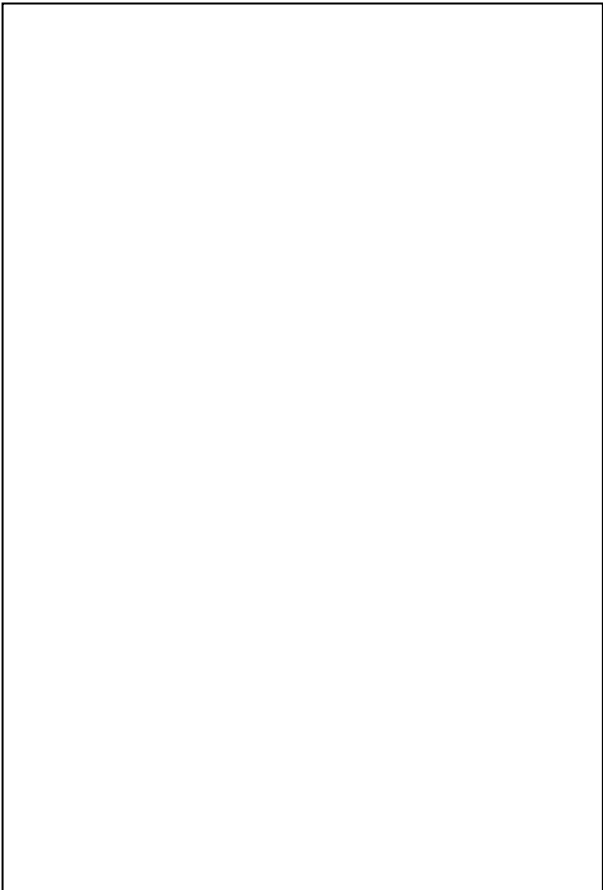


PHOTO 76



I.I.19. : Description de la souche <i>Aspergillus ochraceus</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 25 °C ; la colonie est de 2,5 à 3,5 cm de diamètre au bout de 7 jours.	Pousse sur milieu Czapek à 25°C–30°C, moins rapidement à 35°C. La filamentation débute après 4 jours à 30°C.
Caractères cultureux	Thalle jaune, ocre-jaune ou chamois.	Colonie plate granuleuse, blanche à jaune, présente un mycélium ras portant des têtes conidiennes jaunes à ocres, ombiliquées, à contour plus ou moins régulier, mal défini, diamètre allant de 0,8 à 1,5 cm après 8 jours (photo77). Le thalle se disperse par colonies néoformées autour de la colonie mère.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées globuleuses puis en plusieurs colonnes divergentes ; - Conidiophores rugueux; jaune à brun pâle, - Vésicules globuleuses, hyalines, - Métules et phialides produisant des conidies globuleuses à sub-globuleuses. 	<p>Tête aspergillaire bi sériée, globuleuse (photo 79) ;</p> <p>conidiophore rugueux jaunâtre; vésicules globuleuses, hyalines ;</p> <p>métules et phialides couvrant entièrement la vésicule; conidies globuleuses.</p>

Analogie phénotypique: 94 %

PHOTO 77

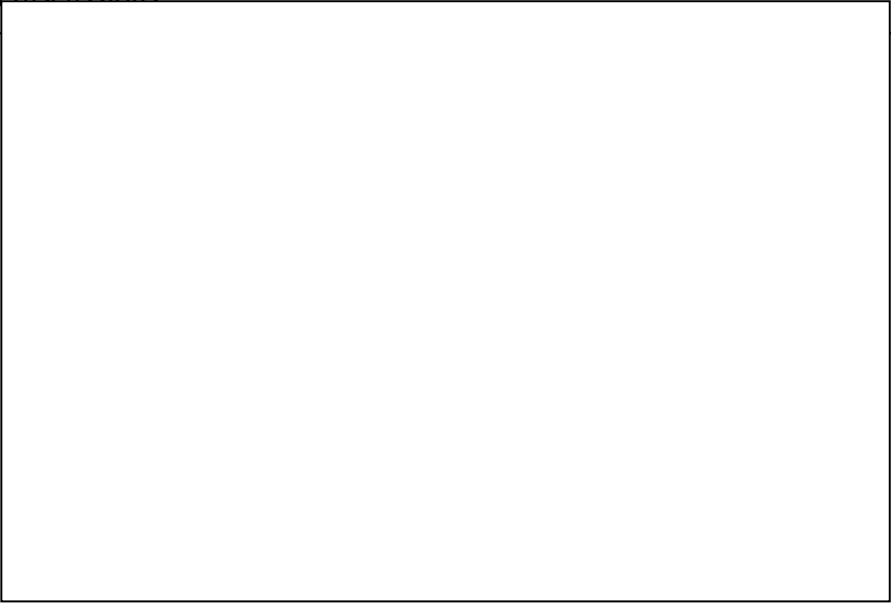


PHOTO 78

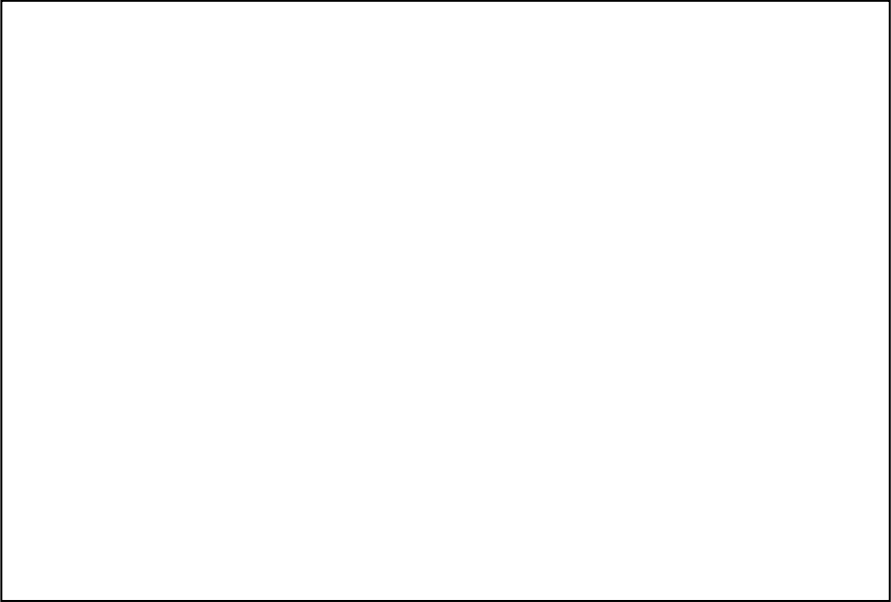
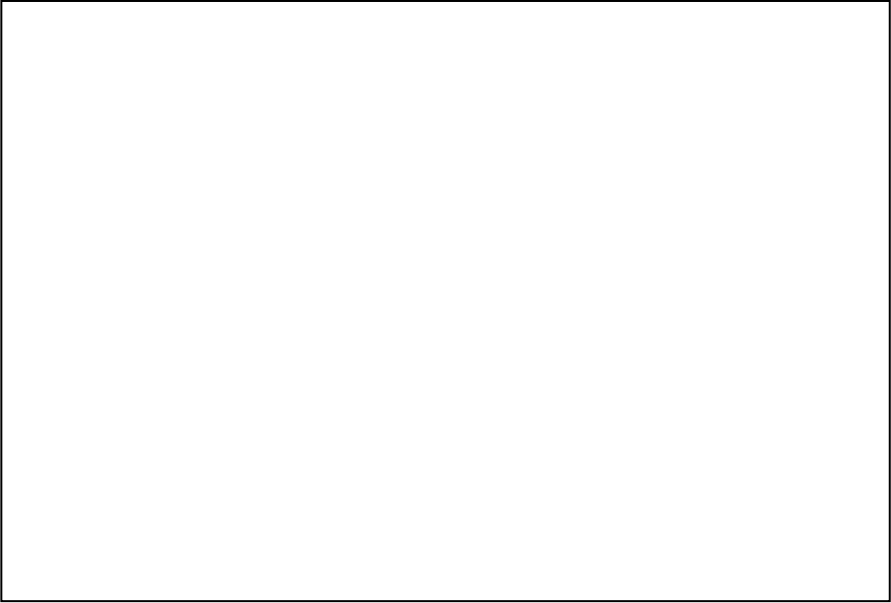


PHOTO 79



<i>I.I.20.</i> : Description de la souche <i>Aspergillus penicilloides</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Souche osmophile ; elle croit sur milieu Czapek ou Malt à 20 – 40% de sucre.	Pousse sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose (pH de 5,6) et sur le milieu et sur le milieu Czapek concentré (pH de 5), à 25°C –30°C.
Caractères culturaux	Mycélium vert foncé, revers incolore à vert foncé.	Sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose, la colonie est blanche cotonneuse intensivement sillonnée radialement, à contour régulier, feutré, présentant un mycélium aérien vert-olive foncé au centre (photo80), atteint 3 cm de diamètre au bout de 5 jours. Revers incolore (photo81). Sur milieu de Czapek, la colonie est entièrement vert foncé, présentant un exsudat très abondant en gouttelettes blanches opaques.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes unisériées, longtemps radiées, puis sub-cylindriques ; - conidiophores lisses, hyalins ; - vésicules piriformes, fertiles dans leur partie supérieure. - phialides produisant des conidies échinulées. 	<p>Tête aspergillaire unisériée étroite d'un vert-olive foncé.</p> <p>Conidiophore incolore lisse finement granuleux sous la vésicule.</p> <p>Vésicule piriforme hyaline (photo82) : phialides dispersées en un seul étage directement sur la vésicule, conidies elliptiques lisses.</p>

Analogie phénotypique: 86%

1.1.5.

PHOTO 80



PHOTO 81



PHOTO 82



<i>I.1.21.</i> : Description de la souche <i>Aspergillus wentii</i>		
Souche de référence		Souche à identifier
Conditions de culture		Pousse sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose ou additionné au chloramphénicol 5,6–6,63 et à température de 20°C à 30°C.
Caractères culturaux	Mycélium aérien abondant, jaune à brun-café ; revers incolore ou jaunâtre à brun-rouge.	Colonie bombée en raison d'un mycélium aérien portant des têtes conidiennes visibles à l'œil nu, de couleur brun-café (photo83) ; le thalle de base étant blanc laineux, adhérent au milieu de culture, à contour régulier échancré, on marque de nombreux sillons radiaux très rapprochés et un bouton central surélevé ; diamètre de ~ 4,3 cm après 7 jours. Revers incolore (photo84).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Têtes conidiennes bisériées, grosses, globuleuses, radiées ; - conidiophores hyalins, verruqueux sous la vésicule ; - vésicules globuleuses, entièrement fertiles; - métules portant de phialides productrices de conidies hyalines, elliptique puis jaunes à brun-jaune, sub-globuleuses, lisses ou verruqueuses. 	Tête conidienne bi sériée ; conidiophore jaunâtre à brun pâle (photo85) ; vésicules globuleuse hyaline ; phialides brun foncé, produisant des conidies globuleuses lisses.

Analogie phénotypique : 86 %

Resultats e

PHOTO 83



PHOTO 84

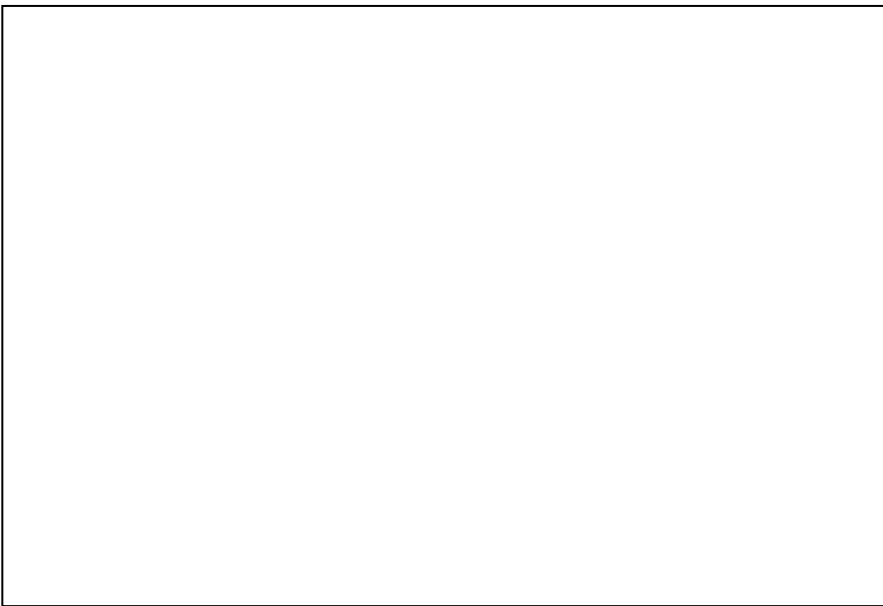
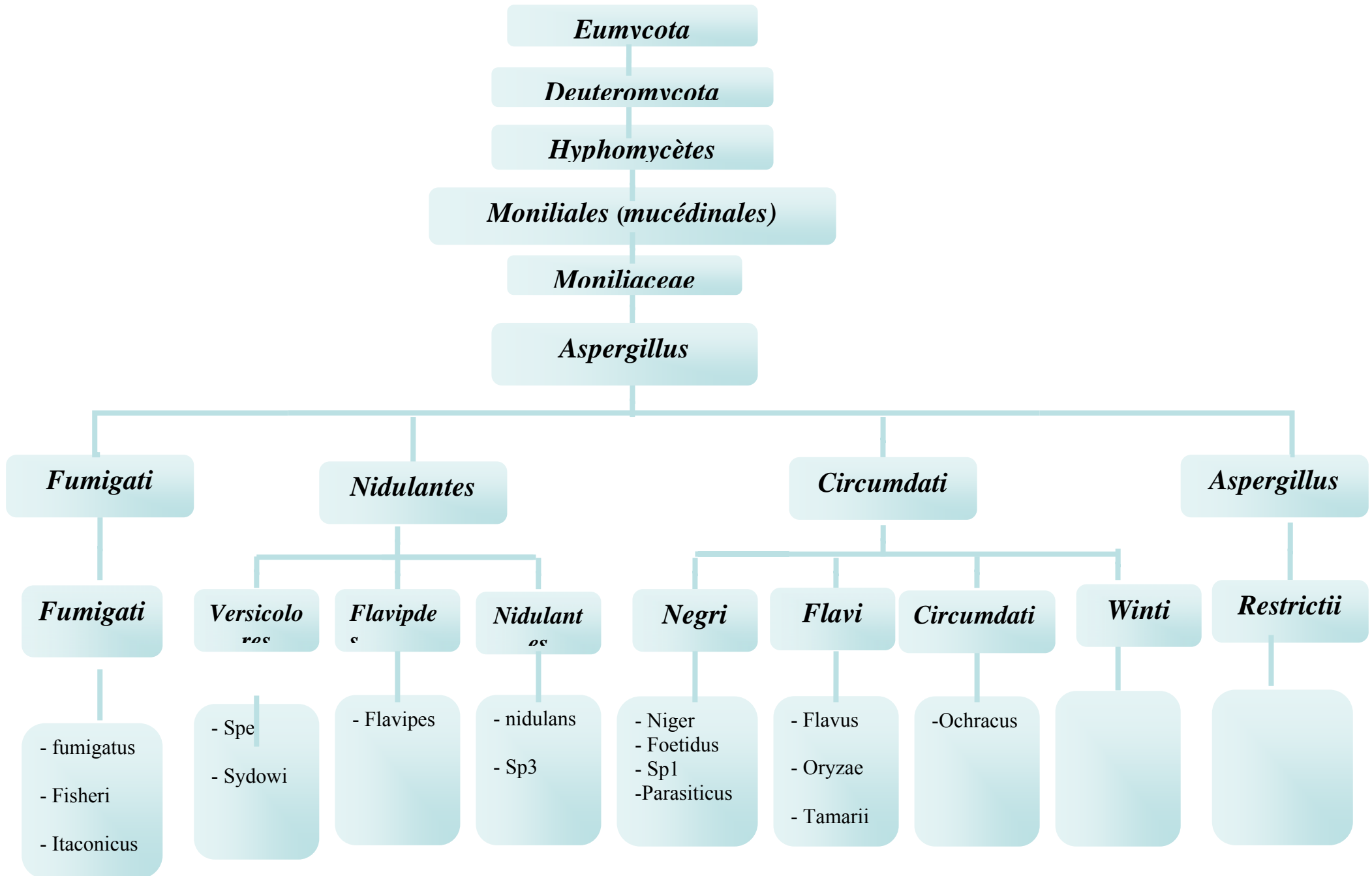


PHOTO 85





1.2. Le genre *Penicillium*

10 souches de *Penicillium* ont été mises en évidence.

I.2.1. : Description de la souche <i>Penicillium decumbens</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture		Pousse sur milieu Czapek dans un pH de 6,8 ; à 30°C–35°C ; au bout de 4 jours d'incubation, la colonie est de 1,5 cm de diamètre, pouvant s'étendre sur une surface de plus de 6 cm de diamètre en fin de croissance.
Caractères culturaux	Thalle velouté, à légèrement floconneux, à marge large, vert gris à gris bleu ; Revers pâle, brun jaune ou olive.	Thalle à croissance généralement rapide, presque velouté mais pouvant présenter des agrégats de conidiophores sur une large marge, lui donnant un aspect cotonneux, fasciculé, surélevé, d'un blanc pur ; tandis que le centre est plat, de couleur vert-bleu à vert grisâtre (photo86), au bout de 4 jours ; la colonie est adhérente au milieu, présente des gouttelettes d'exsudat incolore, visibles au grossissement x 8,75. Revers marron-brun, de plus en plus foncé avec l'âge (photo87).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles mono-verticillés ; - conidiophores lisses renflés au sommet et terminés par un verticille en 5 - 8 phialides ampulliformes, longs et étroits. - conidies elliptiques, lisses. 	<ul style="list-style-type: none"> Pénicilles, triverticillés, asymétriques ; Conidiophores isolés perpendiculaires (photo88) ou regroupés en synnemma (photo89), finement granuleux ; phialides en verticilles produisant des conidies globuleuses.

Analogie phénotypique: 83 %

PHOTO 86

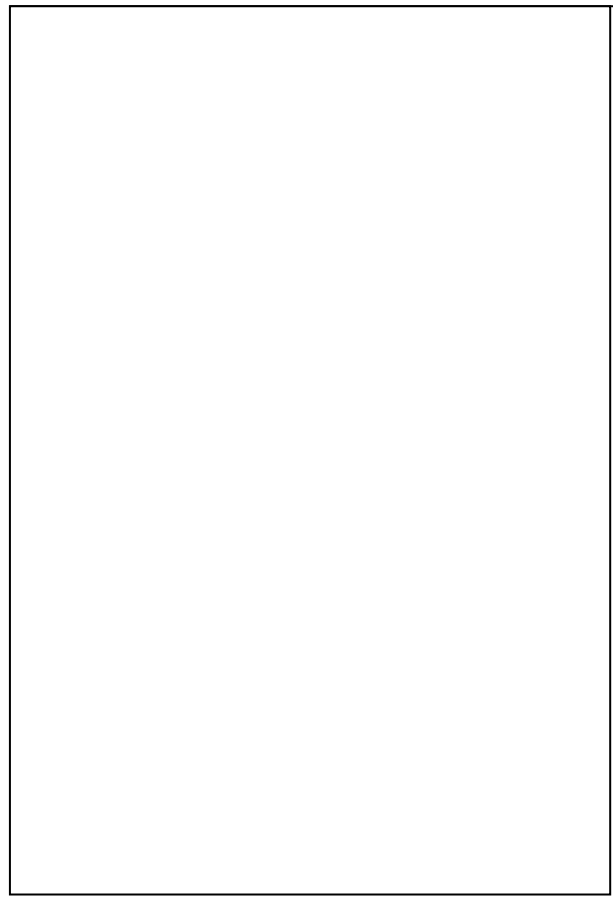


PHOTO 87

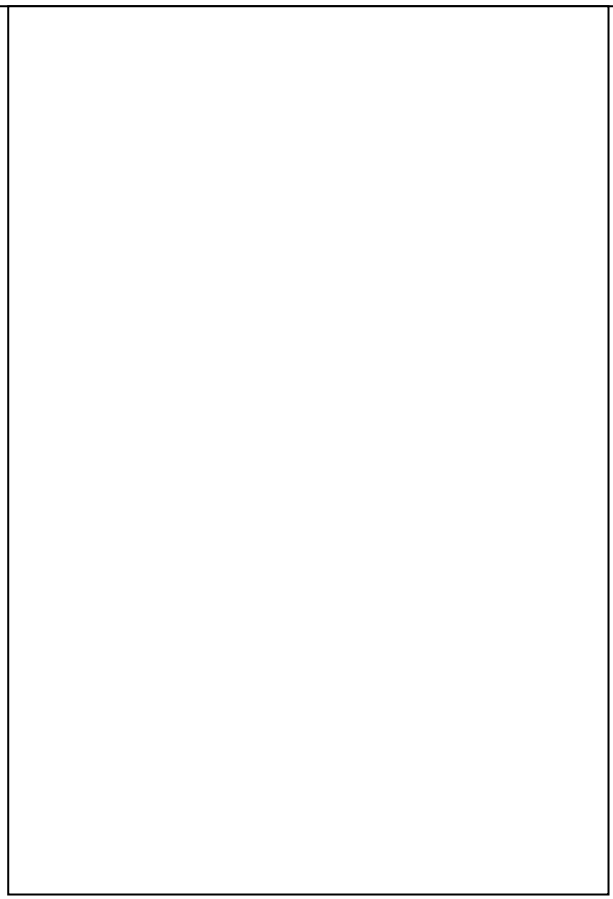


PHOTO 88

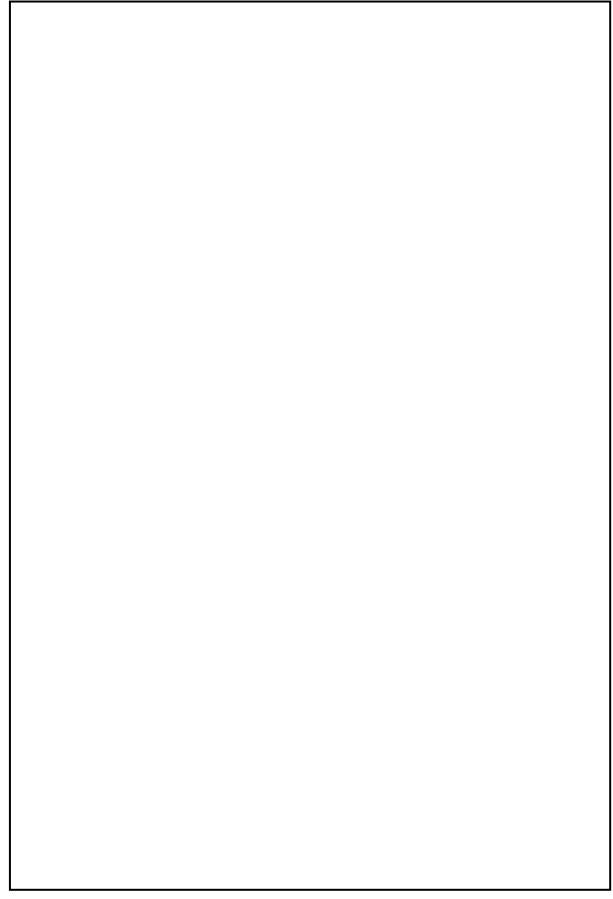
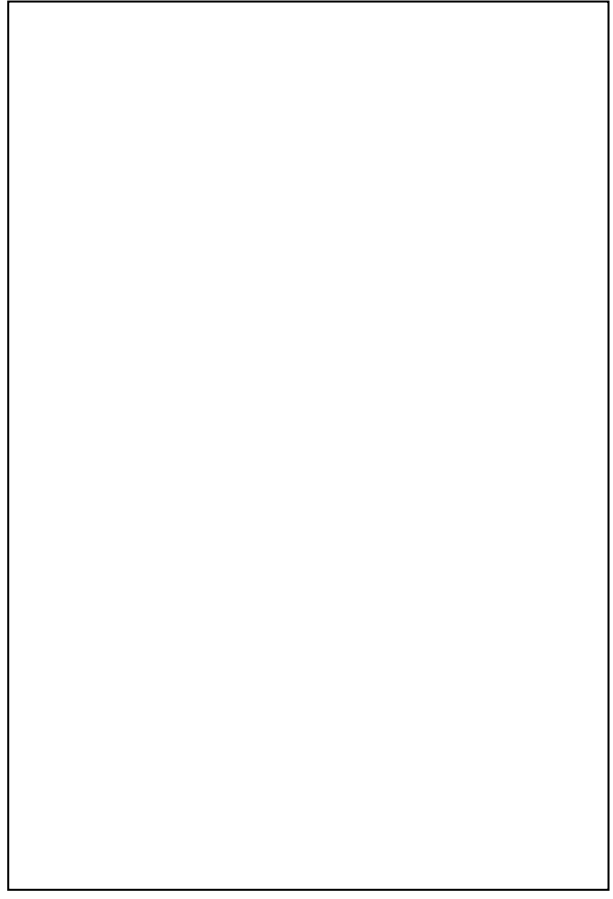


PHOTO 89



I.2.2. : Description de la souche <i>Penicillium fellutanum</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture		Pousse sur milieux Czapek simple (à pH 6,8) et concentré (pH~ 5), atteint 1,5 cm de diamètre après 3 jours d'incubation à 30°C.
Caractères culturaux	Thalle très dense, sillonné radialement, veloute mais surélevé et floconneux au centre, vert sombre à gris-verdâtre. Revers pâle, pigment soluble absent.	Thalle dense, sillonné radialement, velouté mais surélevé et floconneux au centre (photo90), présentant des agrégats de conidiophores en synnema à la partie marginale, vert sombre à vert grisâtre très pâle à un stade avancé. Revers à peine jaunâtre (photo91).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles parfois mono-verticillés, plus souvent biverticillés asymétriques, avec une ou plusieurs ramifications terminées en tête mono-verticillée ; - conidiophores formés sur le mycélium aérien, lisses, de longueur variable, - métules et phialides densément groupées par 8 - 12 ; - conidies elliptiques, lisses, ou finement rugueuses en longues colonnes irrégulières. 	<ul style="list-style-type: none"> Pénicilles mono-verticillés, plus fréquemment biverticillés (photo93) asymétriques (photo92); Conidiophores lisses, densément groupés, ampulliformes ; Conidies globuleuses à elliptiques, lisses, en chaînettes.

Analogie phénotypique: 91 %.

PHOTO 90



PHOTO 91

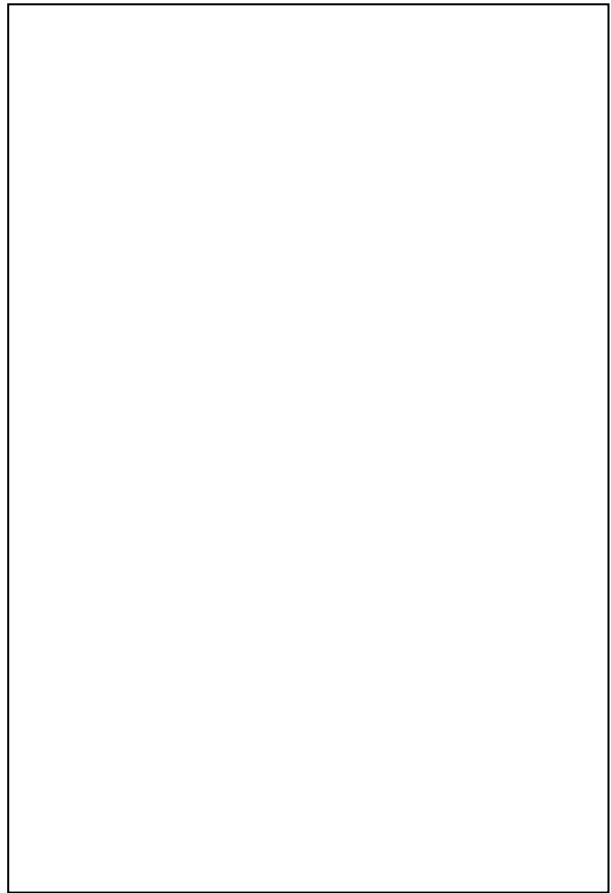


PHOTO 92

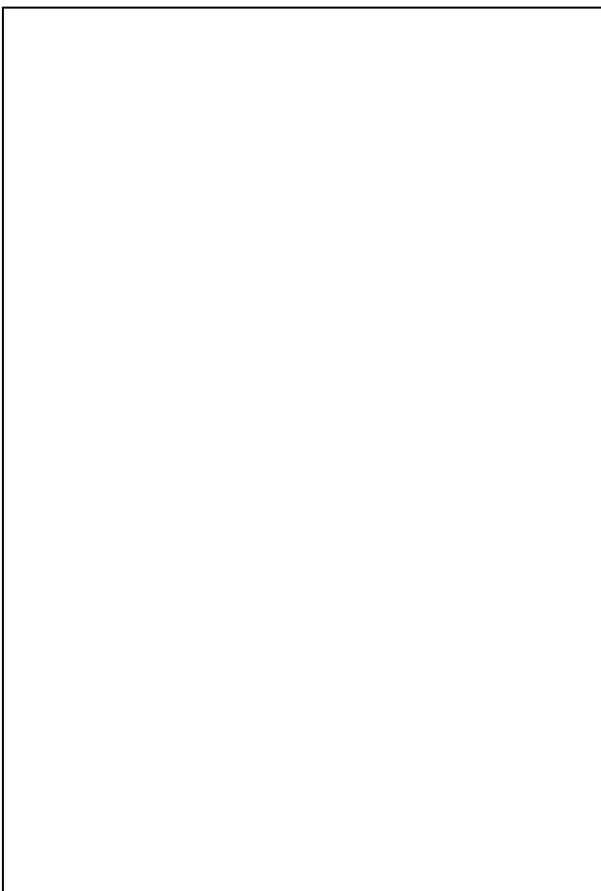
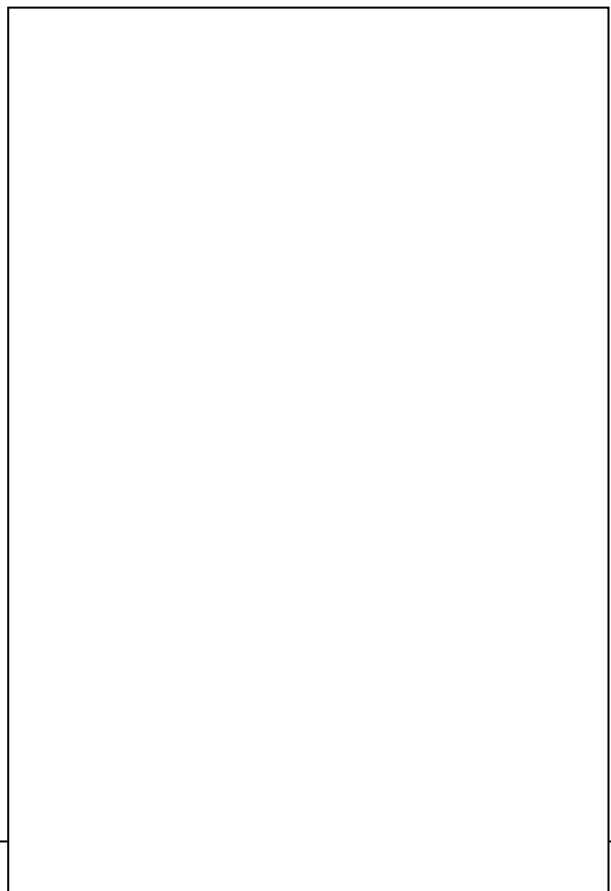


PHOTO 93



I.2.3. : Description de la souche <i>Penicillium ochrochloron</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture		Croissance débutant au bout de 72 heures sur milieu de Sabouraud Simple à pH 6- 6,65 et à 25°C et à 37°C. Le diamètre atteint 4 cm après une semaine à 35°C.
Caractères cultureux	Thalle à croissance rapide floconneux, mycélium blanc, chamois ou rose pâle. Conidiogenèse absente ou peu abondante donnant alors, au thalle une faible teinte gris verdâtre.	Colonie d'un blanc cassé plate, duveteuse, d'un aspect velouté en moquette, à contour régulier, elle présente un bouton central avec des plis radiaires peu profonds. Après 5 jours le diamètre est de 1 à 3,5 cm, la colonie stratifiée, d'un revers jaunâtre (photo95). A l'âge de 10 jours, elle vire au beige avec 0,5 cm de marge bleu-vert grisâtre (photo94). Le diamètre arrive jusqu'à 5 cm. Sur milieu Lactrimel la colonie est petite, lisse, compacte, d'un aspect farineux, vert-gris pâle.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles rudimentaires, biverticillés asymétriques. - conidiophores très variables lisses ou rugueux ; - métules, terminales ou intercalaires peu nombreuses ; - phialides par 4 - 8, ampulliformes ; - conidies elliptiques, lisses. 	<ul style="list-style-type: none"> Penicilles relativement très longues, biverticillés, asymétriques (photo96) ; Conidiophores isolés ou enchevêtrés, finement rugueux ; Métules en verticilles de 4 à 6 ; Phialides en verticilles de 3 à 5 ; Conidies ovoïdes, allongées à sub-globuleuses, lisses.

Analogie phénotypique : 69%

PHOTO 94

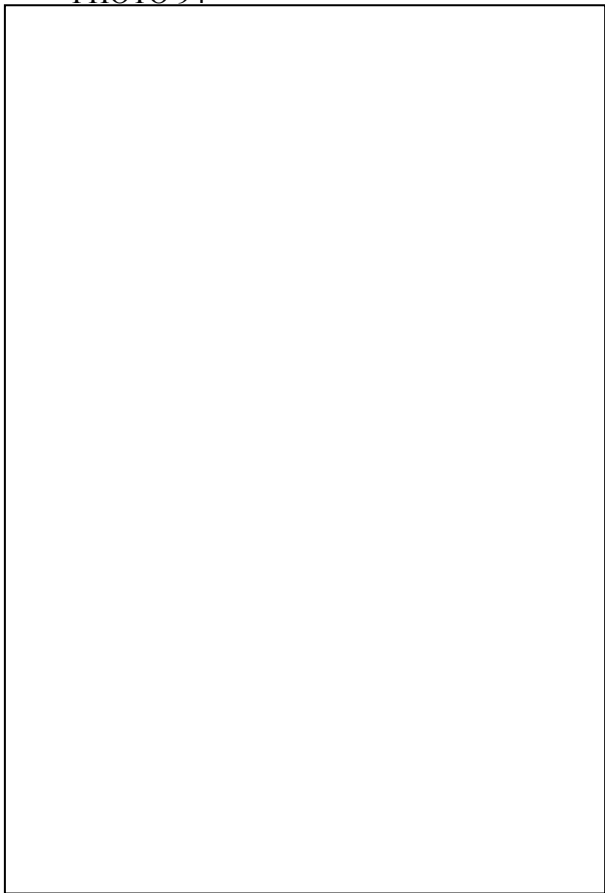


PHOTO 95

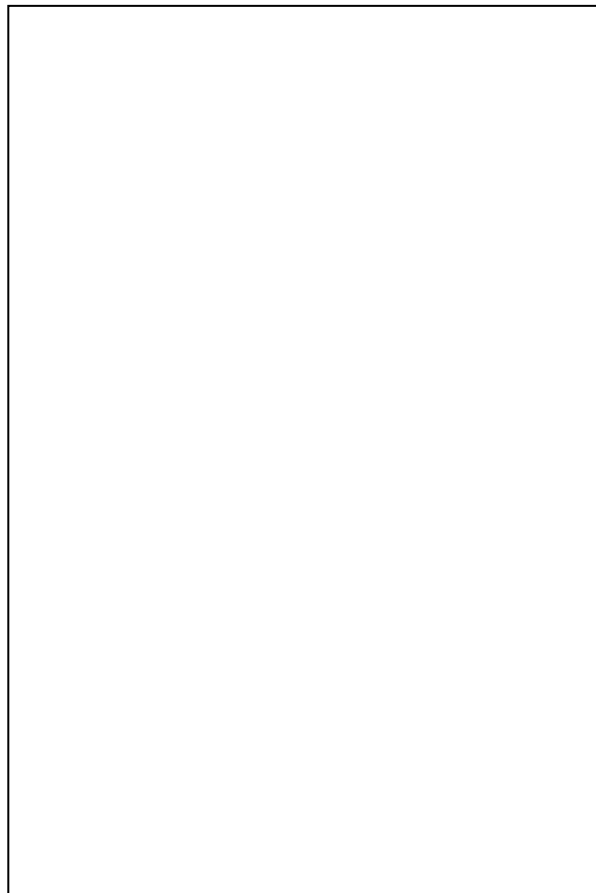


PHOTO 96

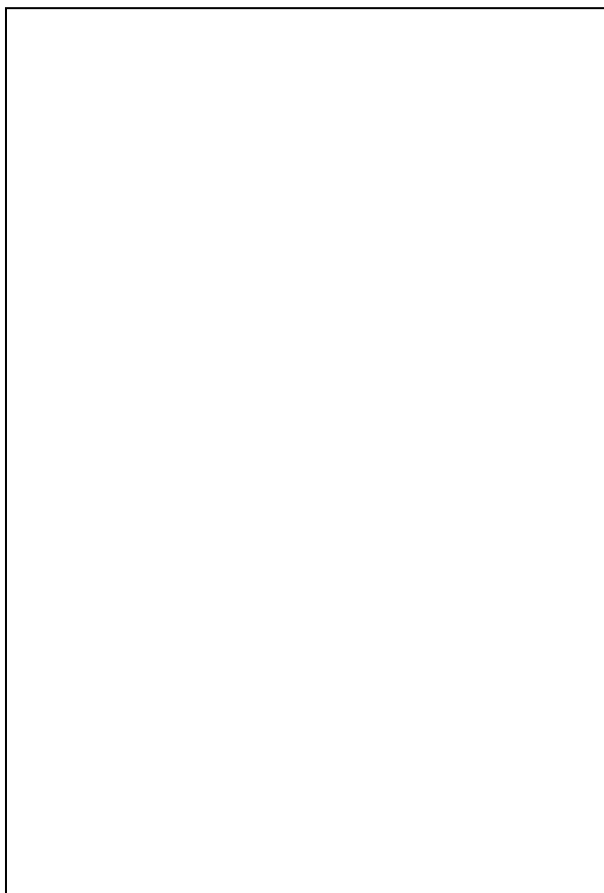
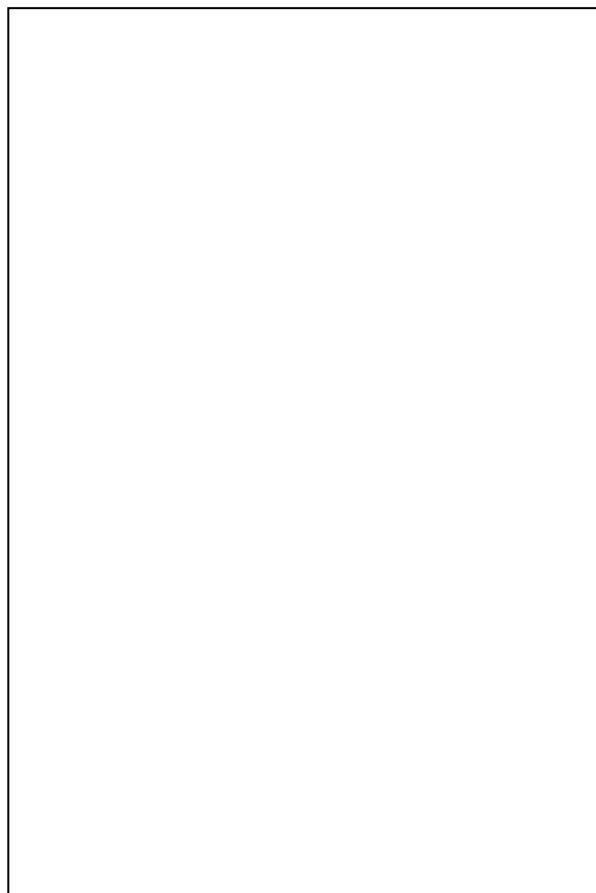


PHOTO 97



1.2.4. Description de la souche *Penicillium griseofulvum*

Syn : *Penicillium urticae*

	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 25 °C ; atteint 1,8 à 2 cm de diamètre après 7 jours.	Croissance sur milieux de Sabouraud à 2 % de glucose, Czapek, OGYA et TGEA, dont les pH varient de 5,6 à 7. La colonie atteint 1 cm de diamètre à 72 heures, puis envahit toute la boîte de pétri au bout de 4 jours à 30°C.
Caractères cultureux	<ul style="list-style-type: none"> - Thalle à surface d'aspect fasciculé et granuleux, vert-grisâtre à gris pâle ; - revers pâle, jaune ou brun ; - exsudat clair à jaune pâle. 	<p>Colonie bombée, à surface d'aspect floconneux présentant des agrégats de conidiophores dressés en faisceaux ou synnema.</p> <p>Elle est blanche-rosâtre à 48 heures, puis d'un mélange d'orangé et de verdâtre après cinq jours. Lors de la sporulation la colonie vire au vert-grisâtre pâle (photo98). Elle présente un exsudat incolore à jaunâtre, visible à l'œil nu. Revers jaunâtre à orange (photo99) puis à orange-brun ou rouge-brun</p>
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles asymétriques souvent complexes et irréguliers comportant 3 à 5 ramifications, fortement divergentes. - conidiophores isolés ou lâchement fasciculés, sinueux lisses ; - métules en verticilles de 2 à 3 ; - phialides en verticilles de 6 à 9 par métule très courtes ; - conidies elliptiques à sub-globuleuses lisses ; disposées en chaînes divergentes. 	<p>Pénicilles bi à tri verticillés, asymétriques, complexes, à ramifications divergentes (photo100 a-) ;</p> <p>Conidiophores isolés, lisses ;</p> <p>Métules en verticilles ; phialides en verticilles de 3 à 6 ; Conidies elliptiques à sub-globuleuses, lisses, disposées en chaînes divergentes (photo100b-).</p>

Analogie phénotypique: 95 %.

PHOTO 98

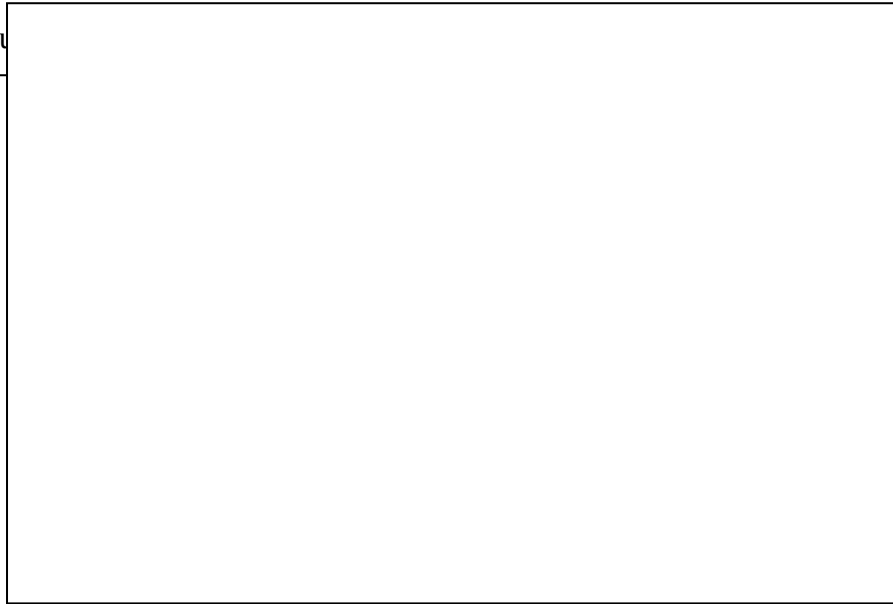


PHOTO 99



PHOTO 100



1.2.5. Description de la souche *Penicillium expansum*

1.2.5. Description de la souche <i>Penicillium expansum</i>		
	souche de référence	souche à identifier
Conditions de culture	Colonies poussent sur milieu Czapek et milieu malt à 25 c°.	Pousse sur milieu Czapek à 20°C – 35°C à pH de 5 –6,8. La filamentation débute au bout de 24 heures, après 8 jours le diamètre est de 3,5 cm et à 10 jours il atteint 4 cm, en vieillissant la colonie donne naissance à d'autres colonies filles dispersées autour d'elle.
Caractères cultureux	<ul style="list-style-type: none"> -Thalle vert terne, souvent zoné, granuleux ; - revers incolore ou brunâtre ; - exsudat et pigment typiquement présents ; - odeur douçâtre de pomme pourrie. 	<p>Colonie plate, veloutée dense, d'un aspect en moquette, de couleur bleu-vert foncé avec une courte marge blanche, à contour régulier (photo101). Elle élabore des gouttelettes volumineuses incolores, visibles à l'œil nu.</p> <p>Revers incolore (photo102), sécrétant un pigment rouge en présence de contaminant.</p> <p>Au bout de 10 jours, la colonie est stratifiée et se propage par dispersion de petites colonies filles à la surface avoisinante du milieu de culture.</p>
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles longues et compacts, triverticillés ; asymétriques ; - conidiophores isolés, fasciculés, ou agrégés en corémies ; - lisses ou à peine rugueux ; - métules en verticilles de 3 à 6 ; - phialides en verticilles de 5 à 8, cylindriques. - conidies elliptiques, lisses. 	<p>Pénicilles longues, triverticillés, asymétriques (photo103);</p> <p>Conidiophores isolés fasciculés lisses ou à peine rugueux ;</p> <p>Métules en verticille de 2 à 5 ; phialides en verticilles de 3 à 6 ;</p> <p>Conidies globuleuses lisses.</p>

Analogie phénotypique: 96 %.

PHOTO 101

1.2.3.

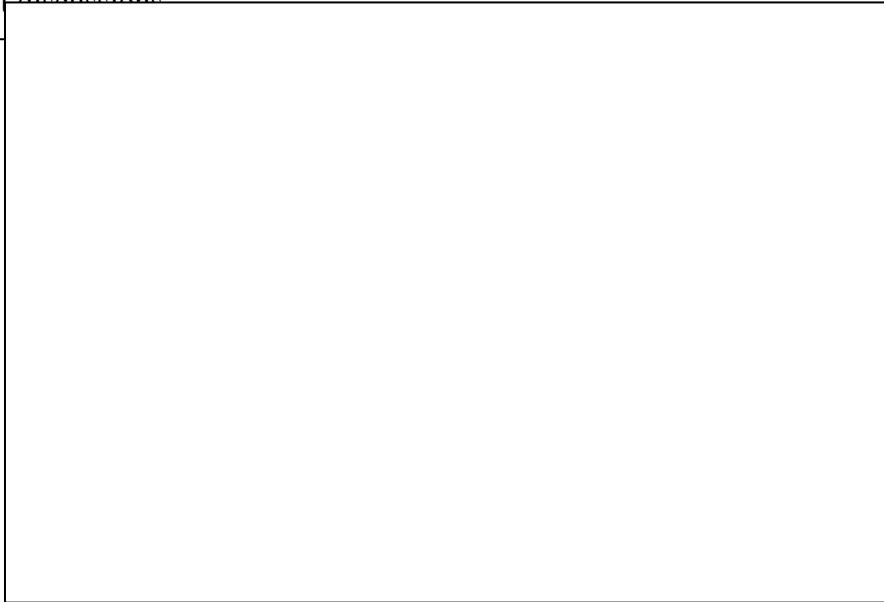


PHOTO 102

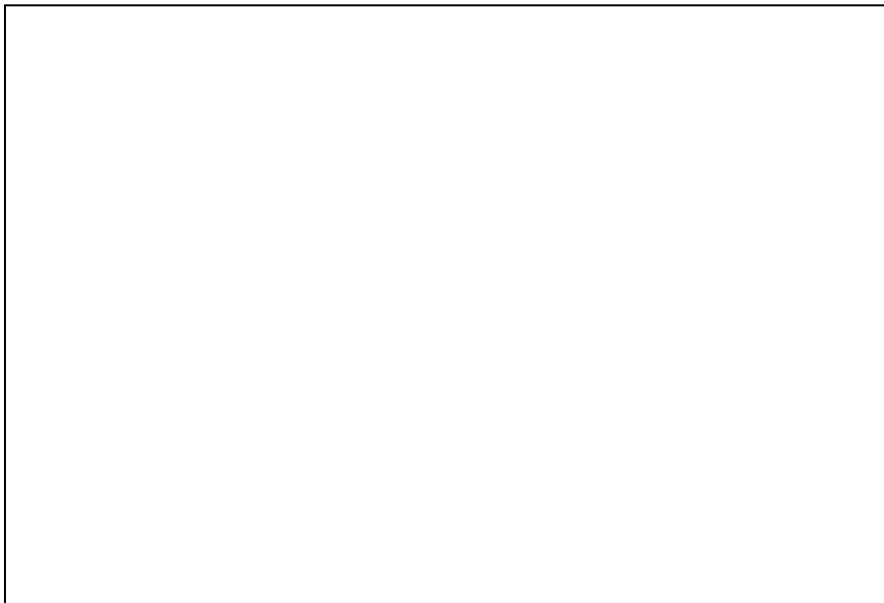
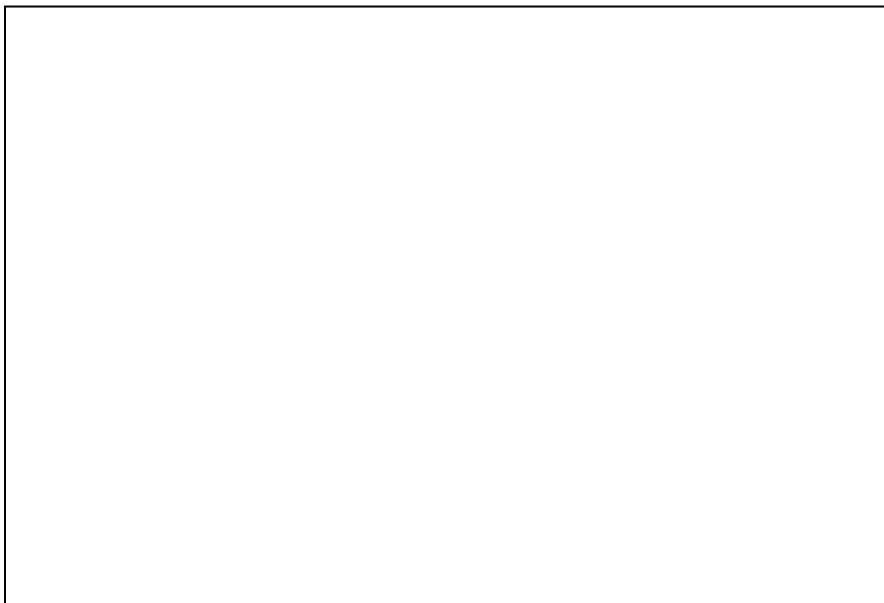


PHOTO 103



1.2.6. Description de la souche *Penicillium italicum*

	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek et sur milieu malt, à 25 c° ; atteint 2,0 à 2,5 cm de diamètre au bout de 14 jours.	Atteint 0,3 cm de diamètre après 3 jours d'incubation à 30°C sur milieu de Sabouraud et Czapek, à pH de ~5,6–6,8 ; après 6 jours, d'incubation à 35°C, la colonie est de 1–1,5 cm de diamètre. La colonie n'est pas extensive.
Caractères cultureux	Thalle à croissance parfois lente, velouté à fasciculé, pouvant présenter de petites corémies marginales, vert-gris. Revers incolore à brun-jaune. Odeur aromatique.	Colonie plate dont le mycélium est blanc, laineux, au stade juvénile, devient poudreuse, bleu-vert (photo104) après 4 jours. Le contour étant échancré, plus ou moins régulier, elle présente un ombilic pointu au centre. Présence d'exsudat visible au grossissement x 8,75. Elle se propage par émission de petites colonies filles au bout de quelques semaines.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles larges, triverticillés, asymétriques. - conidiophores isolés ou faiblement fasciculé, lisses ; - métules en verticilles de 2- 4 ; - phialides en 3 à 8, cylindriques ; - conidies cylindriques à elliptiques, lisses. 	<ul style="list-style-type: none"> Pénicilles larges tri verticillés, asymétriques (photo106) ; conidiophores isolés ou regroupés en faisceaux, lisses, métules en verticilles de 2 à 5 ; phialides par verticilles de 3 à 8.

Analogie phénotypique: 84,20 %.

PHOTO 104

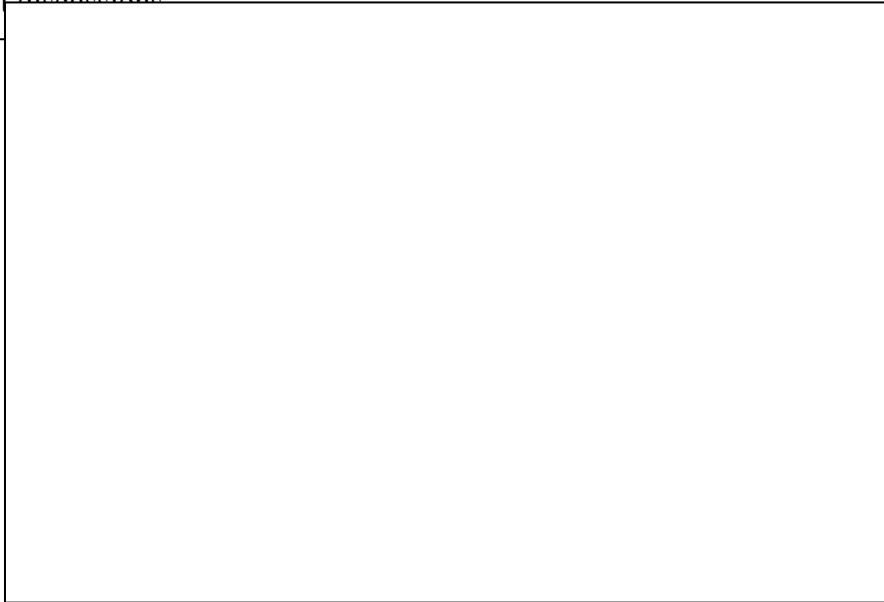
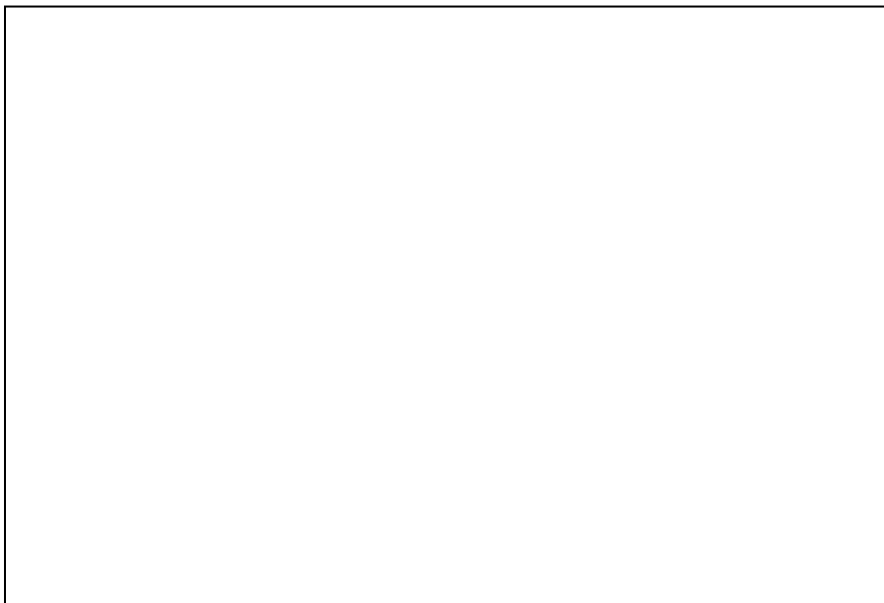


PHOTO 105



PHOTO 106



<i>1.2.7. Description de la souche <i>Penicillium verrucosum</i></i>		
<i>Var. cyclopium</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	La colonie est de 2 à 4 cm de diamètre après 7 jours d'incubation sur milieu Czapek.	Pousse très rapidement sur milieu Czapek à 25°C - 30°C, dans un pH de 6,8 à 7,4. Elle pousse également sur milieu Chapman. Diamètre de ~ 3 cm après 6 jours d'incubation.
Caractères culturaux	Thalle à croissance généralement rapide, presque velouté, mais pouvant présenter des agrégats de conidiophores dans la région marginale, vert bleu à vert gris. Revers incolore, rosâtre, jaune vif ou brun pourpre odeur de terre ou de moisi.	Colonie duveteuse presque veloutée à poudreuse, plate, ombiliquée, adhérente au milieu, couleurs rangées de manière centripète du bleu pal, bleu-vert, bleu-vert grisâtre, vert-gris à moutarde (photo107). Contour régulier. Revers brunâtre . Après 4 jours d'incubation à 30°C, des gouttelettes volumineuses incolores sont formées sur le vieux mycélium.
Aspect microscopique	- pénicilles compacts, triverticillés, asymétriques ; conidiophores isolés ou fasciculés, généralement finement granuleux ; métules et phialides en verticilles de 5 à 8 ; conidies globuleuses rugueuses à échinulées.	Pénicilles compacts tris verticillés, asymétriques (photo109) ; Conidiophores isolés ou fasciculés, finement granuleux, métules en moyenne de 5 pour chaque verticille ; Phialides en verticilles de 5 – 8, conidies globuleuses.

Analogie phénotypique: 84 %.

PHOTO : 107

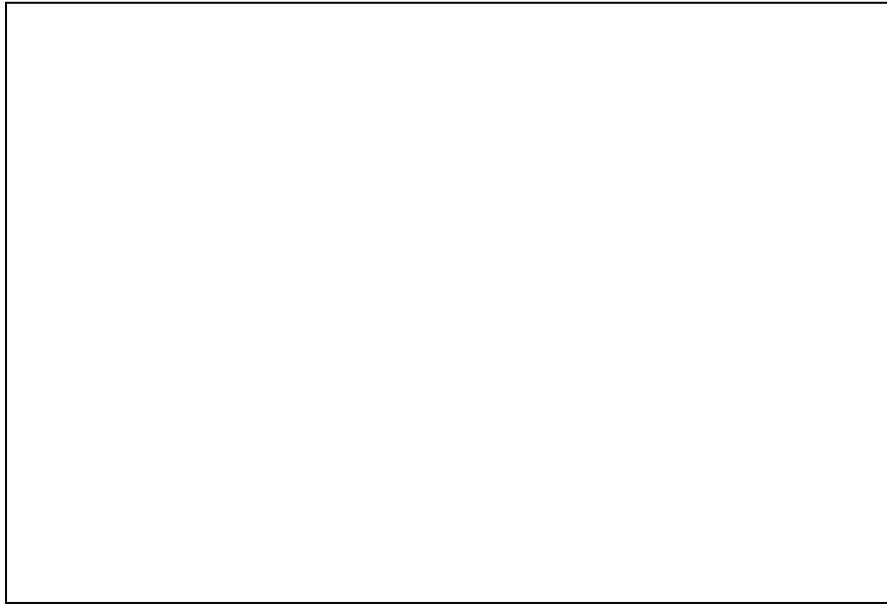


PHOTO : 108

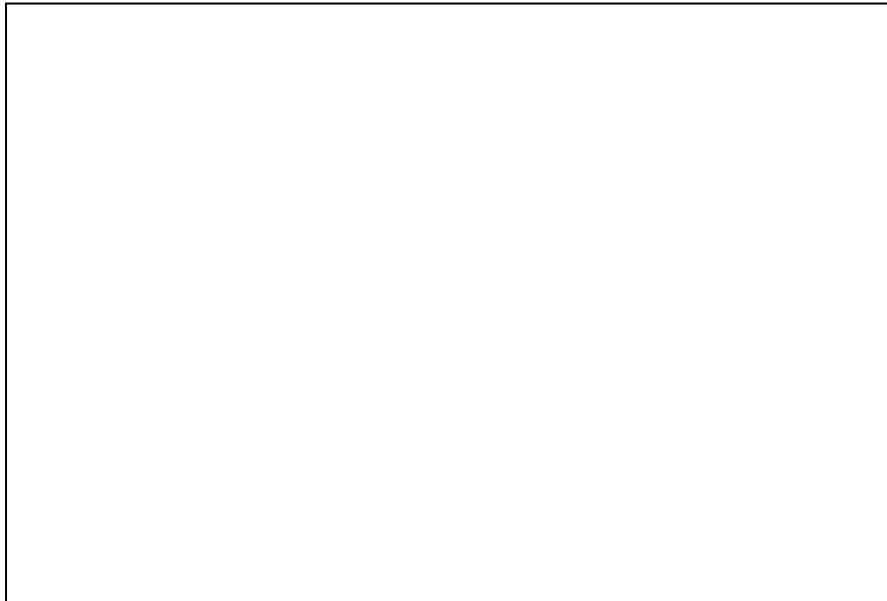


PHOTO : 109



1.2.8. Description de la souche <i>Penicillium corylophyllum</i> .		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek ; le diamètre de colonie atteint 2 à 3 cm après 7 jours.	Pousse à 25°C–30°C, sur milieu Czapek et sur milieu de Sabouraud simple, dans un pH de 6-6.65 jusqu'à 6,8 ; moins rapide sur milieu de Sabouraud glucosé à 2 %. Atteint 0,5 à 1cm de diamètre après 72 heures d'incubation.
Caractères cultureux	- Thalle à croissance le plus souvent rapide, velouté, vert bleu à vert-gris. Revers verdâtre à vert sombre.	Colonies bombées, d'un bleu-vert, veloutées, compactes ou en moquette, très adhérentes au milieu, à centre cratériforme et à contour régulier (photo110). Revers jaune virant au vert-noir. Les colonies âgées sont plus foncées et élaborent à leur surface un exsudat abondant, incolore, après le 4ème jour.
Aspect microscopique	- Pénicilles biverticillés asymétriques; - conidiophores lisses et terminés par 2 à 5 métules souvent inégales ; - phialides en verticilles de 6 à 10, ampulliformes ; - conidies globuleuses, lisses.	Pénicilles tri à quadri verticillés, asymétriques (photo112); Conidiophores lisses ou à peine rugueux ; Métules en verticilles de 3 à 5 ; Phialides ampulliformes en verticilles ; conidies globuleuses, lisses.

Analogie phénotypique: 92 %.

PHOTO: 110

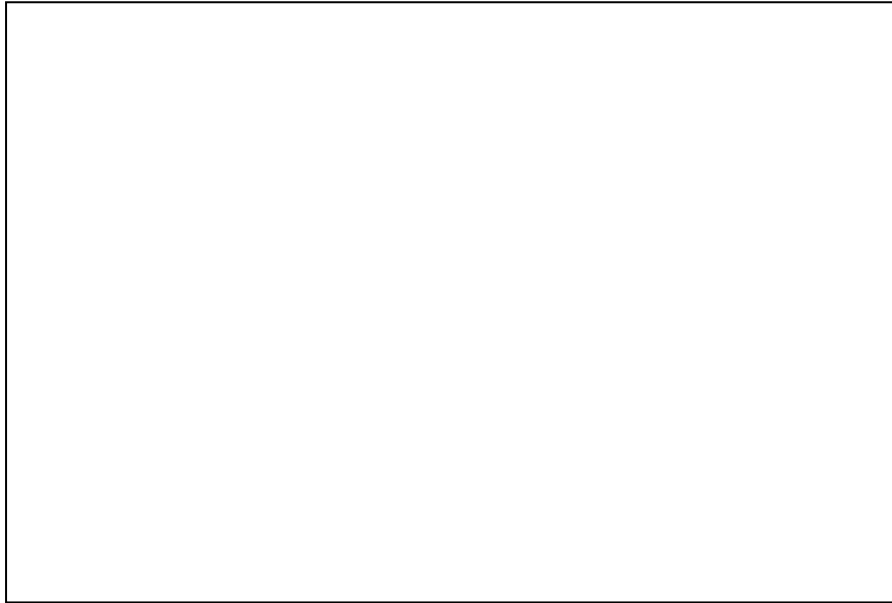


PHOTO: 111

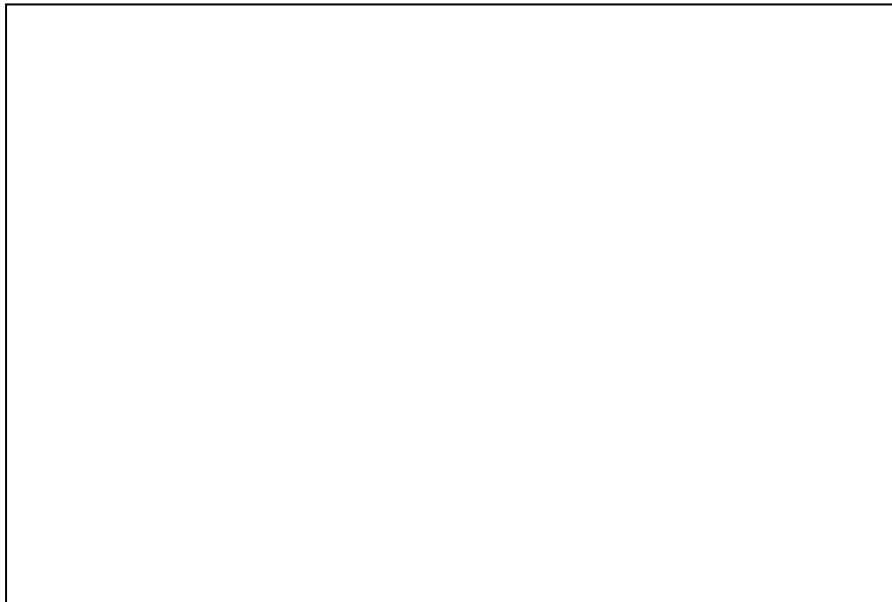
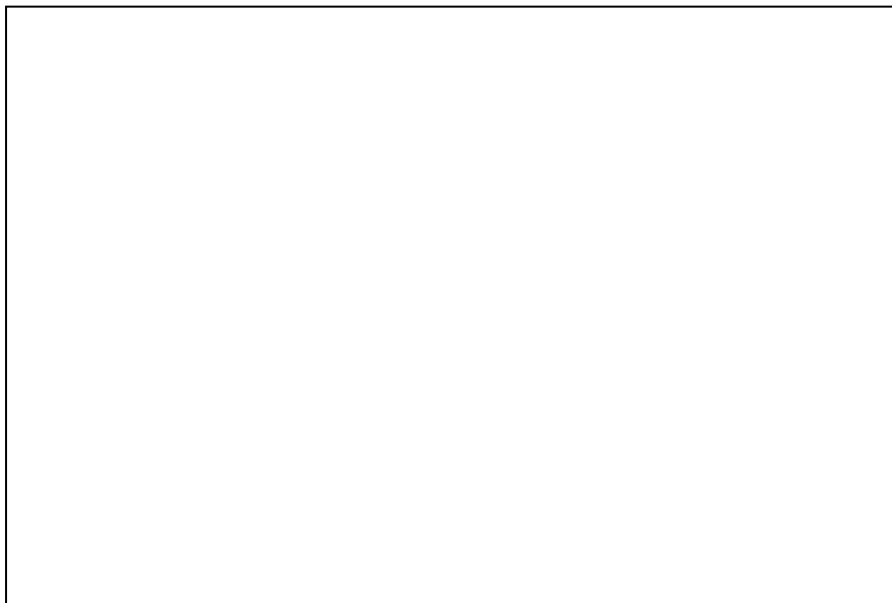


PHOTO : 112



1.2.9. Description de la souche <i>Penicillium chrysogenum</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek à 25 °C ; atteint 4-5 cm après 10 jours.	Pousse à 25°C–30°C. Atteint 2 à 2,5 cm de diamètre en 4 jours d’incubation sur milieu de Sabouraud et 0,7 cm sur Czapek, dans un pH de 5,6 à 6,8.
Caractères culturaux	Thalle à croissance rapide vert-bleu ou vert-jaune, devenant gris ou brun, souvent surélevé au centre, sillonné radialement, velouté ou un peu floconneux ; Revers jaune vif à brun-jaune parfois jaune rouge.	Colonie veloutée lisse compacte, à peu floconneuse et surélevée au centre ; sillonnée radialement, bleu-vert, contour blanc, irrégulier (photo 113). Revers jaune vif à brun-jaune (photo 114). Après 4 jours le pigment est diffusible dans la gélose. Les colonies vieilles virent au vert sombre, donnent naissance à des colonies néoformées de 0,5 cm de diamètre, dispersées sur toute la gélose. Le pigment brun-rouge n’apparaît qu’en présence de contaminant.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles asymétriques et souvent complexes, à ramifications divergentes ; - conidiophores, lisses ; - métules par 3–5 et phialides par 4–7, ampulliformes ; - conidies sub-globuleuses, lisses, disposées en longues colonnes irrégulières. 	<ul style="list-style-type: none"> Pénicilles mono ou bi verticillés asymétriques et complexes (photo 115), à ramifications divergentes (photo 116); conidiophores lisses à légèrement rugueux ; Métules et phialides produisant des conidies globuleuses lisses.

Analogie phénotypique: 91,30 %.

PHOTO : 113

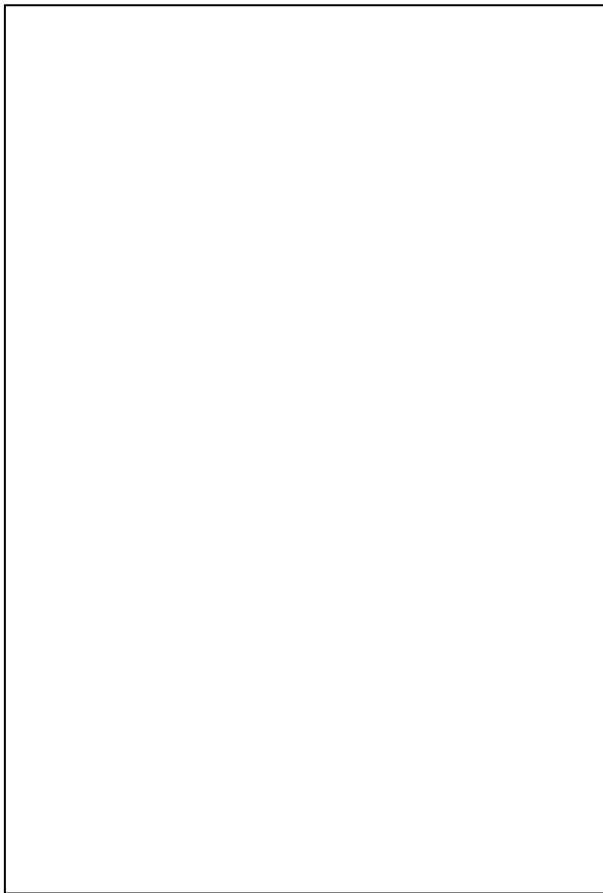


PHOTO : 114

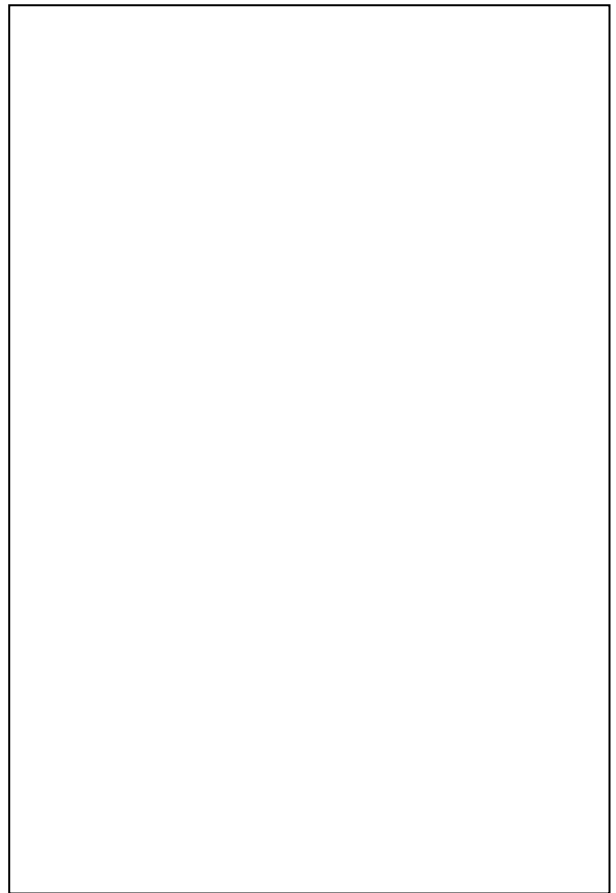


PHOTO : 115

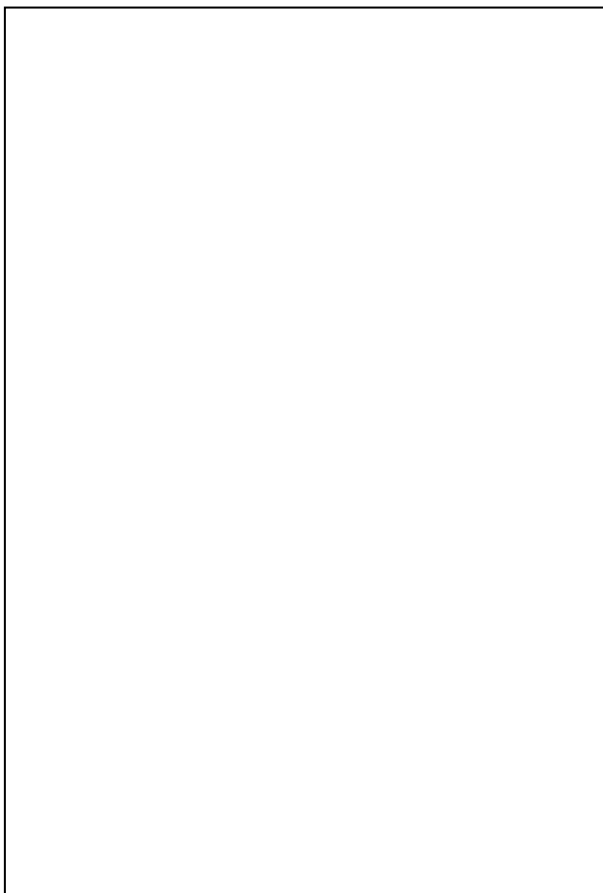
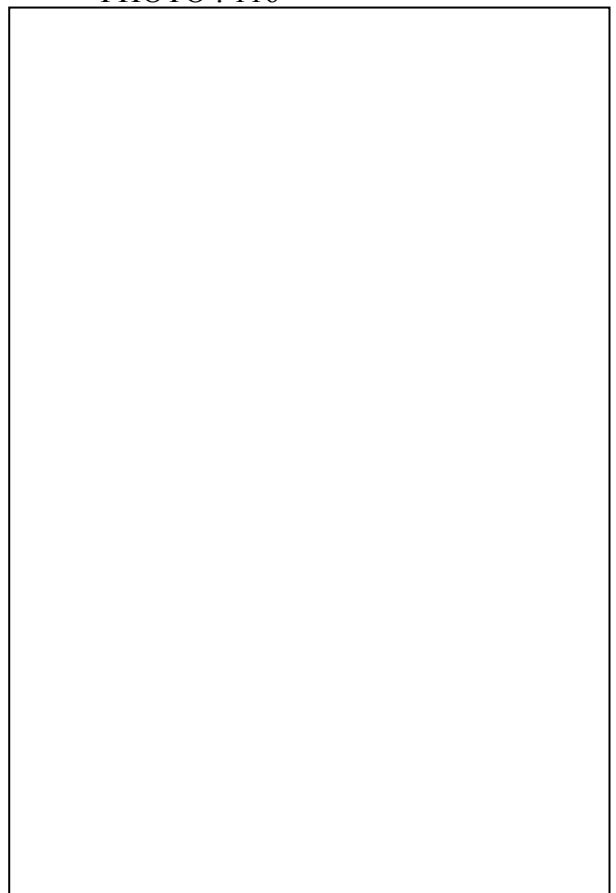


PHOTO : 116



1.2.10. Description de la souche *Penicillium citrinum*

	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Czapek ; atteignant 1–1,5 cm de diamètre au bout de 7 jours.	Pousse sur milieu de Sabouraud à 2% de glucose et sur milieu Czapek, à 25°C et à 30°C. Atteint 1 à 2 cm de diamètre en 5 jours sur milieu de Sabouraud, n'excédant pas 1 cm sur Czapek en fin de croissance. pH favorable à la croissance : 5,6 à 7,2.
Caractères cultureux	Thalle à croissance très lente velouté, vert gris. Revers et milieu de culture jaune à range ; exsudat souvent abondant au centre, clair, jaune à brun.	Colonie en dôme, à centre creux, blanche à 72 heures d'incubation, virant au bleu-vert à grisâtre pâle en vieillissant, veloutée compacte lisse, à contour régulier, adhérente au milieu (photo 117). Revers et milieu de culture ocre, à orange, elle donne naissance à d'autres colonies filles après quelques semaines.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Pénicilles biverticillés asymétriques ; - conidiophores, lisses portant 3 à 10 métules divergentes ; - phialides en verticilles compacts de 8 à 12, ampulliformes ; - conidies globuleuses, lisses ou finement rugueuses, groupées sur chaque métule en colonnes divergentes. 	<p>Pénicilles biverticillés, asymétriques (photo 119)</p> <p>conidiophores lisses, terminés par un groupe de 3 à 6 métules divergentes ;</p> <p>Phialides ampulliformes (photo 120), en verticilles compacts de 8 à 12, ;</p> <p>Petites conidies globuleuses, lisses.</p>

Analogie phénotypique: 81 %.

PHOTO : 117

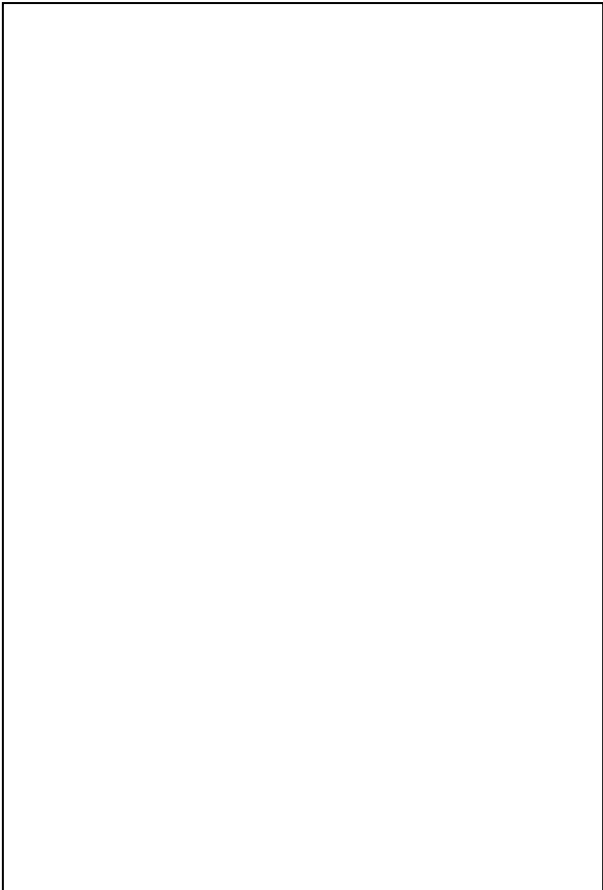


PHOTO : 118

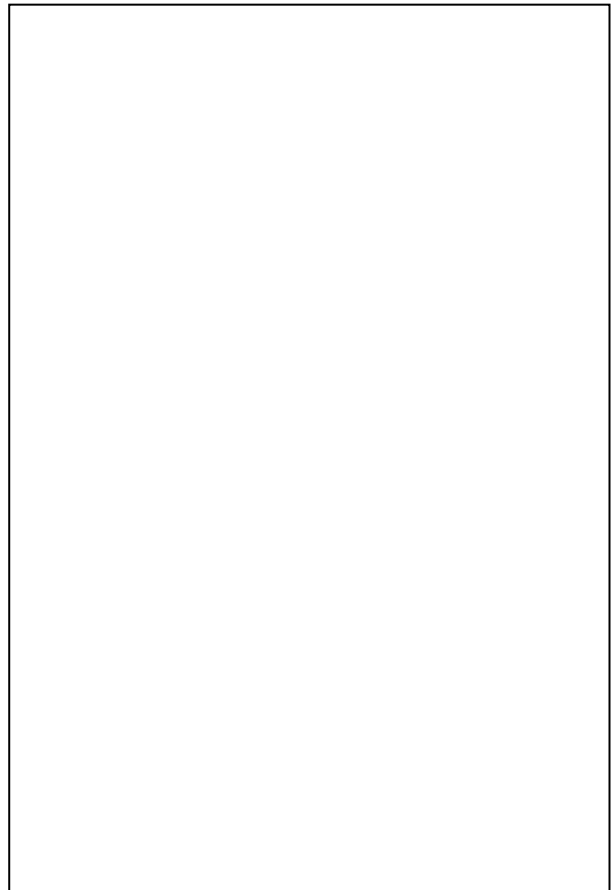


PHOTO : 119

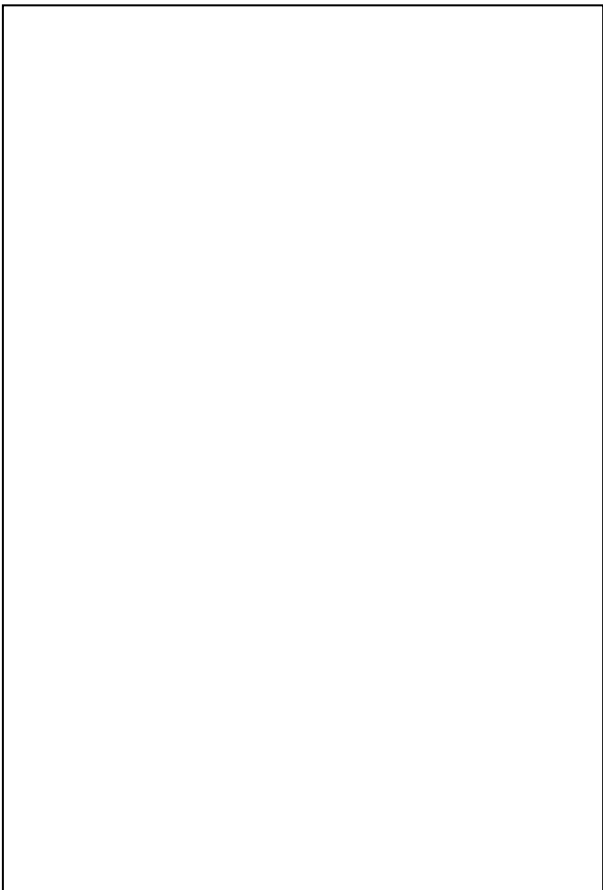
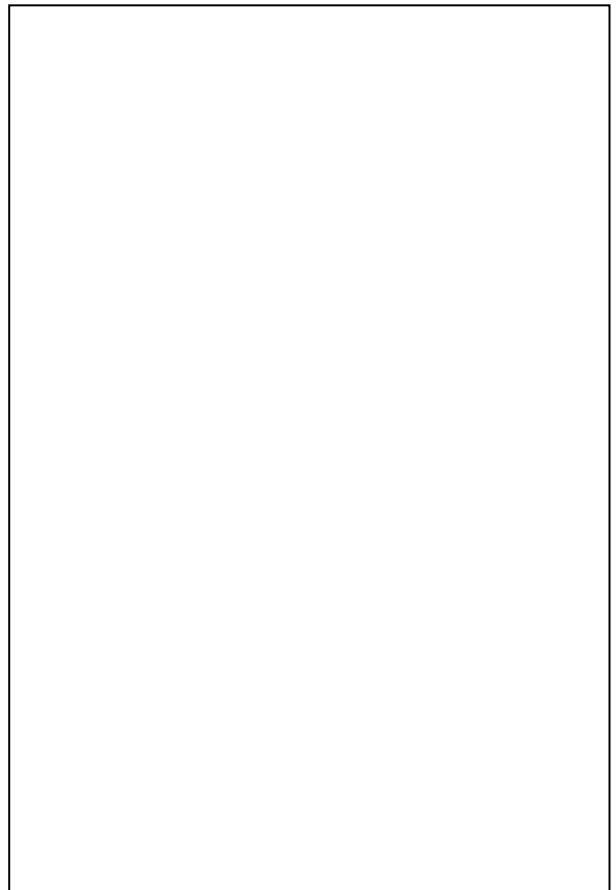


PHOTO : 120



1.3. Le genre *Fusarium*

Parmi les mycètes isolés nous avons mis en évidence quatre espèces du genre *Fusarium*

1.3.1. Description de la souche *Fusarium avenaceum*

	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu à 22°C–25°C ; atteint ~5,4 cm au bout de 4 jours.	Pousse sur les milieux Czapek, de Sabouraud et TGEA à un pH allant de 5,6 à 6,8 ; à 25°C, la filamentation est très rapide à partir de 24 heures.
Caractères cultureux	Thalle jaune ou rougeâtre avec un mycélium aérien blanc surélevé, laineux, abondant	Thalle très fin, lâche, de 1 cm de diamètre après 24 heures, blanc, laineux. Au bout de 72 heures, il se propage rapidement par extension, le diamètre est de 2,5 cm sur milieu Czapek (photo121). Revers présentant une pigmentation rouge à jaunâtre par places non diffusible dans la gélose (photo122).
Aspect microscopique	- Conidiophores simples ou plus ou moins ramifiés, formés le mycélium aérien ; simple phialides ou polyphialides ; macroconidies produites par les phialides fusiformes, en forme de collier, pointues sur les deux bords, 4–7 septées, avec une cellule apicale allongée et une cellule en pied. . - microconidies 0–3 septées ; chlamydospores absentes dans le mycélium, parfois présentes dans les macroconidies.	Macroconidies fusiformes, recourbées en forme de collier 5 à 7 séptés. Cellule apicale pointue et Foot-cell (photo 123). Présence de chlamydospores intercalaires et terminales, formées par les macroconidies, absentes au niveau des filaments (photo124).

Analogie phénotypique: 75 %.

PHOTO : 121

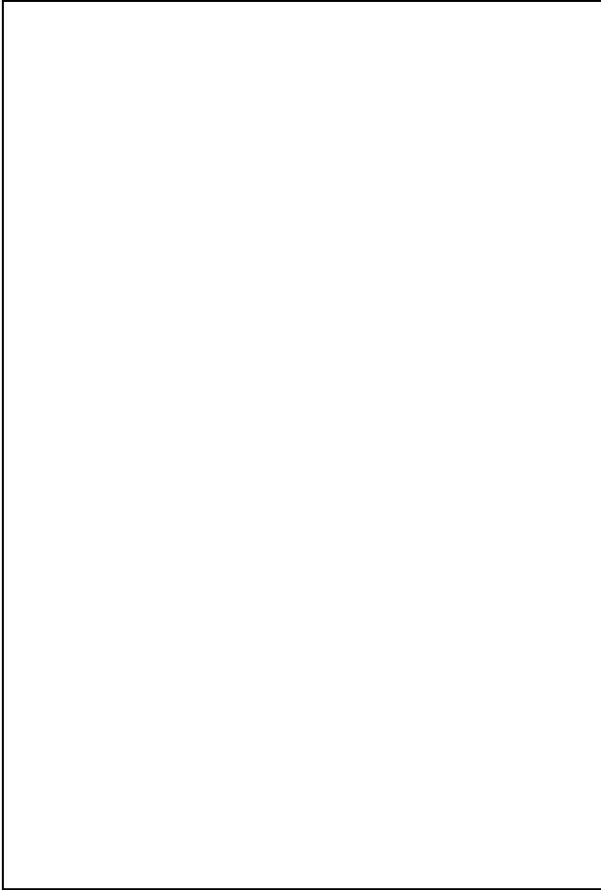


PHOTO : 122

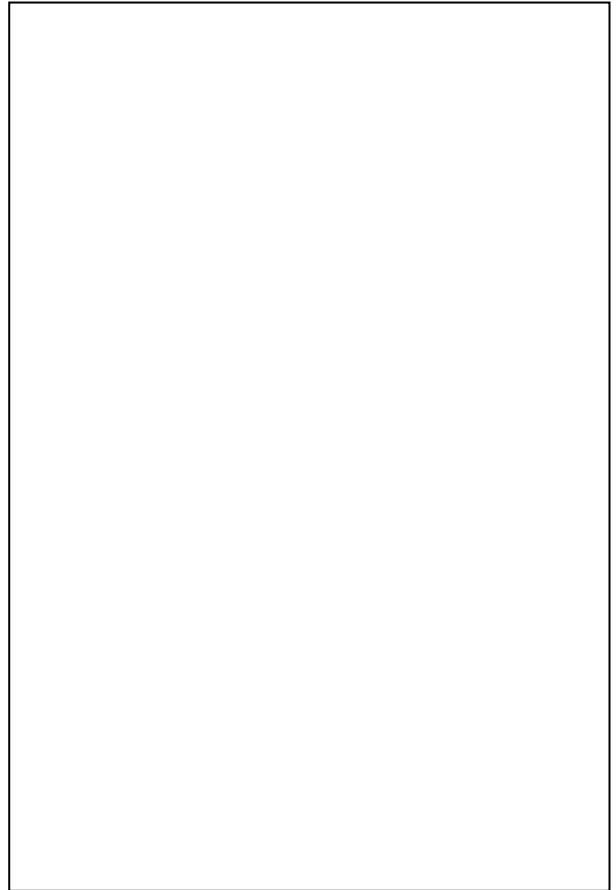


PHOTO : 123

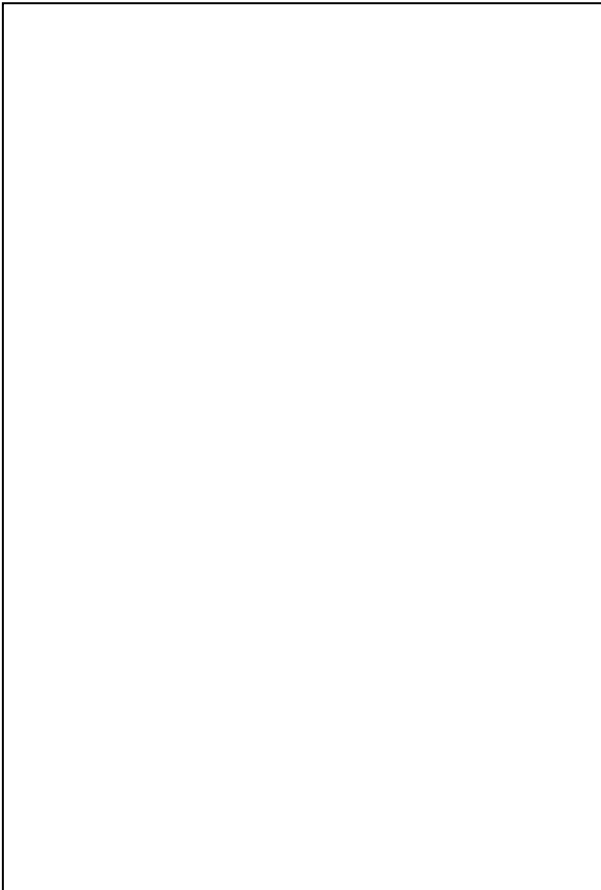
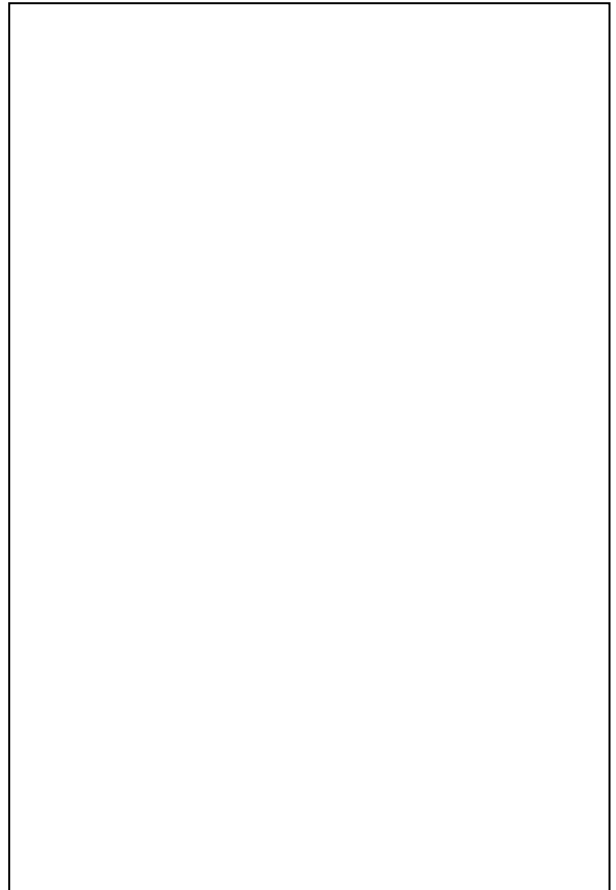


PHOTO : 124



1.3.2. Description de la souche *Fusarium culmorum*

	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt et PGA, à 25 c°. La colonie est de 8,5 cm après 4 jours.	Pousse sur milieu de Sabouraud, à 25°C, très rapidement en atteignant ~ 5 cm de diamètre au bout de 5 jours, plus lentement sur milieu Czapek. Le pH de croissance est de 5,6 à 6,5.
Caractères culturaux	Thalle à croissance rapide, d’abord blanc à jaunâtre ou rose puis ochracé à rouge brunâtre. Revers rouge à pourpre ou brun.	Colonie plate, floconneuse, blanche rosée, ombiliquée, à contour irrégulier lobé, adhérente au milieu et à croissance stratifiée sans gradient de couleur (photo 125). Revers rose présentant quelques courts plis radiaires au centre de la colonie (photo 126).
Aspect microscopique	- Microconidies absentes ; - phialides courtes et larges, formées sur le mycélium aérien ou groupées en sporodochies. - macroconidies fusiformes, courbées, septées (6–8) ; à cellule apicale courte et pointue ; - chlamydospores intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses.	Macroconidies solitaires, 3 à 5 séptées (photo 127 a-); cellules apicales courtes et pointues ; macrophialides courtes, portées perpendiculairement sur les conidiophores (photo 127 b-); absence de microconidies ; chlamydospores brunes, formées par le mycélium (photo 128 c-).

Analogie phénotypique: 75%

PHOTO : 125

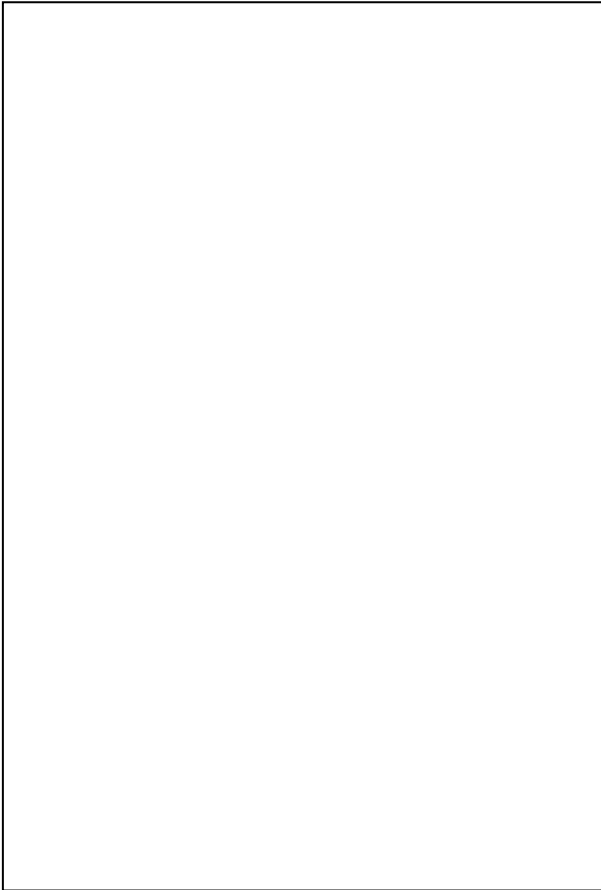


PHOTO : 126

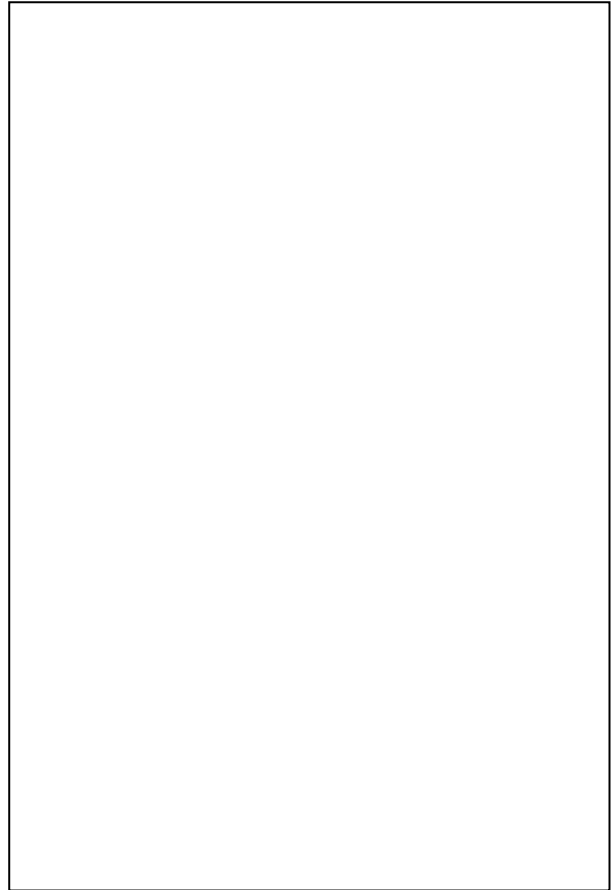


PHOTO : 127

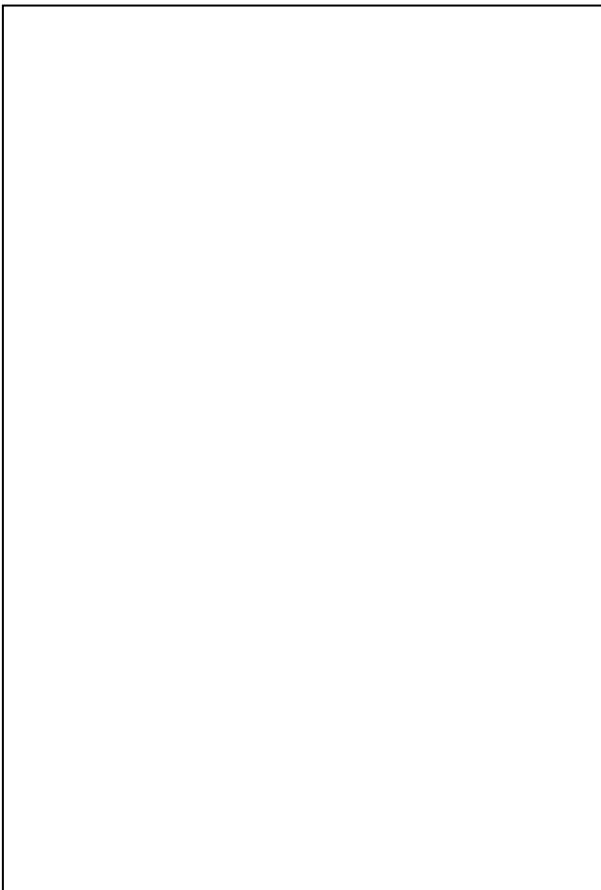
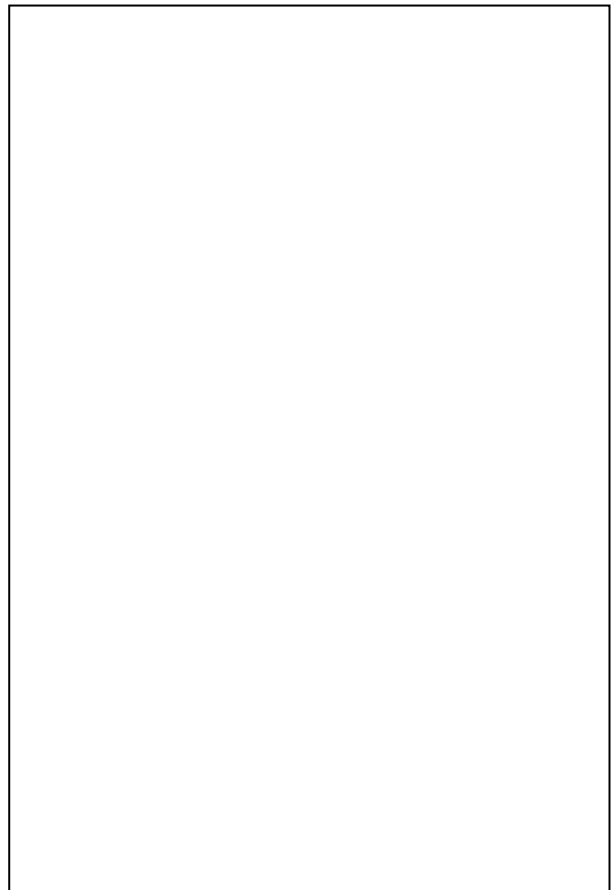


PHOTO : 128



1.3.3. Description de la souche <i>Fusarium sp.</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt et PDA, à 25°C. Atteint 4,5–6,5 cm au bout de 4 jours.	Pousse sur milieu de Sabouraud à 2% de glucose, dont le ph est de 5,6 ; la température d'incubation varie entre 25°C et 30°C. son diamètre atteint 2cm au bout de 3 jours d'incubation.
Caractères culturaux	Colonies blanc beige à mauve pâle. Revers pourpre.	Coonie plate, d'un blanc cassé, laineuse, présentant des rides au centre, quelques rares plis radiaires et un bouton central (photo129). On marque l'absence de pigment dans l'envres (photo130).
Aspect microscopique	- Macroconidies peu courbées, pointues aux 2 extrémités avec 3 (parfois 5) cloisons ; - microconidies abondantes, elliptiques formées par les phialides trapues. - chlamydo-spores normalement présentes.	Macroconidies solitaires, cloisonnées transversalement en 3 à 5 compartiments peu incurvées ; microconidies globuleuses formées sur les phialides courtes pérpendiculaires au filaments mycélien (photo131) ; absence de chlamydo-spores.

Analogie phénotypique : 60%.

PHOTO : 129

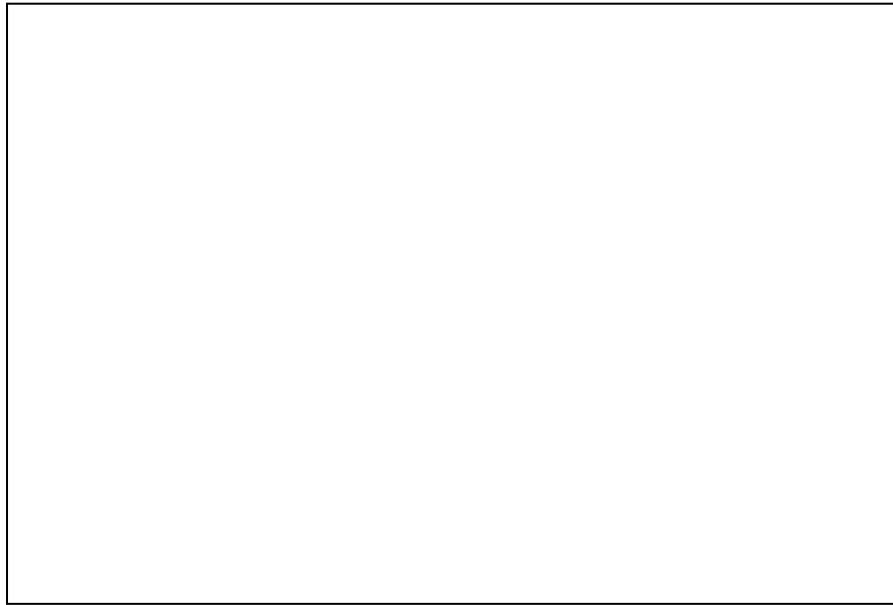


PHOTO : 130

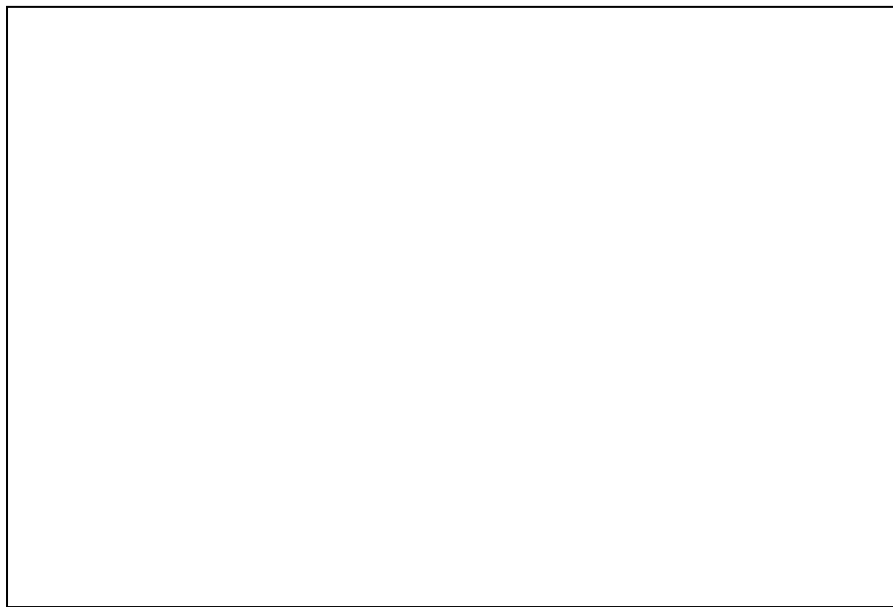


PHOTO : 131



1.3.4. Description de la souche <i>Fusarium oxysporum</i> .		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt et PDA, à 25°C. Atteint 4,5–6,5 cm au bout de 4 jours.	Pousse sur milieu de Sabouraud et Czapek dans un pH de 5,6 à 6,8 et à 25°C ; atteint ~ 3,5 cm de diamètre au bout de 5 jours d'incubation. Très rapide à 35°C, arrive jusqu'à 6 cm de diamètre au bout d'une semaine.
Caractères culturaux	Colonies blanc beige à mauve pâle. Revers pourpre.	Colonie cotonneuse, blanche à rose, ombiliquée présentant un mycélium aérien intense à la périphérie, d'un blanc franc, à contour régulier, s'aplatit et vire à la couleur crevette en vieillissant (photo132) . Revers pigmenté en rouge foncé au niveau du vieux mycélium (photo133).
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Macroconidies peu courbées, pointues aux 2 extrémités avec 3 (parfois 5) cloisons ; - microconidies abondantes, elliptiques formées par les phialides trapues. - chlamydospores normalement présentes. 	<p>Microconidies 0 à 2 séptées ;</p> <p>Macroconidies fusiformes incurvées, 4 à 7 séptées avec une cellule apicale allongée et un pied (photo134).</p> <p>Présence de microphialides et de chlamydospores terminales ovoïde portées par les conidiophores (photo135).</p>

Analogie phénotypique: 77%

PHOTO : 132

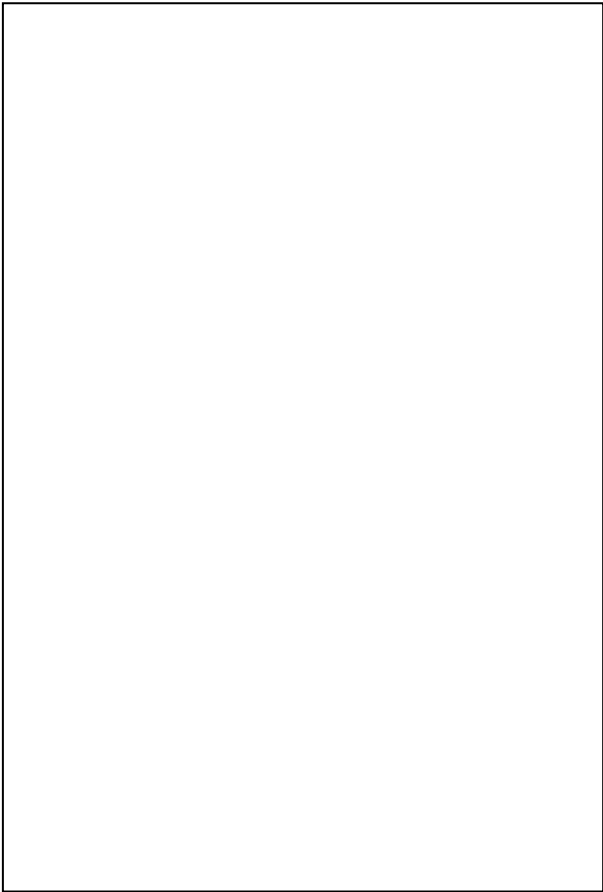


PHOTO : 133

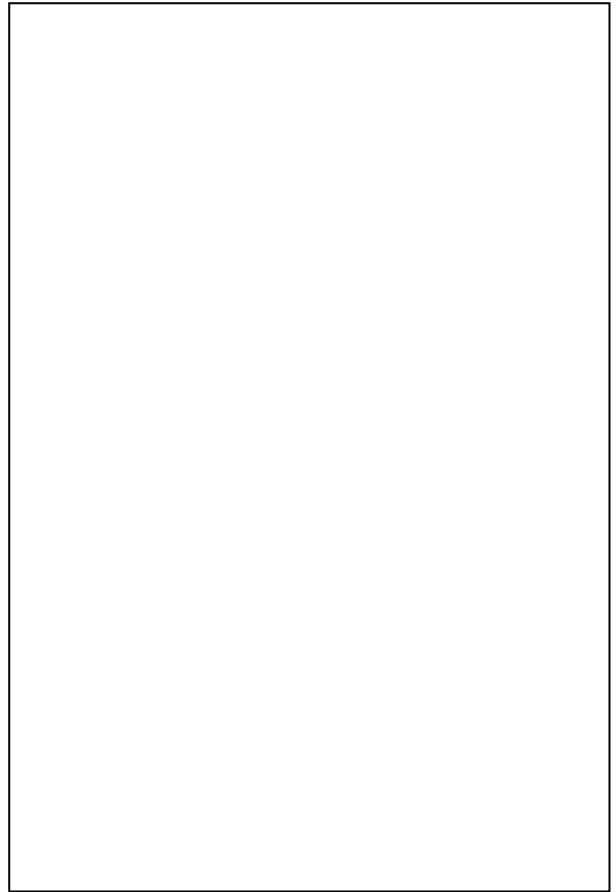


PHOTO : 134

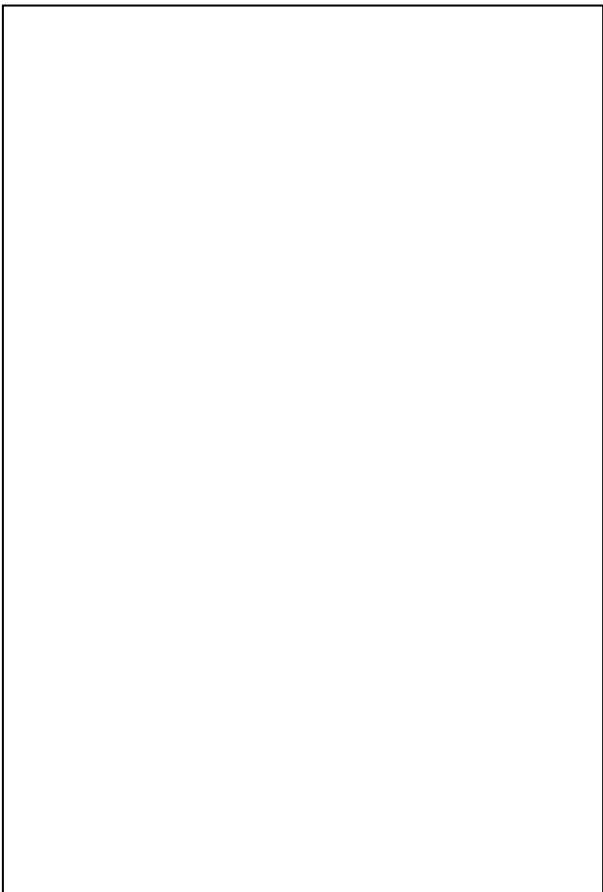
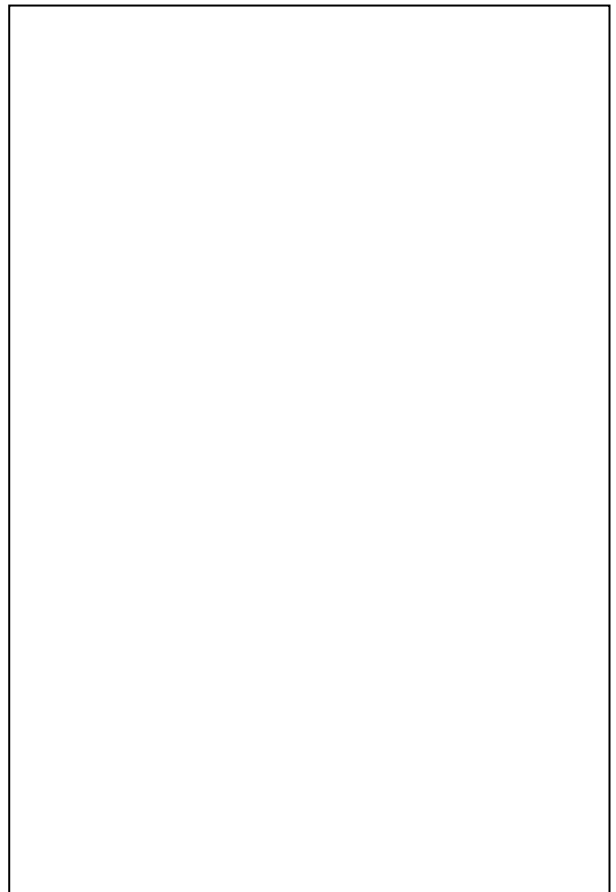


PHOTO : 135



Présentation schématique

1.4. Le genre *Cladosporium*

Deux souches de *Cladosporium* ont pu être purifiées.

1.4.1. Description de la souche <i>Cladosporium macrocarpum</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt à 18 c°- 12 c°. Atteint 2,5 à 3,5 cm après 10 jours.	Pousse sur milieu Czapek, à 30°C et à pH de 6–6,8. Atteint ~ 2 cm en une semaine.
Caractères culturaux	Thalle velouté couvert souvent d'un mycélium aérien grisâtre, vert olive. Revers vert noir.	Après 72 heures d'incubation la colonie est verte, de ~0,5 cm de diamètre, veloutée compacte, à revers rosâtre et d'un contour irrégulier(photo136). Au bout de 4 jours, le revers est brun-noir (photo137), le diamètre atteint ~ 1 cm ; elle est cérébriforme à contour échancré, adhérente au milieu. Le 5ème jour, elle atteint 1,5 cm de diamètre, plate à la périphérie, avec un mycélium aérien grisâtre à vert- olive ; le contour étant pulvérulent.
Aspect microscopique	- Conidiophores poussant latéralement sur les hyphes, longs, brun-olive, lisses, partiellement verruqueux ; - conidies le plus souvent en courtes chaînettes, 0 à 3 septées, ellipsoïdes, brun à olive brun densément verruqueux.	Conidiophores formés latéralement, sur les filaments (photo138), brun- vert à brun pâle; Conidies elliptiques ou cylindrique (photo139), généralement uni cellulaires brun- olivacé.

Analogie phénotypique: 100 %.

PHOTO : 136

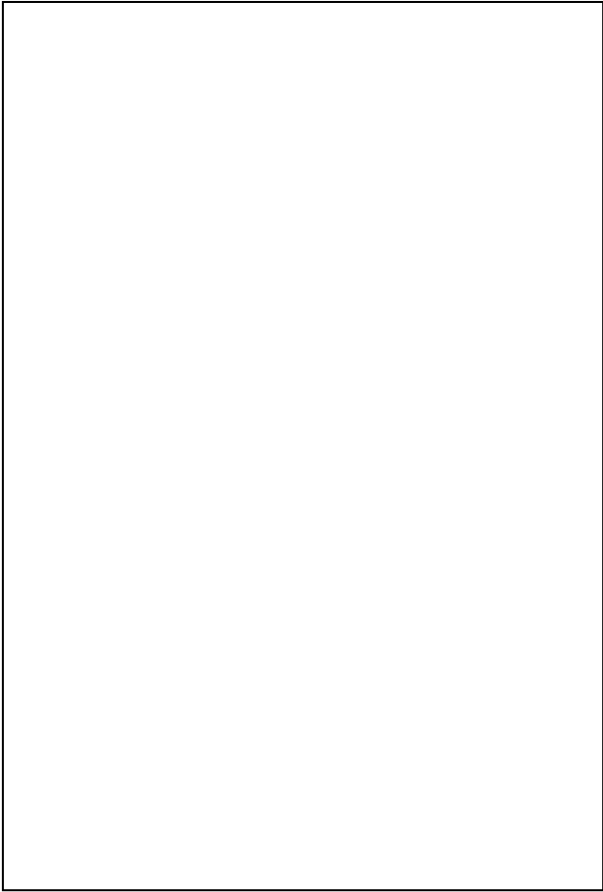


PHOTO : 137

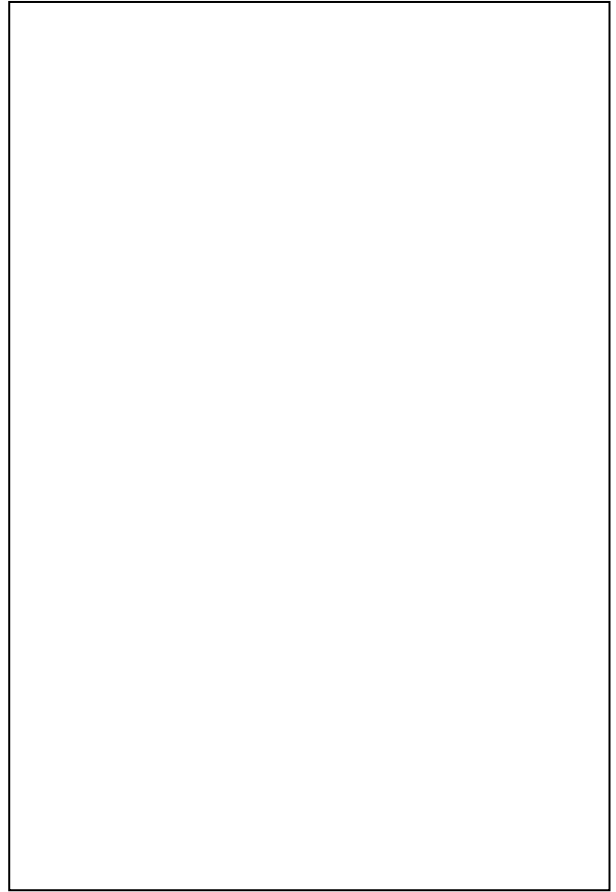


PHOTO : 138

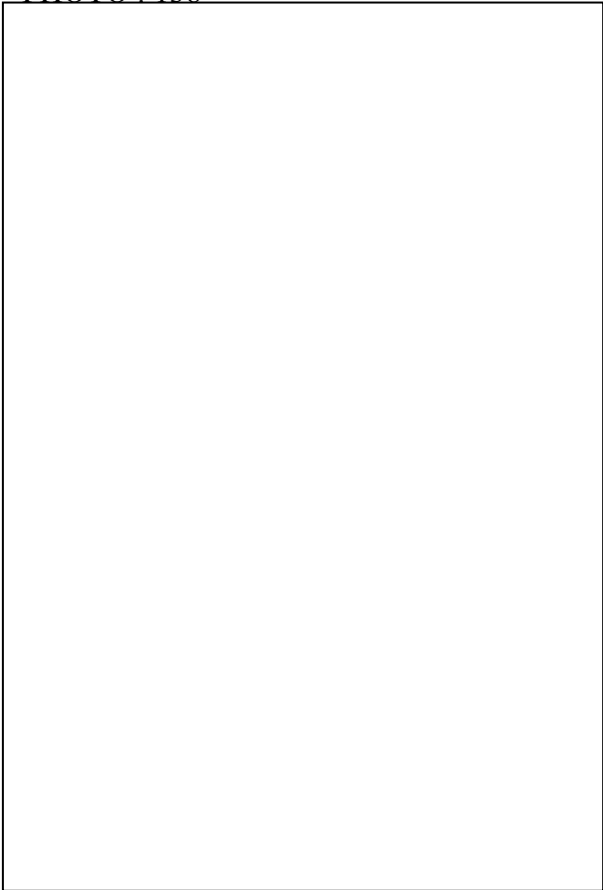
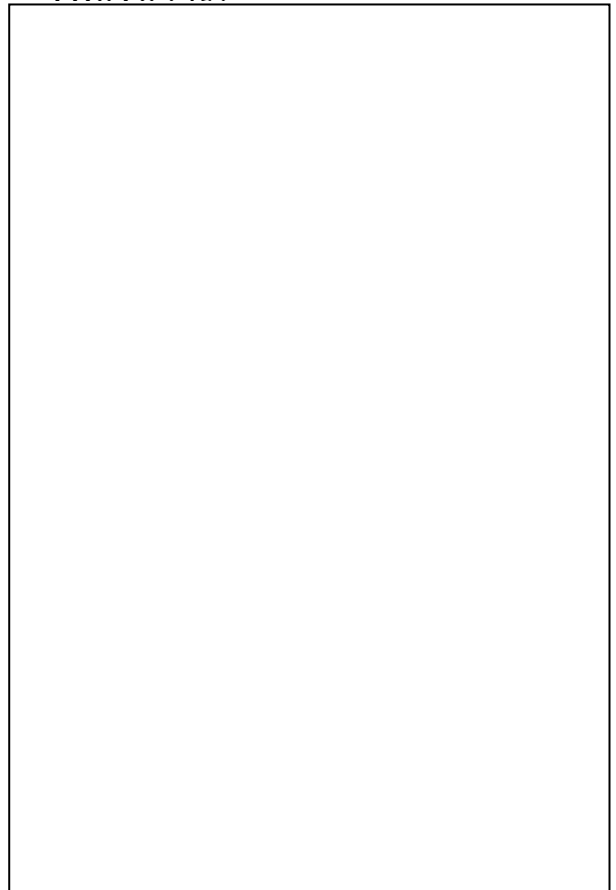


PHOTO : 139



1.4.2. Description de la souche <i>Cladosporium sphaerospermum</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Poussent sur milieu malt à 18 c° à 20 c°, atteignant 1,5 à 2 cm en 10 jours.	Croit sur milieu Czapek à pH 6,8 et à 25°C. Le diamètre varie entre 0,3 et 1,2 cm après une semaine d'incubation.
Caractères cultureux	Thalle vert olive à brun olivacé, velouté, poudreux à revers noir verdâtre.	Colonie verte- olive, bombée, veloutée dense, adhérente au milieu, à contour régulier, présentant quelques plis radiaires (photo 140) ; revers gris noir à noir franc chez les vieilles colonies(photo 141) .
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Condiophores à croissance non sympodiale, brun olivacé plus ou moins foncé, lisse ou granuleux ; - ramoconidies 0–3 septées, lisses ou granuleuses ; - conidies sub-globuleuses, unicellulaires, brunes, finement granuleuses. 	<p>Filaments mycéliens hyphaux; conidiophores sans renflements (photo 142), lisses ou verruqueux;</p> <p>Conidies brunes à brun- verdâtre, lisses; Ramoconidies elliptiques, d'autres plus ou moins cylindriques, uni ou bicellulaires disposées en chaînettes acropétales (photo 143) .</p>

Analogie phénotypique: 100 %.

PHOTO : 140
Results et discussions

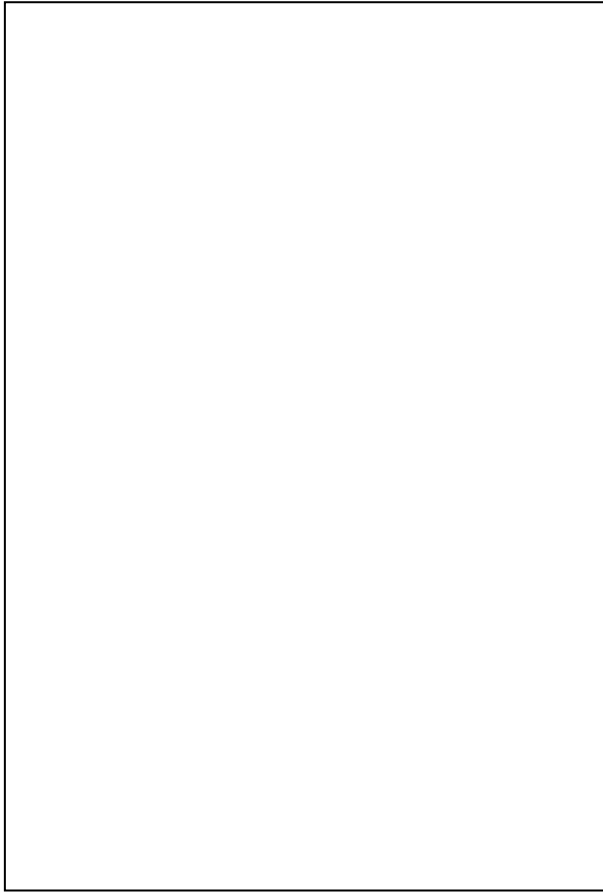


PHOTO : 141

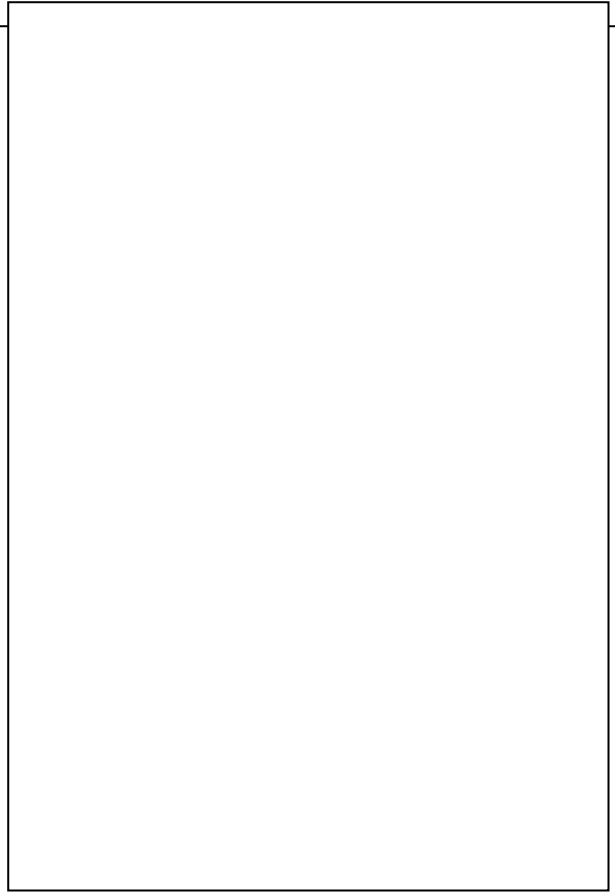


PHOTO : 142

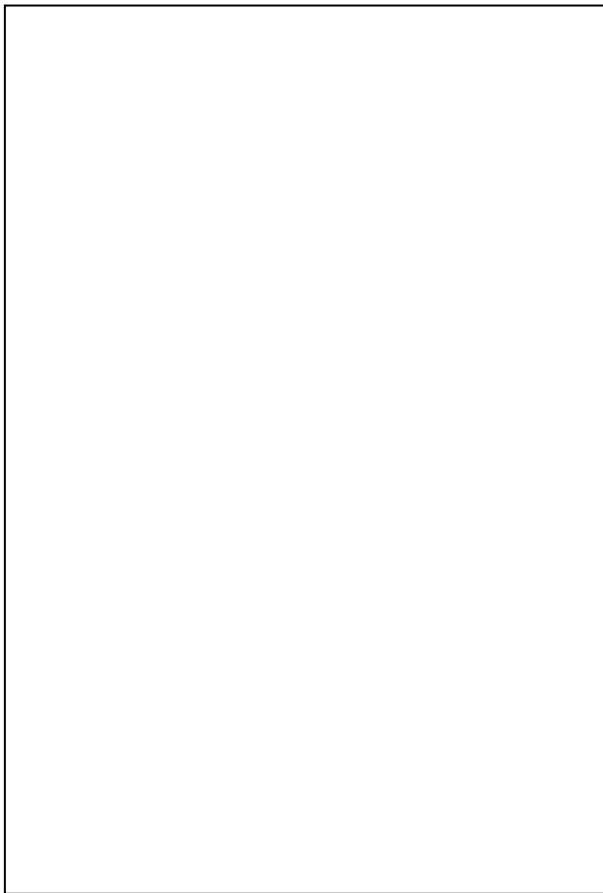
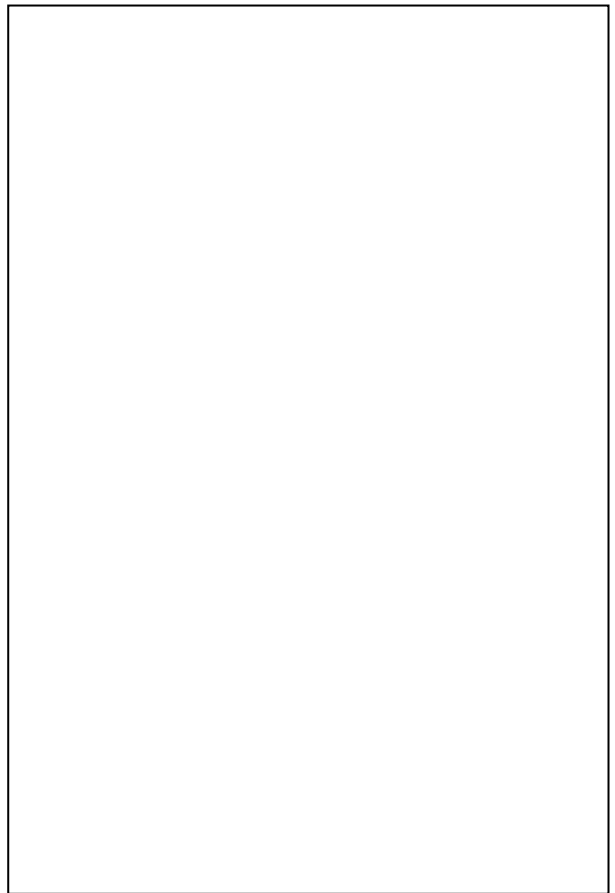


PHOTO : 143



1.5. Autres espèces

D'autres genres représentés qualitativement, chacun par une seule souche, sont regroupés comme suit :

1.5.1. Description de la souche <i>Alternaria alternata</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu Malt à 25 c°. Atteint 6 cm de diamètre au bout de 7 jours.	Pousse sur milieu de Sabouraud glucosé à 2% sur milieu Czapek, dans un pH de 5,6 à 6,8. Atteignant un diamètre de ~ 7 cm en 10 jours d'incubation à 30°C ; il est moins riche et à croissance plus lente sur milieu à base de papier filtre.
Caractères culturaux	Colonies gris-vert foncé ; revers foncé à noir. A la loupe, chaînes ramifiées des spores allongées, brunes.	Colonie à thalle noir, plate, duveteuse, d'un aspect laineux, ombiliquée, à contour régulier (photo 144) ; revers étant dans les mêmes tons (photo 145) .
Aspect microscopique	- conidies pluricellulaires à cloisons croisées (dictyospores), piriformes à allongées, avec un bec plus ou moins marqué ; - conidiophores 1 à 3 septées lisses droits ou flexueux avec plusieurs pores.	Filaments séptés, lisses, ramifiés, de couleur brune portant de courts conidiophores (photo 146 a-) ; Spores noires caractéristiques, piriformes, avec un bec apical court, s'élargissent à la base, ce sont des dictyospores présentant des cloisons transversales, obliques et longitudinales en nombre de 1 à 5 (photo 147) .

Analogie phénotypique: 82 %.

PHOTO : 144

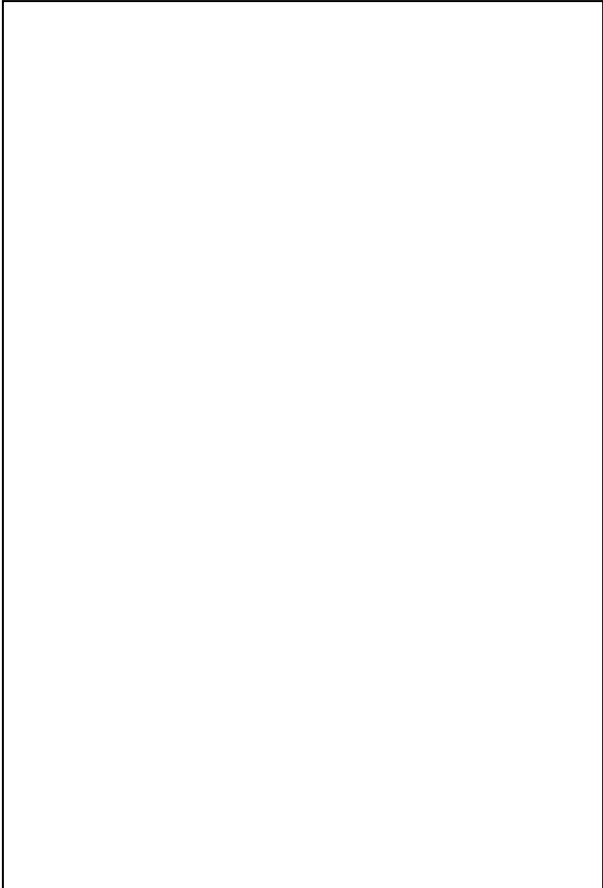


PHOTO : 145

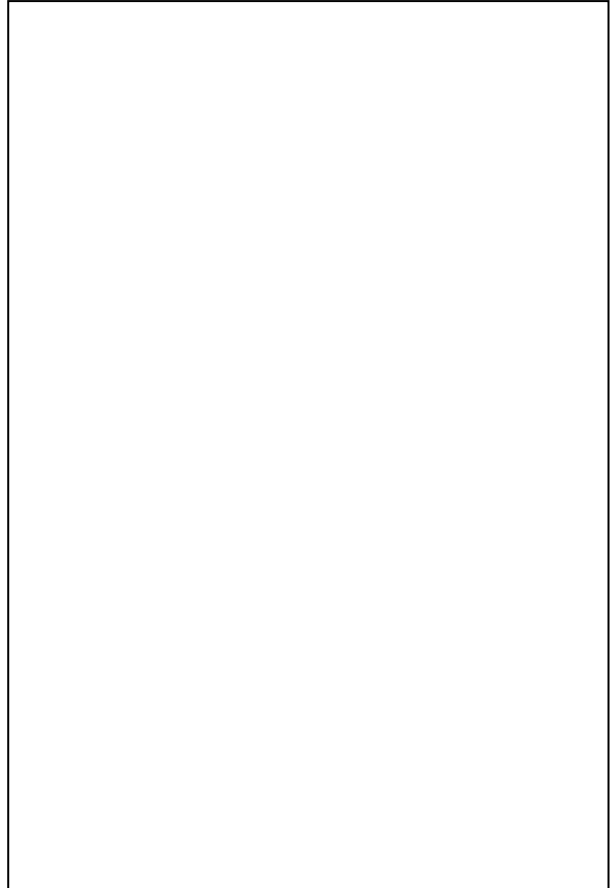


PHOTO : 146

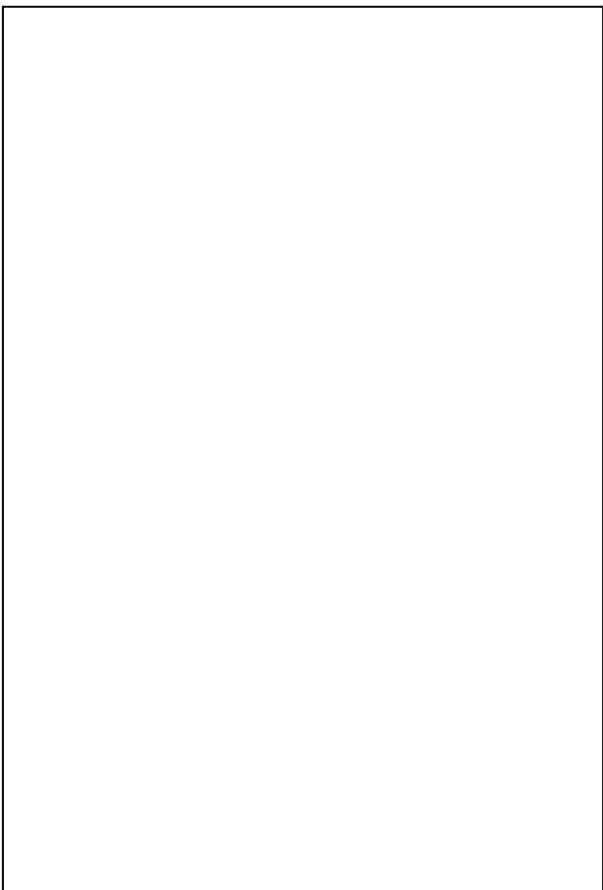
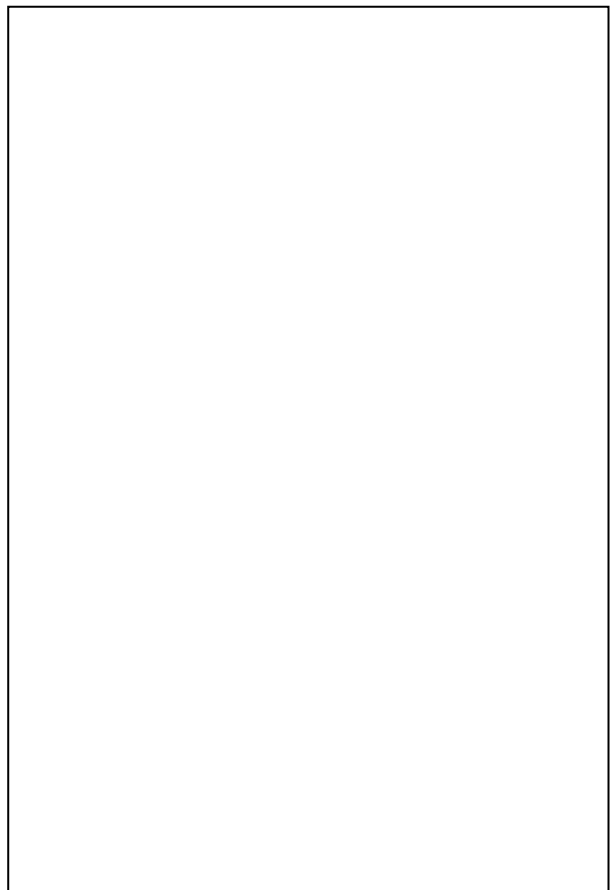


PHOTO : 147



1.5.3. Description de la souche <i>Geotrichum candidum</i> Téléomorphe: <i>Galactomyces geotrichum</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Mycélium à croissance rapide	Pousse sur milieu Czapek et sur milieu de Sabouraud simple ou additionné au chloramphénicol, à 27°C – 35°C à pH allant de 6 à 6,8. Le diamètre de la colonie dépasse 7 cm après 8 jours d'incubation à 35°C.
Caractères cultureux	Thalle, blanc pur, lisse.	Colonie plate, plâtreuse à visqueuse, d'un aspect rayonné feutré, couleur toujours d'un blanc pur (photo 148). Centre plus ou moins surélevé et contour très régulier. Revers de couleur blanc-cassé (photo 149).
Aspect microscopique	Filaments mycéliens formant de nombreuses arthrospores par des articulation du mycélium au niveau des doubles cloisons présentant un aspect de levure ; arthrospores cylindriques arrondies aux extrémités de taille variable.	Arthrospores isolées ou en courtes chaînettes (photo 150) abondantes, allongées, arrondies aux extrémités (photo 151).

Analogie phénotypique avec le type morphologique II [34] : 80 %.

Analogie phénotypique avec le type morphologique III : 60 %.

PHOTO : 148

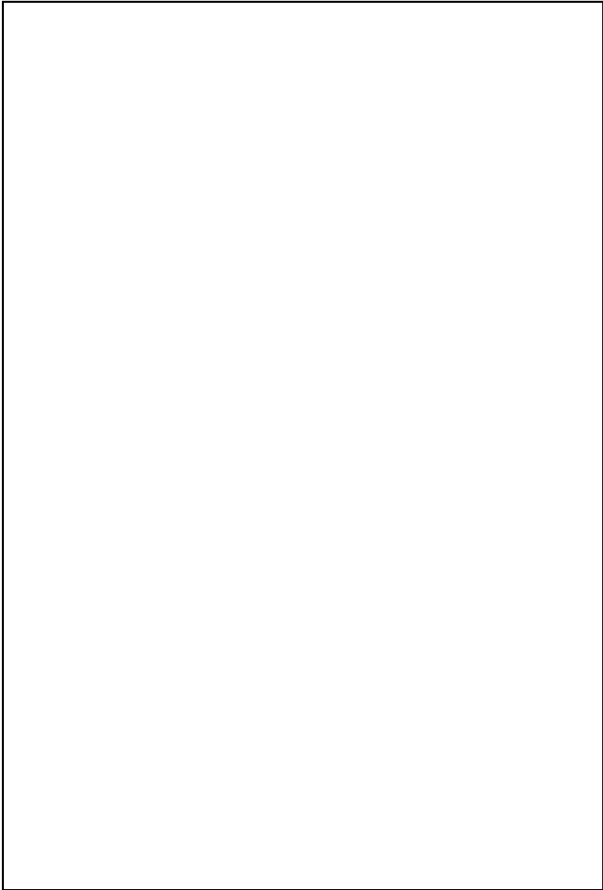


PHOTO : 149

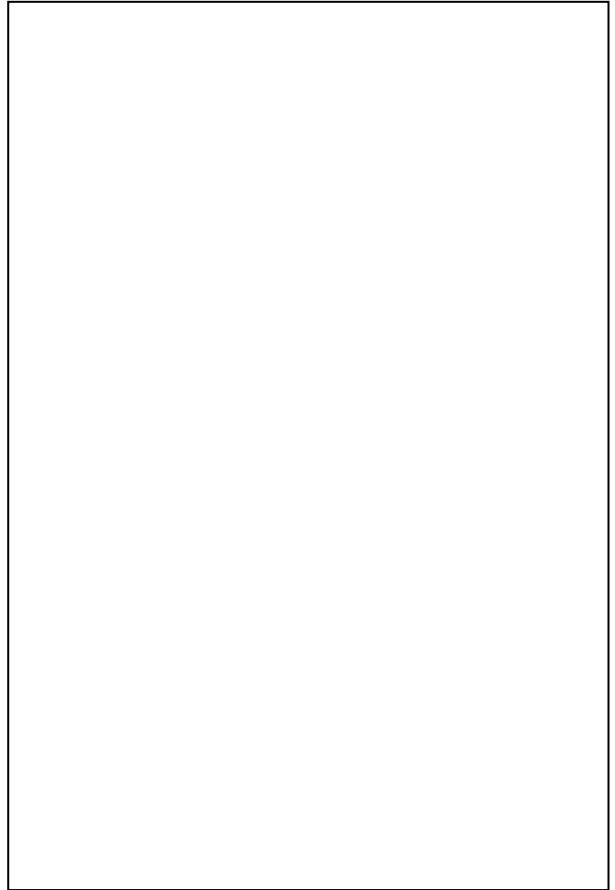


PHOTO : 150

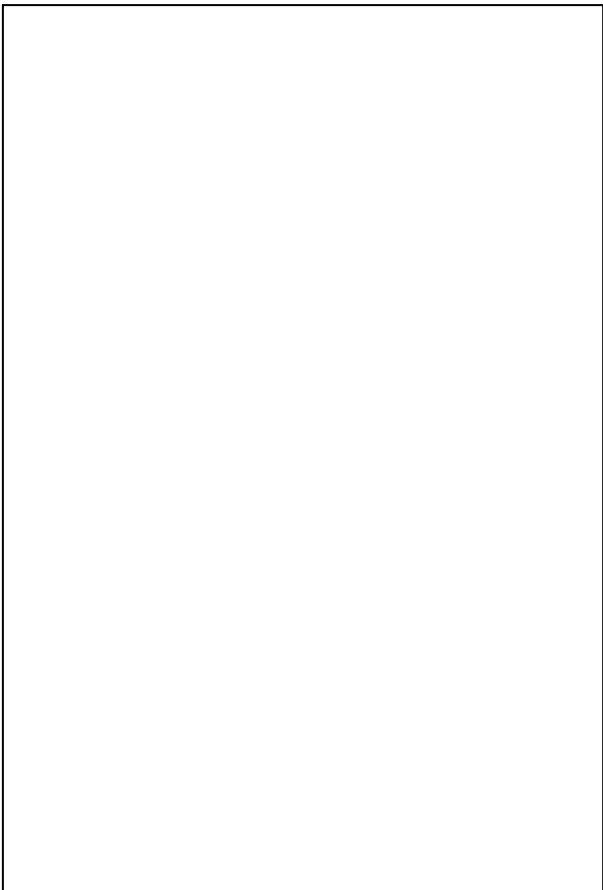
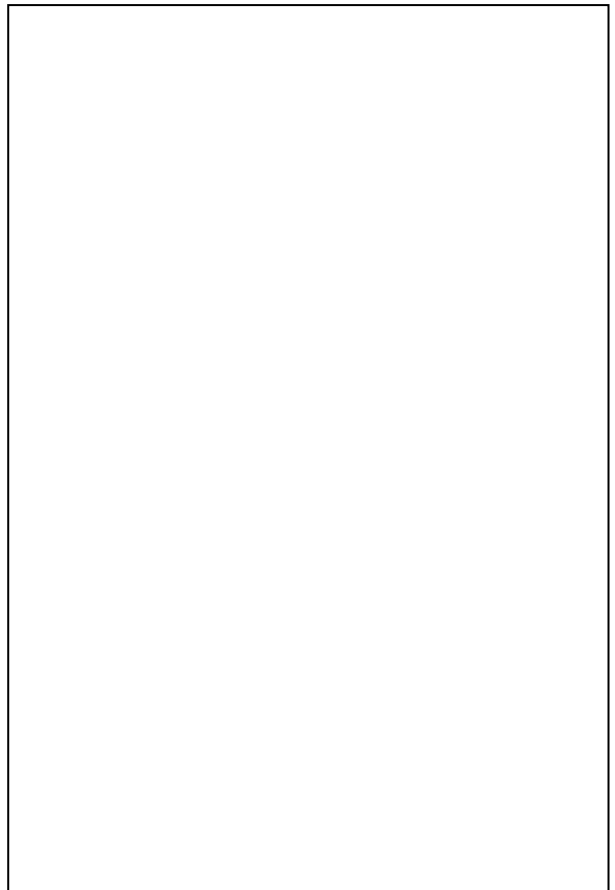


PHOTO : 151



1.5.2. Description de la souche <i>Geomyces sp.</i>		
	Souche de référence <i>Geomyces pannorum</i>	Souche à identifier
Conditions de culture		Elle pousse très rapidement à 20°C–25°C tandis que sa croissance est beaucoup plus faible à 30°C – 35°C. Le pH de croissance va de 5 à 6,8. Sur milieu Czapek, cette espèce arrive à coloniser toute la boîte au bout de 8 jours d’incubation à 20°C.
Caractères cultureux	Thalle à croissance rapide, dense, d’aspect poussiéreux, de couleur variable, blanc, gris chamois ou brun orangé. Revers hyalin, jaune, jaune orangé.	Colonie laineuse à poussiéreuse, blanche, thalle plus ou moins relâché, fin, diffusant un pigment jaune-rouille dans la gélose.
Aspect microscopique	- Conidiophores hyalins très ramifiés ; - conidies thalliques formées directement par différenciation d’articles du conidiophore, terminales ou latérales, petites ; - arthrospores produites par le mycélium et libérées par lyse de cellules mères.	petites conidies thalliques, ovées, lisses, terminales ou latérales, formées directement sur le conidiophore ; Arthrospores produites par le mycélium et libérées par lyse des cellules mères.

Analogie phénotypique : 93%.

PHOTO : 152

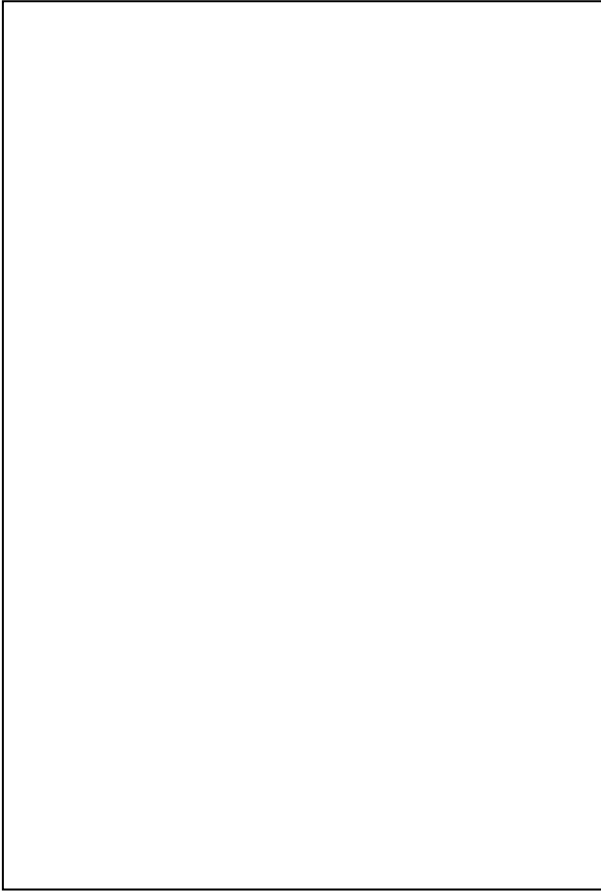


PHOTO : 153

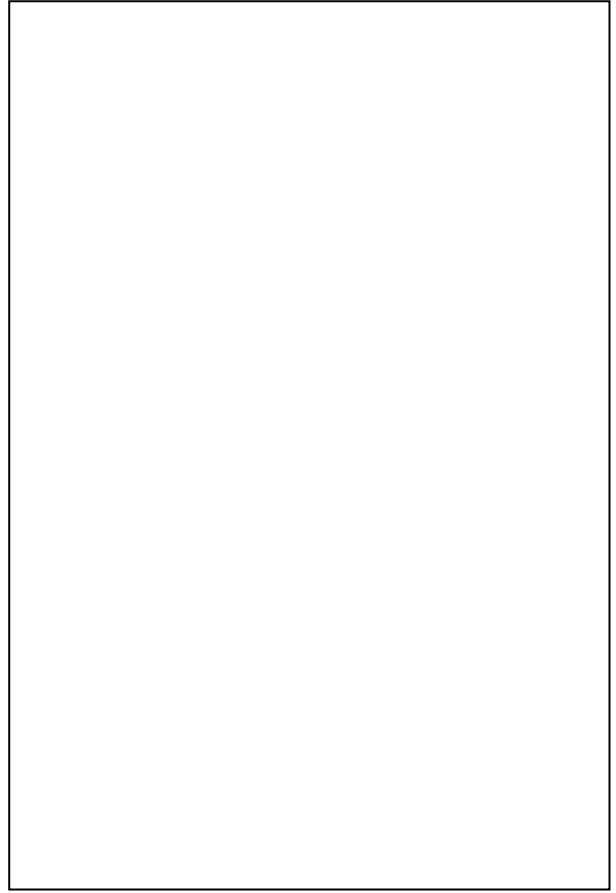


PHOTO : 154

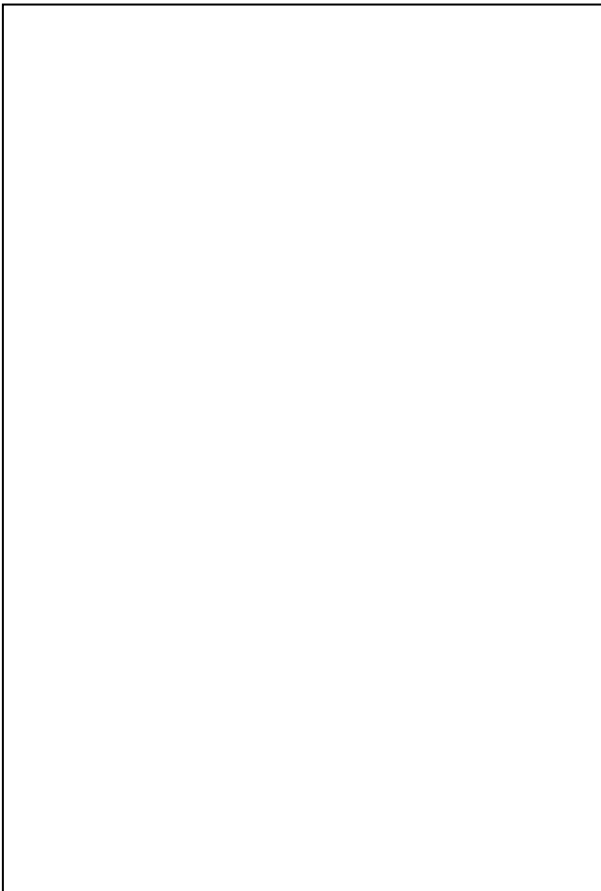
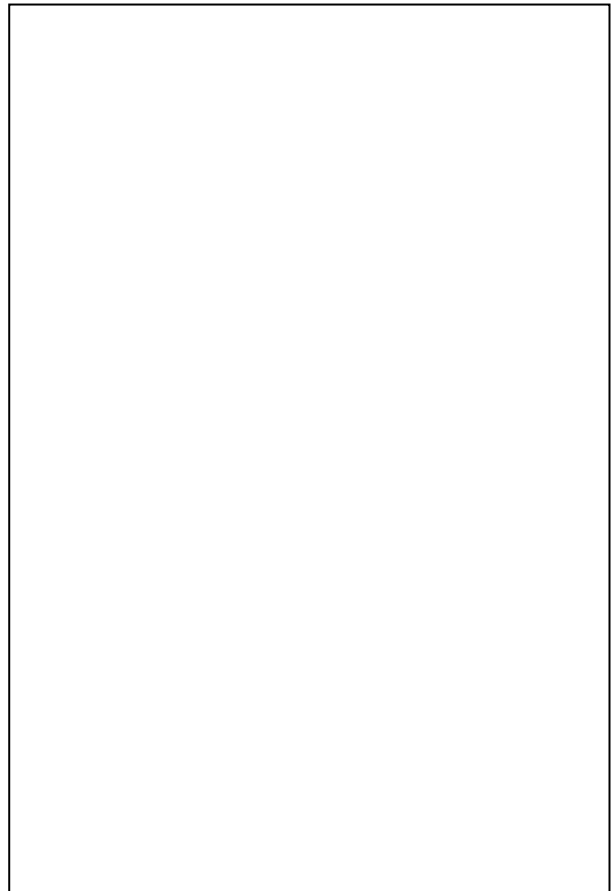


PHOTO : 155



1.5.3. Description de la souche *Acremonium sp.*

	Souche de référence <i>Acremonium charticola</i>	Souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt à 20°C ; atteint 1 à 1,5 cm de diamètre au bout de 10 jours.	Pousse sur milieu Czapek de 6,8 de pH, atteignant ~ 4,5 cm de diamètre après 8 jours d'incubation à 35°C, à croissance beaucoup moins rapide sur papier filtre.
Caractères cultureux	Colonies d'un aspect humide, lisse, parfois en mèches.	Aspect d'abord humide, puis couvert d'un duvet ras, blanc sur le stroma, donnant un aspect cotonneux plat, surélevé au centre. La colonie devient blanche à rosée (photo 156) (couleur de chair) après une semaine.
Aspect microscopique	<ul style="list-style-type: none"> - Conidiophores souvent ramifiés ; - phialides produites sur le mycélium superficiel, elles sont très allongées ; - conidies groupées en glomérules humides, ellipsoïdes à cylindriques, courtes, hyalines, lisses. 	L'aspect visqueux de la colonie est dû à l'abondance des conidies elliptiques très fines, regroupées en fausses têtes (photo 158) sur les faisceaux d'hyphes aériens.

Analogie phénotypique: 85 %.

PHOTO : 156

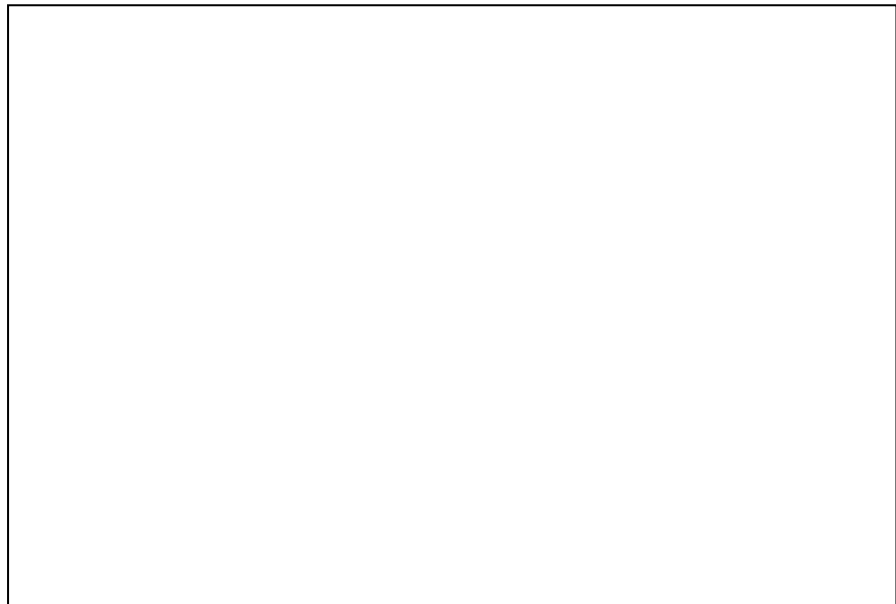


PHOTO : 157

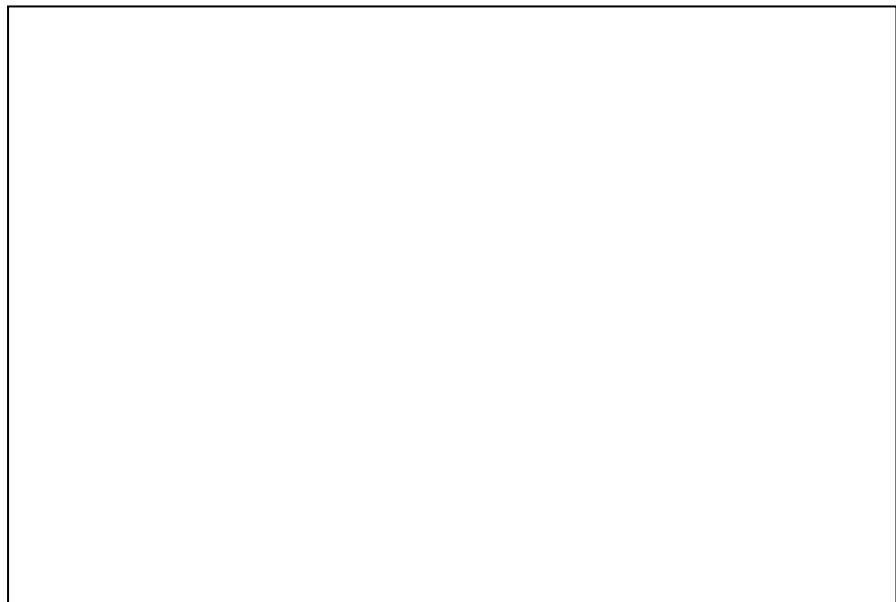
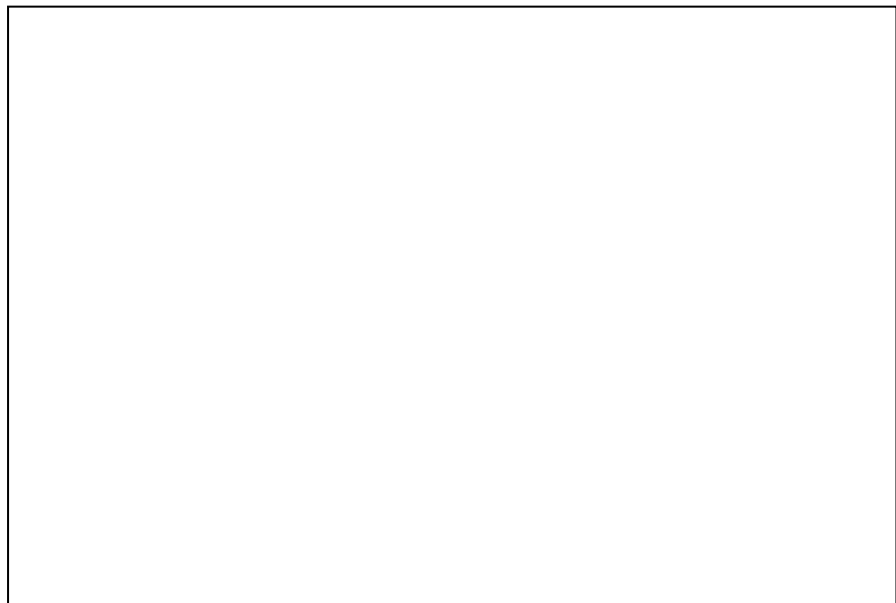


PHOTO : 158



1.5.4. Description de la souche <i>Trichoderma sp.</i>		
	souche de référence <i>Trichoderma harzianum</i>	souche à identifier
conditions de culture	Pousse sur milieu malt à 20 c° ; atteint 9cm au bout de 5 jours	Croit sur milieu Czapek à 30°C à pH =5- 6,8.
caractères cultureux	Colonies à croissance très rapide, mycélium ras, hyalin, presque invisible, se colorant rapidement en vert par la sporulation ; revers clair parfois teinté de jaune. A la loupe, petites boules superficielles, vertes luisantes.	Après 72 heures, le thalle est très fin, relâché, funiculeux, incolore, de diamètre ≈ 3 cm, plat, à penne visible au grossissement x 8,75. C'est à partir du 6ème jour que débute la sporulation, la colonie est blanc-verdâtre, finement poudreuse. Au bout de 9 jours, elle est verte, très floconneuse, envahissante (photo 159). A un stade avancé la colonie est d'un aspect lichéneux. Revers dans les mêmes tons (photo 160).
aspect microscopique	- Conidies hyalines, globuleuses, lisses ; - conidiophores très ramifiés de façon plus ou moins orthogonale, chaque branche portant des phialides courtes en forme de quilles.	Conidies hyalines, globuleuses, lisses, très abondantes (photo 161), filaments très fins.

Analogie phénotypique: 87%.

PHOTO : 159



PHOTO : 160

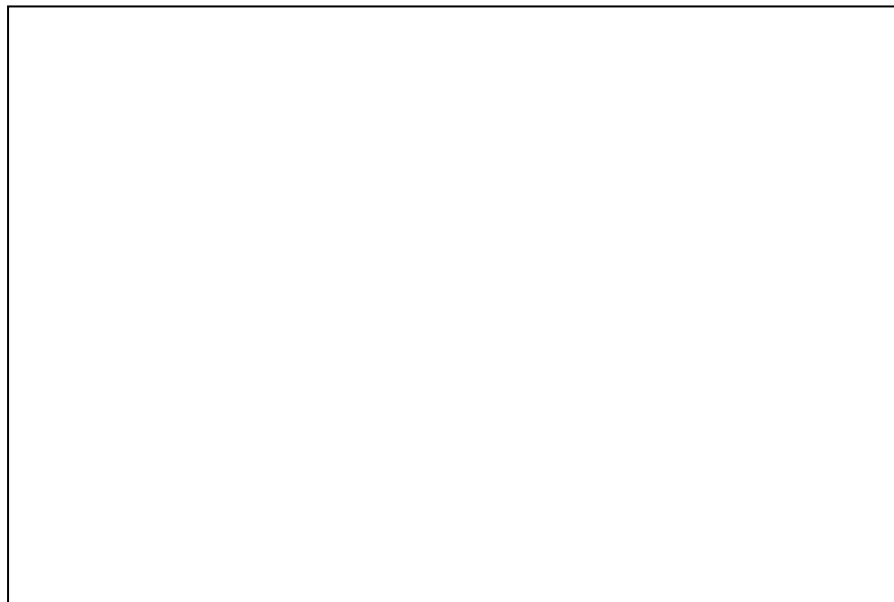
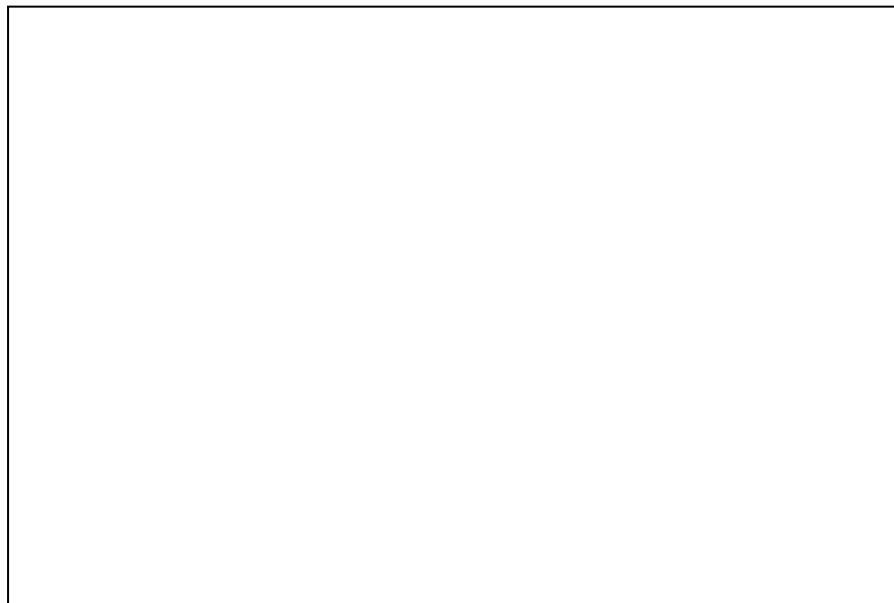


PHOTO : 161



1.5.5. Description de la souche *Verticillium sp.*

	souche de référence <i>Verticillium tenerum</i>	souche à identifier
Conditions de culture	Pousse sur milieu malt à 20 c° ; atteint 1,8 à 2,2 (3) cm diamètre après 10 jours	Envahissante à croissance très rapide sur milieu de Sabouraud à 2 % de glucose à 25°C et dans un pH de 5,6.
Caractères cultureux	Colonies rases, de couleur brique caractéristique à la loupe, cordons de filaments ; conidiophores ramifiés.	Après 48 heures d'incubation à 25°C, la colonie est blanche, granuleuse, rase, de 0,1 cm de diamètre, ombiliquée, présentant quelques plis radiaires, à contour plus ou moins régulier, échancré. Au bout de 4 jours, les granules virent au brun foncé (photo 162) , la colonie envahit toute la boîte de Petri en propageant des colonies filles autour d'elle, le revers étant pigmenté en jaune (photo 163).
Aspect microscopique	- Conidies unicellulaires, brun-rouge, ellipsoïdes avec un long col. - peut être confondu avec Acremonium (conidies unicellulaires, groupées en têtes, au sommet de phialides longues et minces, la disposition majoritairement, en verticilles des phialides permet de distinguer Verticillium.	Conidies ellipsoïdes, arrangées de manière solitaire ou en amas (photo 164 –a), à confondre avec celles de Acremonium, sur des phialides en forme de faux poivrons (photos 165 , 166).

Analogie phénotypique : 85%.

PHOTO : 162

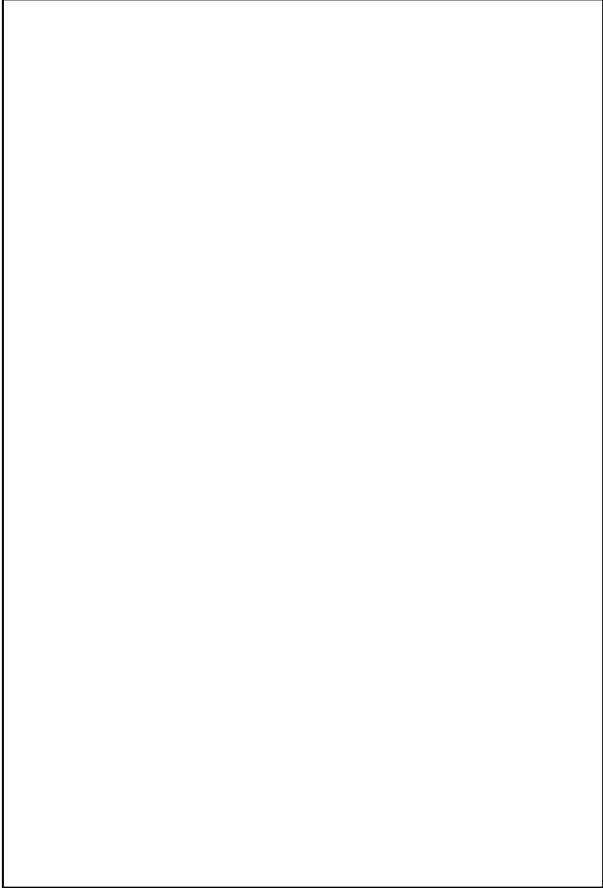


PHOTO : 163

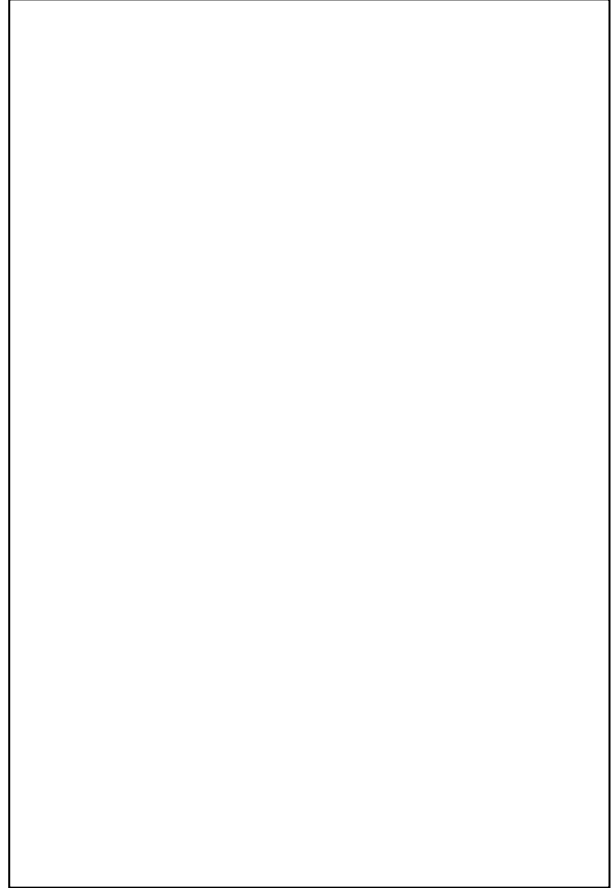


PHOTO : 164



PHOTO : 165

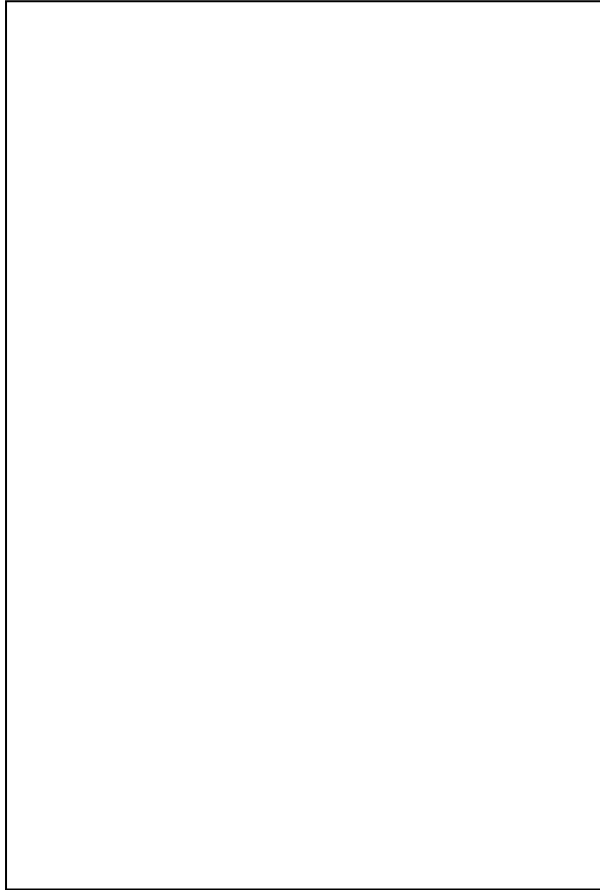


PHOTO : 166



1.6. Les souches dermatophytes

Nous avons pu mettre en évidence la présence de 5 souches dermatophytes des genres *Microsporum* et *Trichophyton*.

1.6.1. Description de la souche *Trichophyton soudanense*

	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Croissance assez lente	La souche pousse sur milieu Czapek, à pH 6,8 et à 37°C. Elle est peu extensive, arrivant à 2,7 cm en une semaine.
Caractères cultureux	Aspect glabre et étoilé couleur « abricot sec ».	Colonie glabre, compacte, plate, de couleur crevette à rouille, adhérente au milieu et d'un contour régulier. Atteint environ 2 cm de diamètre en 48 heures d'incubation à 37 °C. A un stade avancé, la colonie devient cérébriforme, surélevée, de couleur "abricot sec" à rouille, recto et verso (photos 176, 177), la colonie vire au marron violet avec apparition d'un duvet ras, dressé à la surface.
Aspect microscopique	Filament fins à ramifications retrogrades, dirigées perpendiculairement, le plus souvent aléatoirement sur les filaments fins, donnant un aspect caractéristique en fils de fer barbelé. Microconidies et macroconidies rares.	Mycélium en fil de fer barbelé (photo 178 -a). à un stade jeune, certains filaments présentent des arthrospores renforcées en bambou, de couleur brun (photo -b), microconidies et macroconidies absentes

Analogie phénotypique: 65,3 % ;

Analogie phénotypique avec la souche de référence *Microsporum ferrugineum* : 89 %.

PHOTO : 167

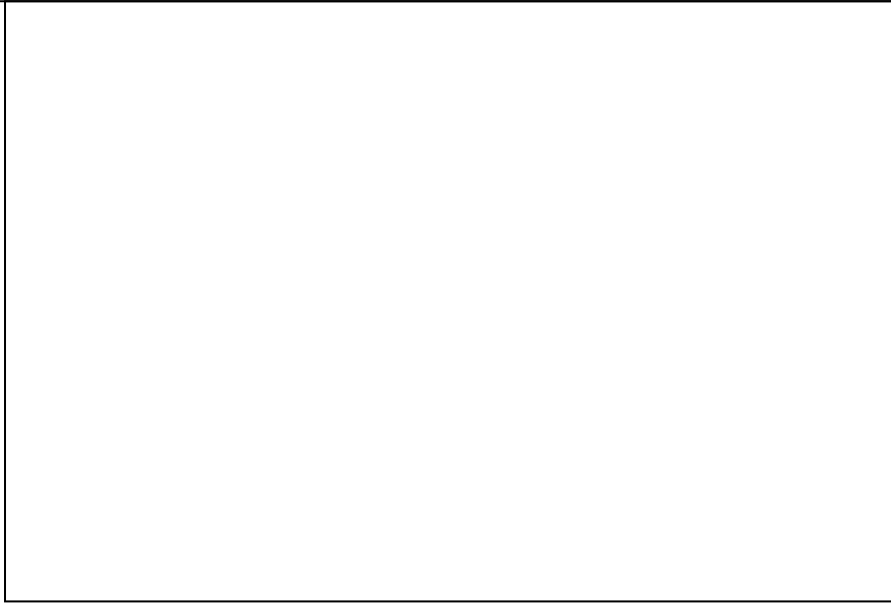


PHOTO : 168

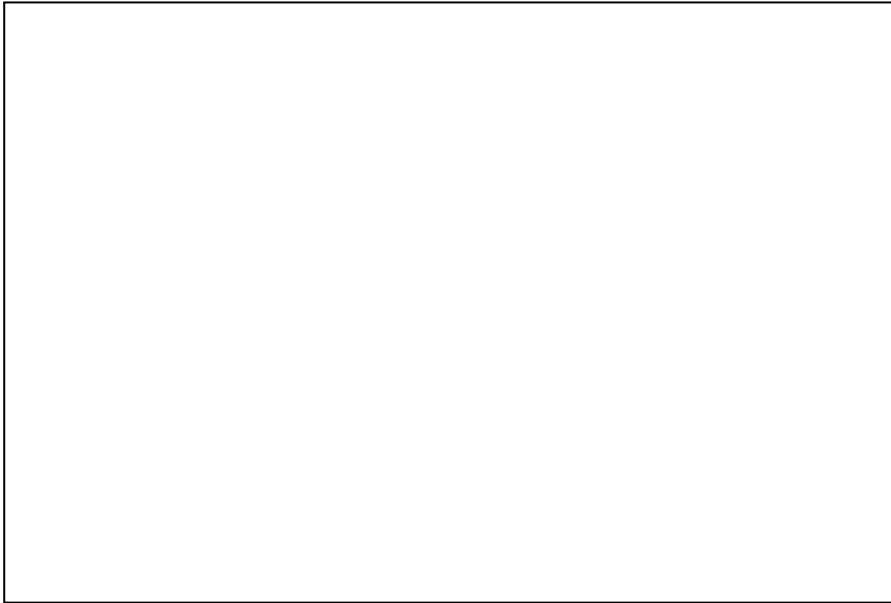


PHOTO : 169



PHOTO : 170

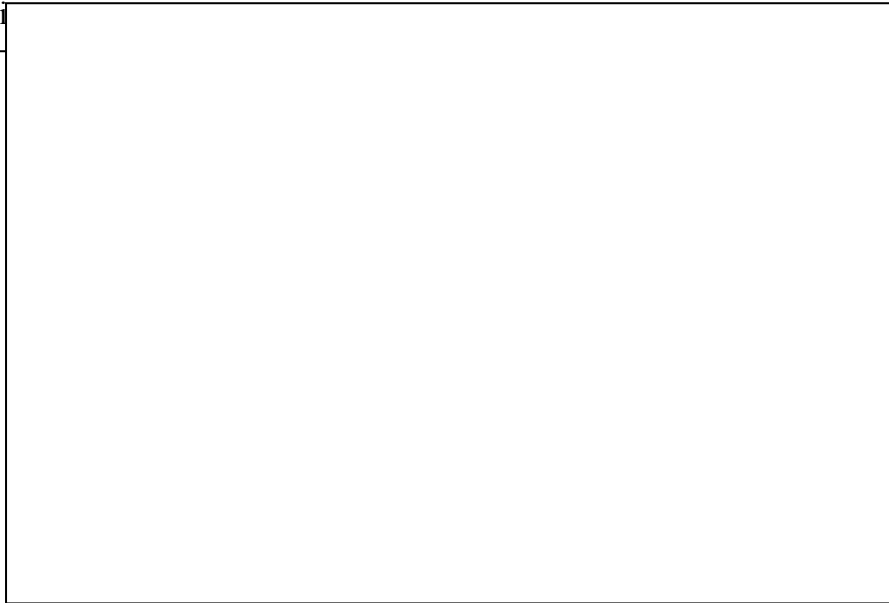


PHOTO : 171

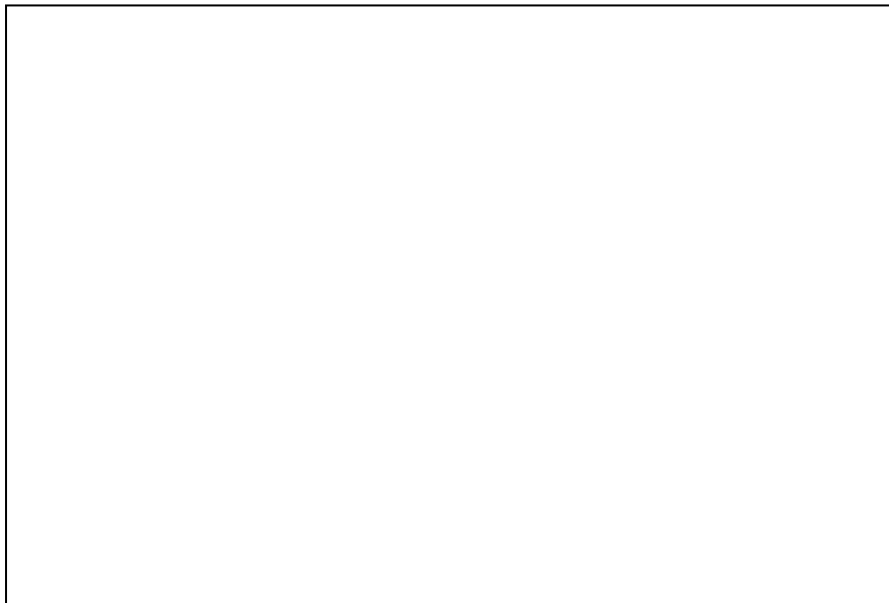


PHOTO : 172



1.6.2. Description de la souche <i>Trichophyton sp.</i>		
	Souche de référence <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Souche à identifier
Conditions de culture	Croissance rapide et thalle intensif.	L'espèce pousse sur milieu OGYA, Czapek et milieu de Sabouraud, la croissance est remarquablement plus rapide à 37 °C qu'à 30 °C.
Caractères cultureux	Cultures extrêmement polymorphes allant de l'aspect platreux à duveteux, neigeux, de couleur blanche. La variété persicolor, à pigment rose pêche. Revers incolore à rouge brique.	<p>Colonie plate, duveteuse, blanche virant au crème rosé puis moutarde par place après 7 jours (photo 173). A ce stade le diamètre est de 3 à 3,5 cm, la colonie est veloutée dense, d'un contour ± régulier, présentant des plis radiaires peu profonds et un ombilic élevé.</p> <p>Après 20 jours, la colonie est glabre, sèche, avec un duvet ras situé seulement au centre, elle atteint 6 cm de diamètre, surface lobée, avec des plis courts à la périphérie, de couleur pourpre-pâle à pêche identique à la souche.</p> <p>Revers miel (photo 174) virant au rouge-brun en vieillissant .</p>
Aspect microscopique	Filaments assez épais à angle droit; macroconidies plus ou moins en massue plus rares et beaucoup plus réduites que ceux du genre <i>Microsporum</i> ; microconidies rondes (aleurie) ; vrilles, organes pectinés (en bois de cerf) et organes nodulaires ; chlamydospores terminale ou intercalaires volumineuses.	Filaments en raquette (photo 175 -a) ; microconidies piriformes disposées en acladium sur les ramifications (photo 175 -b) ; absence de macroconidies ; présence d'ornementations particulières : organes pectinés en bois de cerf (photo 176 -c).

Analogie phénotypique : 85%.

PHOTO : 173

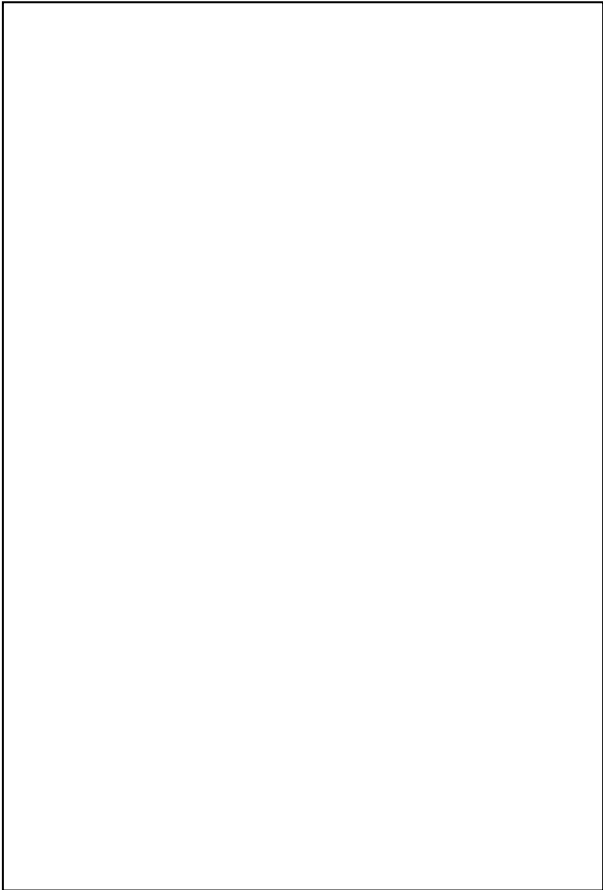


PHOTO : 174

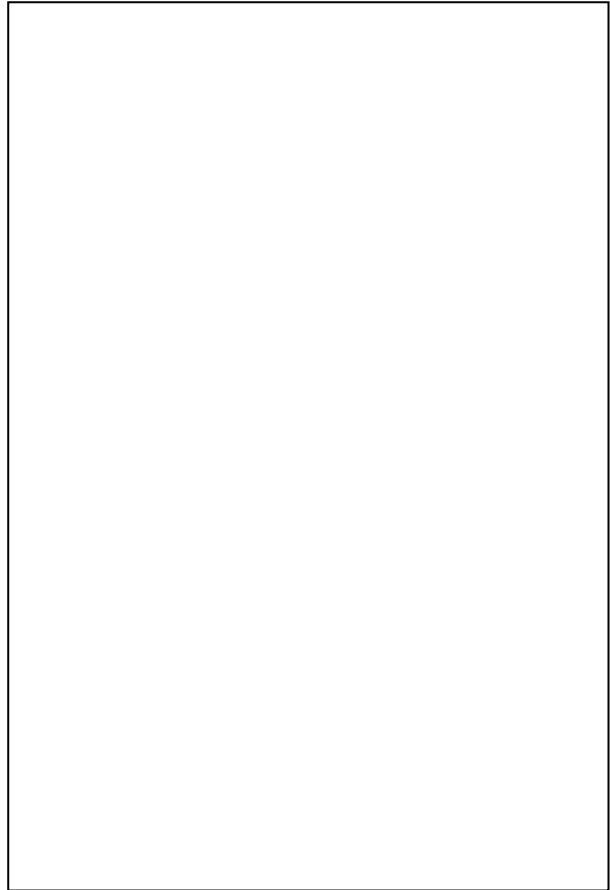


PHOTO : 175

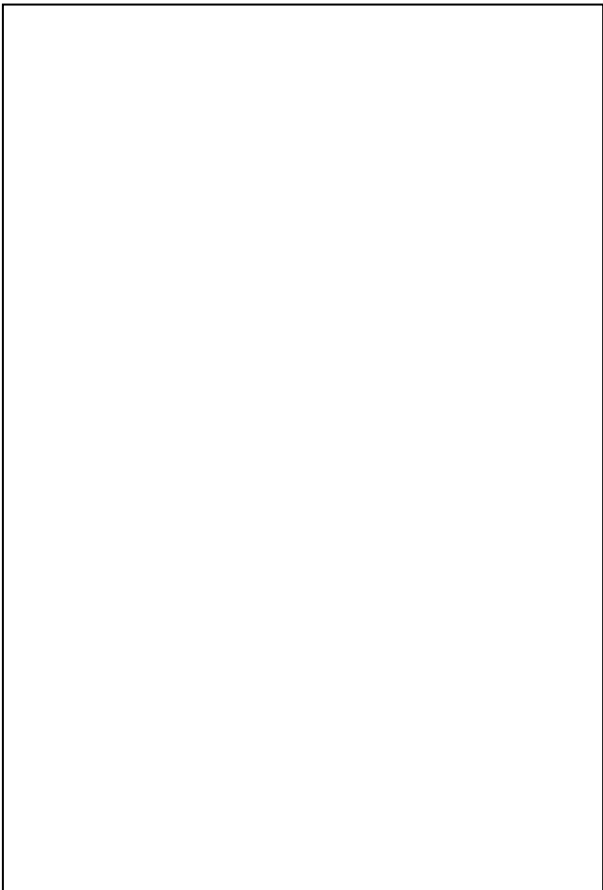
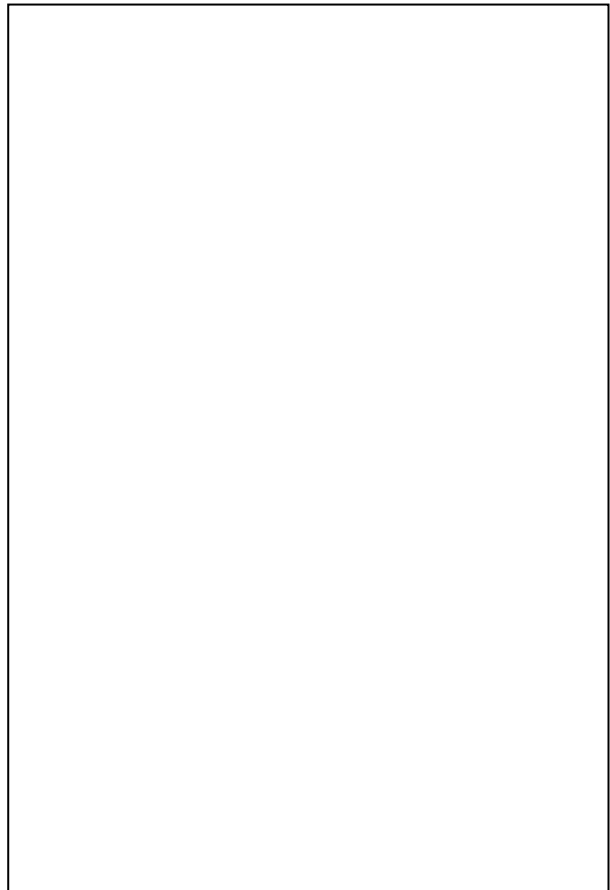


PHOTO : 176



1.6.3. Description de la souche <i>Microsporium langeroni</i>		
	Souche de référence	Souche à identifier
Conditions de culture	Developpement rapide (5 à 6).	Pousse sur milieu de Sabouraud simple au sélectif par addition de chloramphénicol; Pousse également sur milieu Czapek dans une gamme de pH allant de 5,6 à 6,8 à 25 °C et à 37 °C, à cette dernière, la colonie atteint 1,5 cm de diamètre après 72 heures d'incubation et > 6 cm après une semaine.
Caractères cultureaux	Tepis ras, duveteux, couvrant la gélose en fin de culture, de couleur blanc à chamois, à rares parfois rose rougeâtre.	Après 72 heures de thalle est fin blanc-rosâtre, d'un aspect laineux avec un pigment rose marquant le revers (photo177), des gouttelettes d'exsudat incolore visibles au grossissement (x8,75) sont présentes sur le duvet. Après une semaine la colonie est compacte, glabre, sèche, de couleur pourpre à pêche avec un duvet jaunâtre sur le vieux mycélium (photo178).
Aspect microscopique	Filaments assez épais ; macroconidies rares ou absentes ; microconidies rares, piriformes ; chlamydospores terminale ou intercalaires volumineuses.	Filaments épais, irréguliers (photo179 a); Macroconidies en forme de saucisse. Microconidies absentes ; Chlamydospores généralement terminales en forme de citron caractéristique de l'espèce <i>Microsporium langeroni</i> (photo180 b).

Analogie phénotypique: 81 %

PHOTO : 177

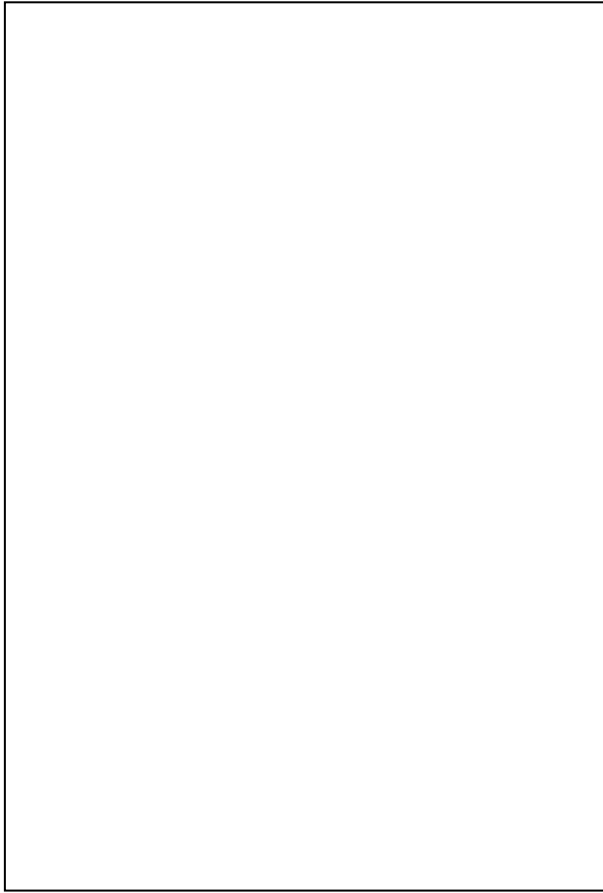


PHOTO : 178

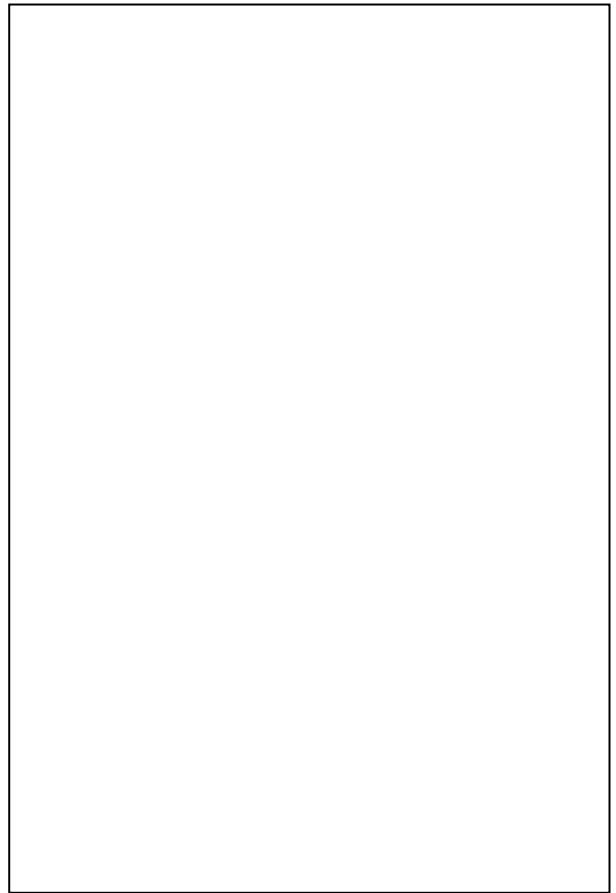


PHOTO : 179

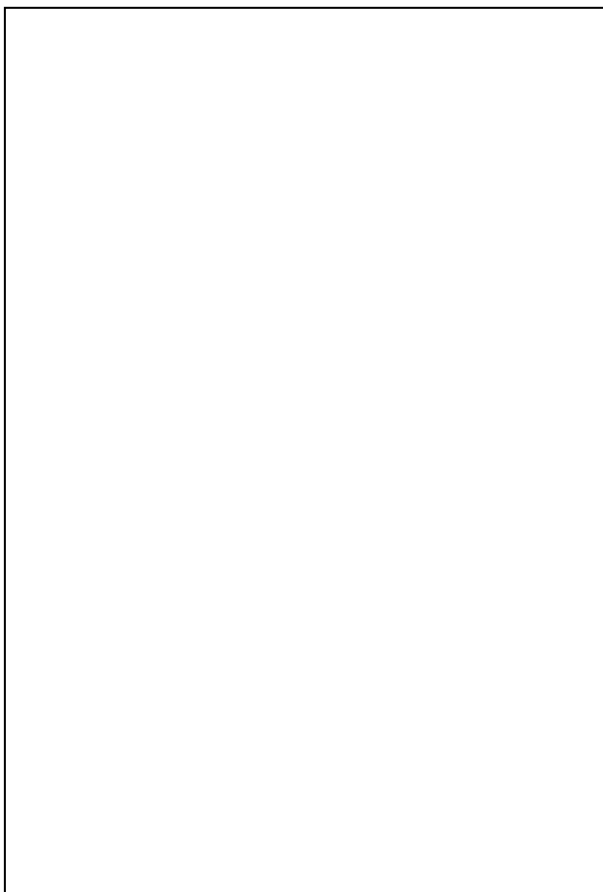
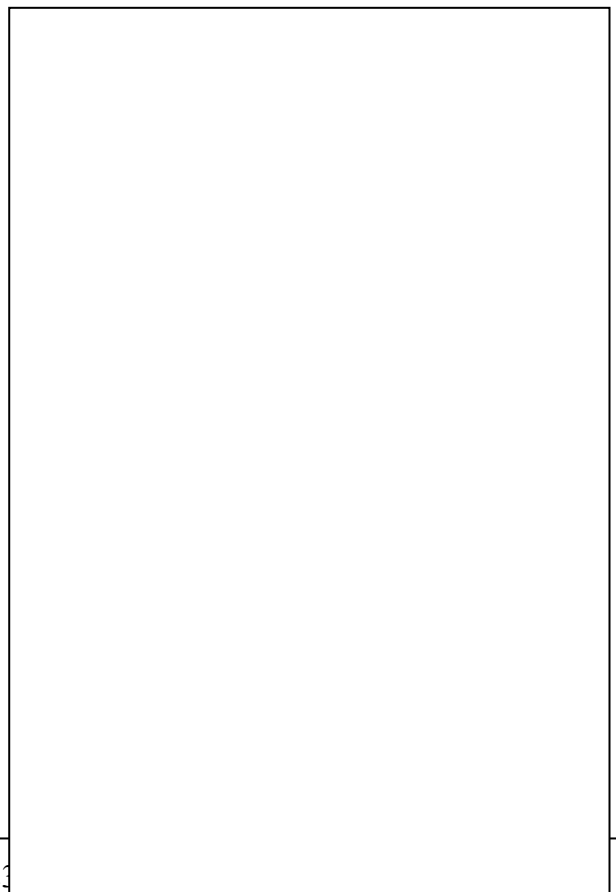


PHOTO : 180



1.6.4. Description de la souche *Microsporium sp.1*

- **Conditions de culture**

Croît sur milieu de sabouraud et sur milieu Cazpeck simple (pH 5,6) et concentré (pH 6,8) moins intensément sur TGEA (à pH 7,2) la colonie atteint 3,5 cm de diamètre après 4 jours d'incubation à 37 °C ; la croissance est moins rapide à 25 c°.

- **Caractère culturaux**

Colonie rose foncé, plate feutrée duvet ras, blanc à jaunâtre ; ombiliquée, adhérente au milieu ; elle présente de courtes rides à la périphérie, à un stade avance, après 21 jours ([photo181](#)).

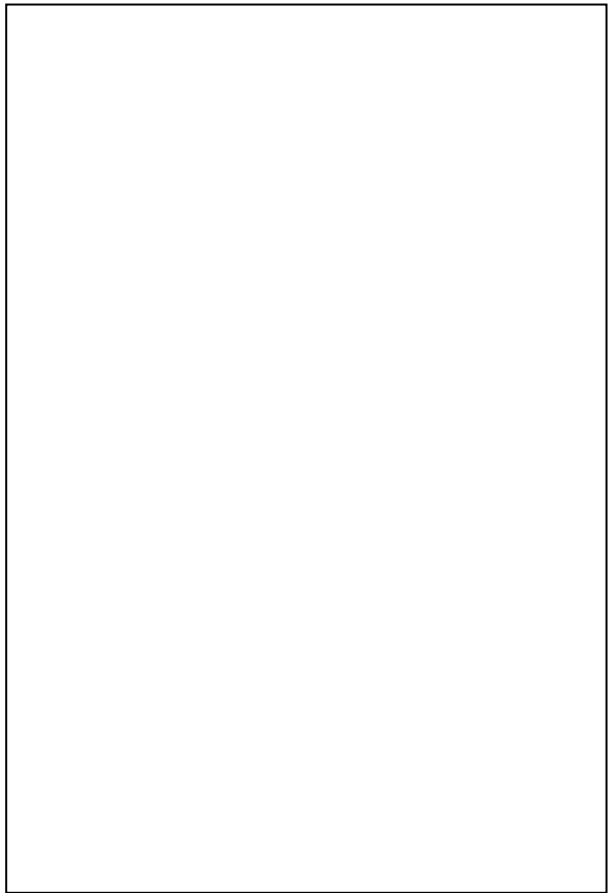
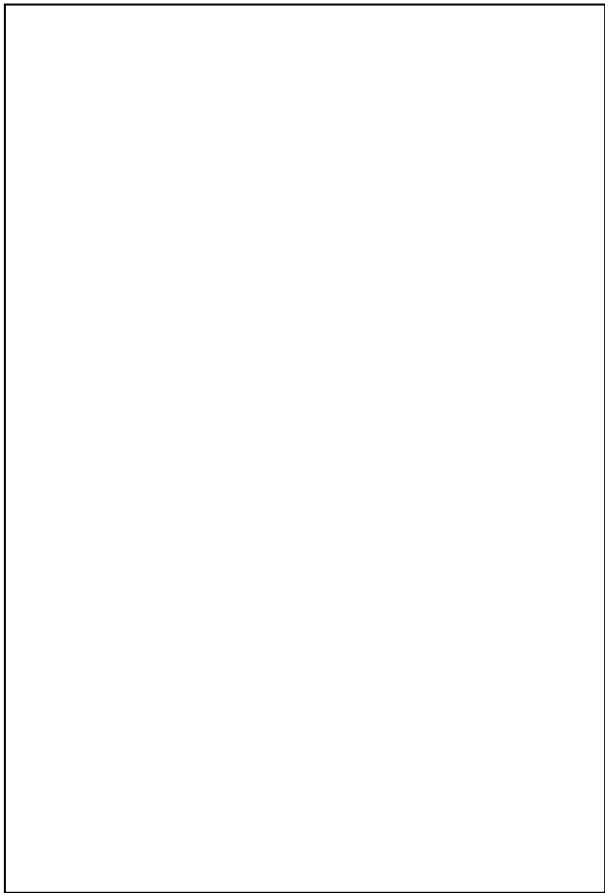
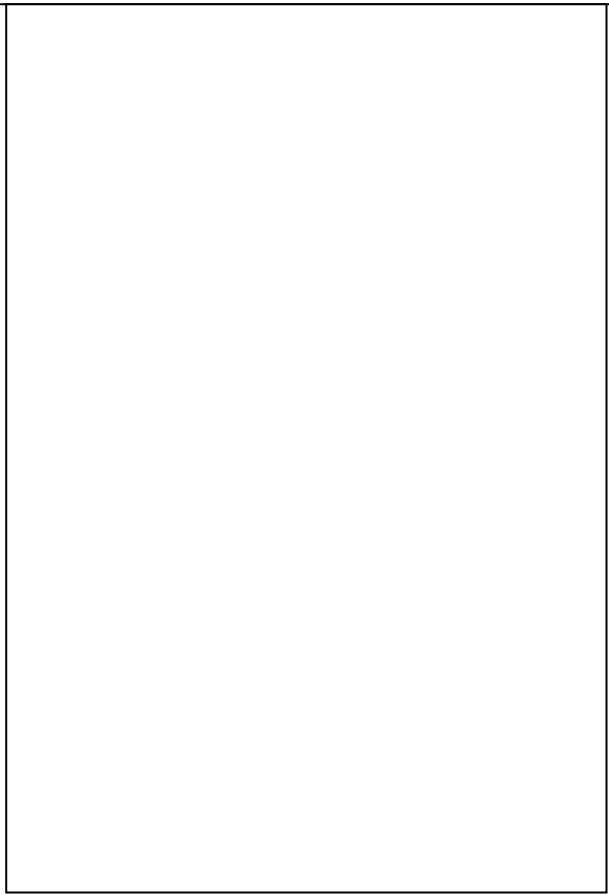
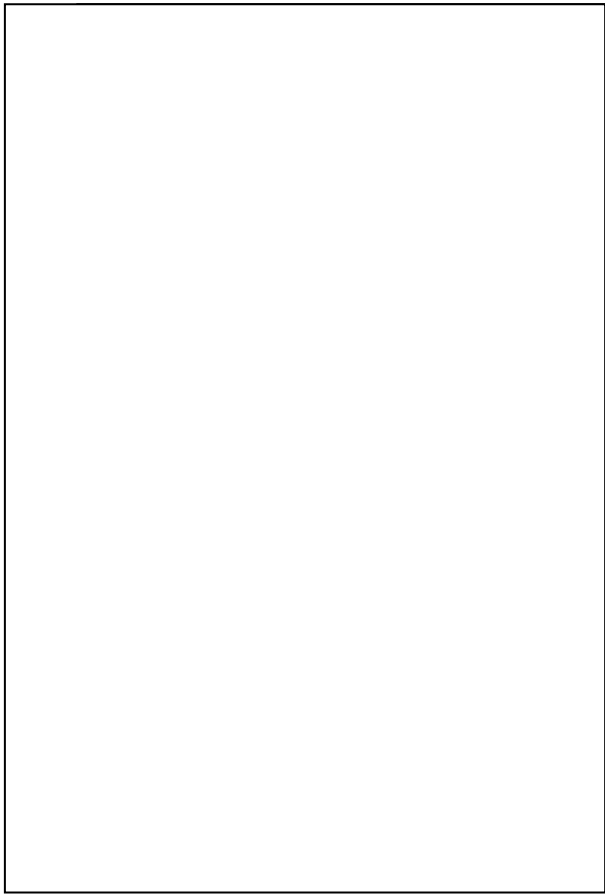
Revers rouge- brun à Corail ([photo182](#)).

- **Aspect microscopique**

- Filaments épais en raquette, présentant un épaissement au niveau des septa.
- De très grosses chlamydospores terminale en citron « caractéristiques, avec des logettes internes » ([photo183](#)).
- Des formes en base échinulées, à paroi doublée très épaisses ([photo184](#))

- **Analogie phénotypique avec la souche de référence :**

M. langeronii : 0,58%.



1.6.5. Description de la souche *Microsporium sp.2*

- **Conditions de culture**

La souche pousse très rapidement sur milieu de Sabouraud, simple ou rendu sélectif par additions d'agents antibactériens (exemple : chloramphénicol), à pH= 6,63 et aussi sur un milieu de routine : TGEA , à pH de 7,2.

Elle est envahissante ; atteint plus de 10 cm de diamètre au bout de 6 jours d'incubation à 37c°.

- **Caractères cultureux**

Colonie à thalle volumineux, d'un aspect laineux à floconneux, blanc rosé ; à contour irrégulier à peine lobé ([photo 185](#)).

Présence de gouttelettes d'exsudat incolore visible au grossissement (x 8,5).

Revers jaune à ocre ([photo 186](#)).

- **Aspect microscopique**

- Filaments épais, ramifiés, présentant des renforcements au niveau des septa.
- Chlamydospores terminales citriformes, volumineuses et à paroi épaisse, triparties en logette à leur intérieur ; d'autres subtérminales ou intercalaires très abondantes en forme de tubercules ([photos 187, 188](#)).

- **Analogie phénotypique avec la souche**

de référence *Microsporium langeroni* : 0,52%

PHOTO : 185
Résultats et discussions

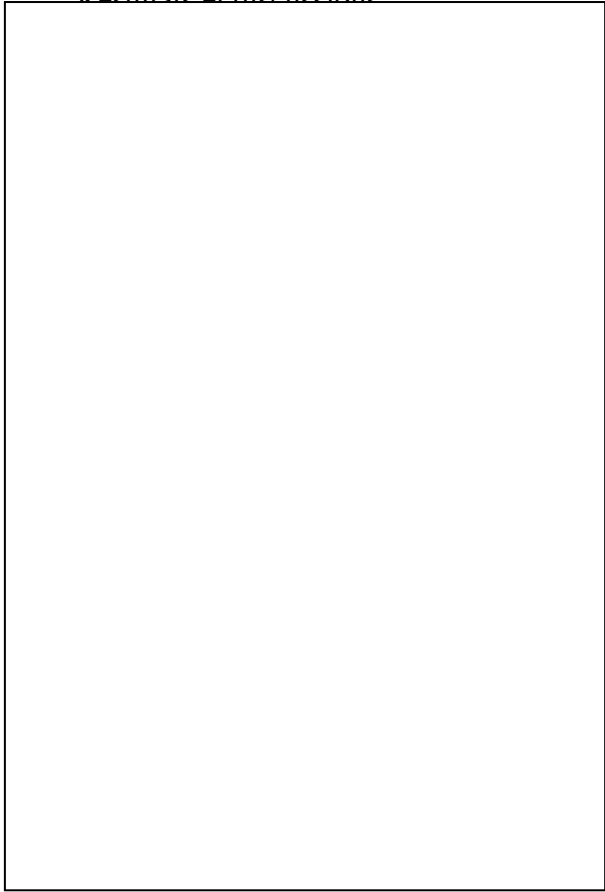


PHOTO : 186

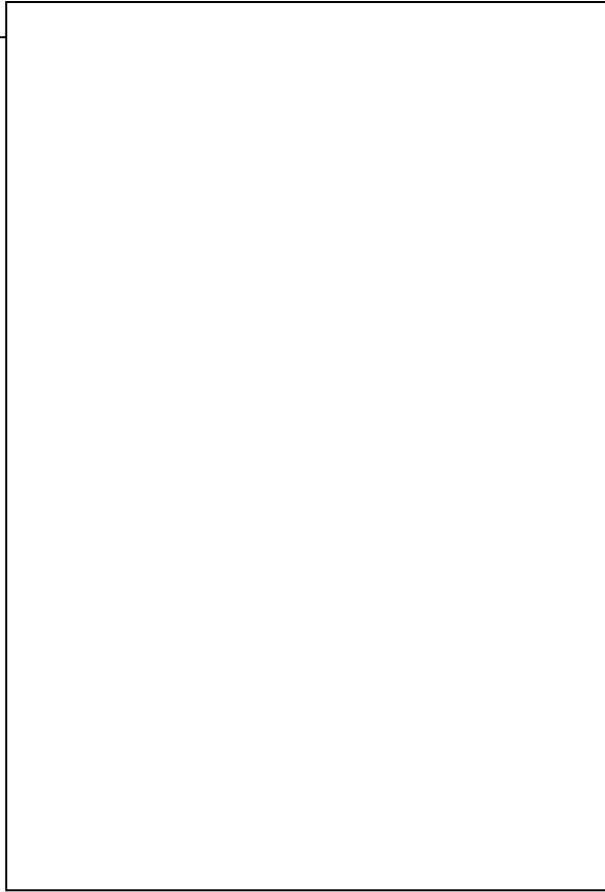


PHOTO : 187

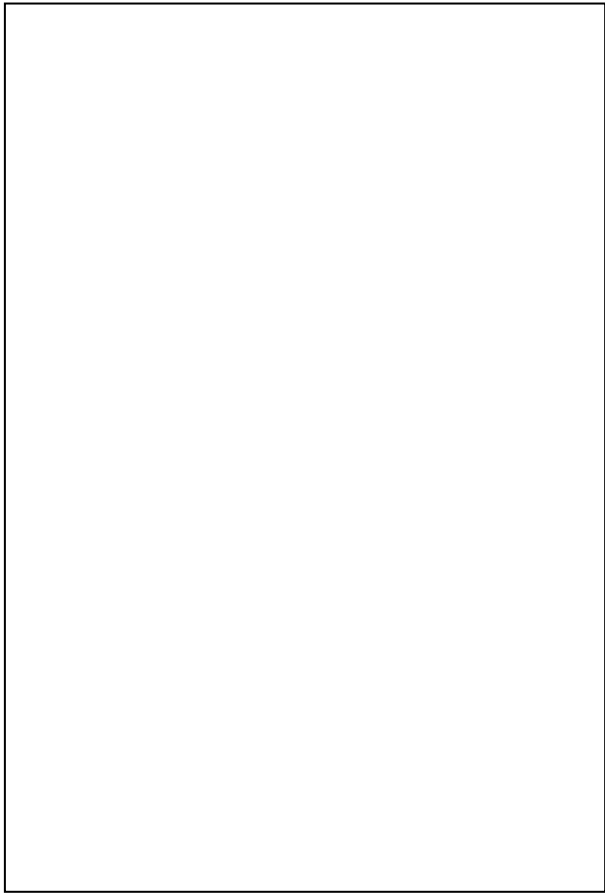
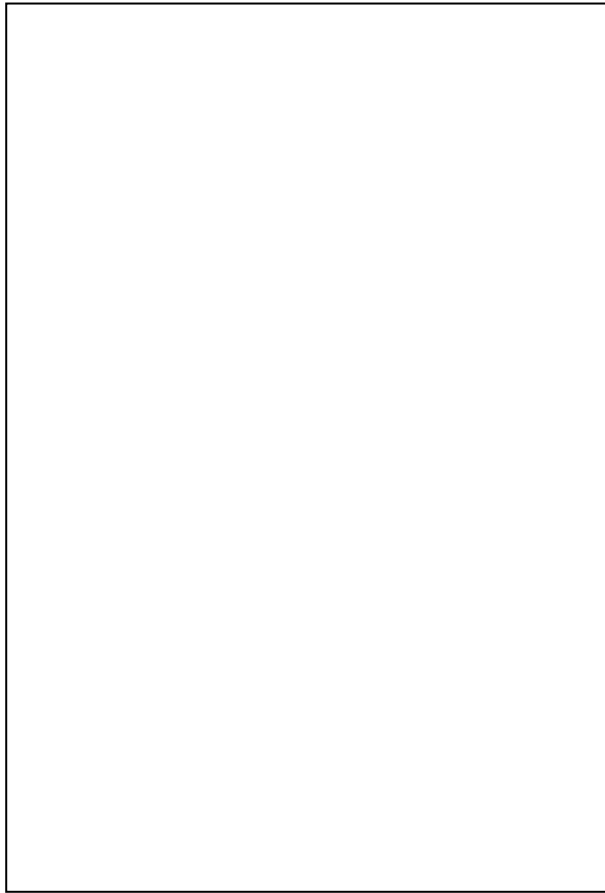


PHOTO : 188



A partir de ces résultats nous présentons le graphe ci-dessous (fig.3.17) indiquant la dominance en nombre d'espèces mises en évidence pour chaque genre et, réaffirmant la supériorité du genre *Aspergillus*.

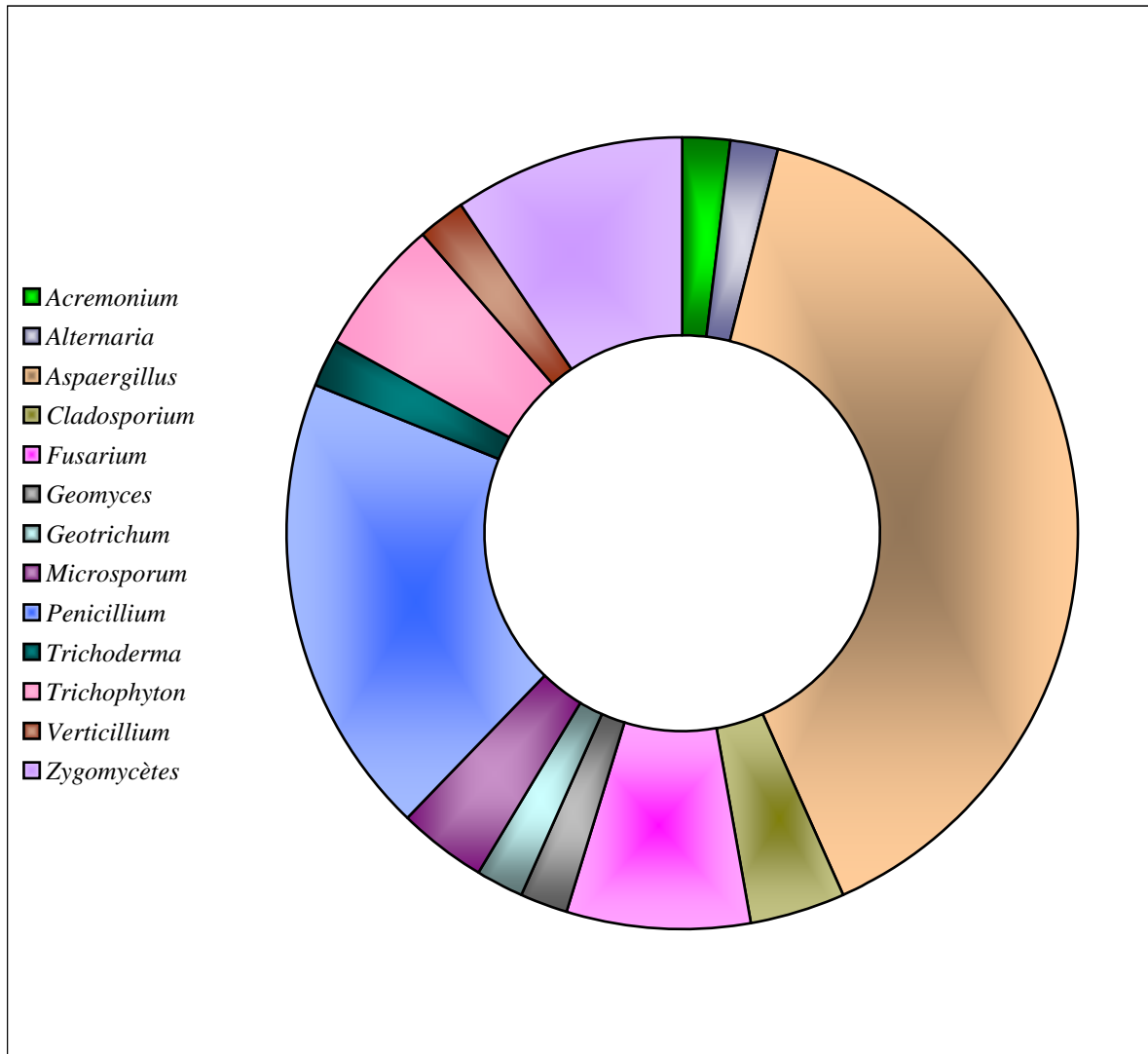


Fig.3.17 : représentation graphique du nombre d'espèces par genre.

2. Rôle de ces espèces dans la nature

La grande majorité des mycètes mis en évidence dans cette étude, renferme ceux caractérisés dans la nature par un mode de vie **saprophyte**. Ils sont appelés "détritivores" du fait qu'ils constituent les premiers agents de dégradation des débris végétaux et animaux en décomposition ; il s'agit essentiellement des espèces cosmopolites des genres : *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, ainsi que certains *Macorales*.

Parmi les souches bénéfiques à l'utilisation humaine, l'espèce *Penicillium chrysogenum* présente un intérêt pharmaceutique, par la production d'un métabolite antibactérien à large spectre d'action, La pénicilline ; aussi, *P.citrinum* est productrice d'un produit pharmaceutique anti-hypercholestérolémie, la compactine [36].

Certaines souche des genres *Fusarium* et *Verticillium* peuvent se comporter parfois, comme des **Nectrotrophes**, tantôt comme des parasites, suivant les conditions de leur environnement [25].

Geomyces sp. peut altérer la viande réfrigérée et *Penicillium cyclopium* contamine les produits laitiers.

Parmi les souches **parasites**, le genre *Verticillium* est entomopathogène (parasite des insectes), tandis que certaines peuvent attaquer les organismes végétaux; c'est le cas de quelques espèces du genre *Acremonium* et du genre *Fusarium* (surtout *F.oxysporum*).

D'autres, sont **Pathogènes** de l'homme et des animaux par diverses voies de contamination, dont la production de mycotoxines vient en premier lieu. Le tableau 8 représente les différentes souches réputées **toxino-gènes** et faisant partie de l'ensemble des moisissures que nous avons identifiées, leurs productions et leur action sur les organismes atteints.

Tab.8 : Les moisissures réputés nuisibles

Espèce	Exemple de produits	Certaines nuisances
<i>Aspergillus flavus</i>	- Aflatoxines (B1, B2) - Acide aspergillique - Acide cyclopizonique	Les aflatoxines sont génotoxiques, hépatotoxiques, Carcinogènes des végétaux des animant et rarement des l'homme. L'acide cyclopiazonique est neurotoxique provoque la déshydratation, faiblesse, hypokinesie et même la mort
<i>Aspergillus parasiticus</i>	- Aflatoxines et	Attaque certaines aliments comme les

	substances antibiotiques	céréales, les épices, les fruits secs et figues.
<i>Aspergillus wentii</i>	- Acide kojique - Parfois l'aflatoxine B1	
<i>Aspergillus oryzae</i>	- Enzyme diastase et acide kojique	Aspergilloses auriculaires et pulmonaire
<i>Aspergillus tamarii</i>	- Acide Kojique	
<i>Aspergillus terreus</i>	- Flavipine, - Terreine - Citrinine - Erdine - Clavacine	Provoques diverses altérations aux denrées alimentaires.
<i>Aspergillus ochraceus</i>	- Ochracine - Acide penicillique	Néphropathies et intoxications mortelles d'animaux d'élevage.
<i>Aspergillus niger</i>	- Nigragilline - Mevilanine	Aspergilloses oriculaires et pulmonaires .
<i>Aspergillus sydowii</i>	- Stérigmatocystines (similaires aux aflatoxines)	Endocardites humaines ; les stergmatocystines sont carcinogènes hépatiques tératogènes.
<i>Aspergillus versicolor</i>	- Stérigmatocystines, Acide cyclopiazonique	Endocardites humaines, neurotoxicoses.
<i>Aspergillus nidulans</i>	- Niduline, norniduline, stérigmatocystine, asperthécine	Aspergilloses auriculaires et pulmonaires, tumeurs pulmonaires.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	- fumigalcanines - fumagillines - fumitoxines.	Aspergilloses auriculaires et pulmonaires chez l'homme et les oiseaux.
<i>Penicillium decumbens</i>	- Decumbine	

<i>Penicillium expansum</i> (pourriture bleue).	- Expansine (clavicine, patuline)	Agent d'altération des pommes des jus de pommes ainsi que d'autres agrumes tels que les vignes. Attaque aussi les grains de céréales de nombreux végétaux.
<i>Penicillium griseofulvum</i>	- Clavacine	
<i>Penicillium citrinum</i>	- Citrinine	La citrinine est causale de vasodilatations, constructions bronchiales, néphropathies ; c'est aussi un embryocide et foetotoxique attaque également les céréales.
	- aflatoxines	
<i>Penicillium ochrochlorum</i>	- Ochrochloron	
<i>Penicillium cyclopium</i>	- Acide cyclopiazonique,	Néphropathies
	- Citrinine, ochratoxine, - Acide penicillique - Acide émoussé.	
<i>Mucor</i>		Dermatites ulcero- verruqueuses (en chou fleur) chronique.
<i>Fusarium oxysporum</i>	- Trichothécènes	Toxiques à de faibles concentrations Troubles gastrointestinaux, irritations dermiques, anémie..etc . Ce sont des produits cytotoxiques et immunosuppressifs anémie..etc. Ce sont des produits cytotoxiques et immunosuppressifs.
<i>Fusarium culmorum</i>	- Rubrofusarine - Trichothécènes	
<i>Fusarium avenaceum</i>	- Moniliformine	
<i>Verticillium</i>		Parasites d'insectes
<i>Trichoderma</i>	Trichodermine,	

	griseofulvine	
<i>Acremonium</i>	Élabore des antibiotiques et les Cephalosporines: P ₁ , P ₂ , P ₃ , P ₄ , P ₅ , C, N	Parasites repandu des feuille et des végétaux.
<i>Geotrichum</i>		Agent d'altération du papier et de nombreux textiles; colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux.
<i>Cladosporium</i>		Spores allergènes.
<i>Alternaria alternata</i>	- Acide tenuazonique - Alternaroil monomethy, ether. - Alternuene - Alvertoxine	Foetotoxique et teratogène sur les cobayes.retrouvée sur les aliments comme les tomates, olives, mandarines, pommes...etc productrice de spores allergènes.
<i>Microsporium1</i>		
<i>Micosporum2</i>		Dermatophytes anthropophiles,
<i>Trichophyton soudanense</i>		parasites des poils et de la peau glabre.
<i>Trichopyton ferrugineum</i>		

Le suivi de la croissance des microchampignons que nous avons identifiés, a permis de déterminer certains de leurs caractères trophiques et physiologiques développant de nombreuses appuies scientifiques aux références bibliographiques.

3. Assimilation des nutriments

Le tableau 9 indique les utilisations des différents milieux de culture par ces micromycètes isolés.

Tab.9: Les milieux de culture utilisés

Milieux de culture	Sabouraud simple	Sabouraud à 2% de glucose	Sabouraud+ chloramphénicol	Sabouraud + actidione	Sabouraud + chl + act	Sabouraud oentamavcine	Czapek simple	Czapek concentré	O.G.Y.A	T.G.E.A	G.N	Milieu à la farine d'avoine	Milieu à la cellulose	Milieu chitine	Chapman
<i>Aspergillus flavus</i>							+								
<i>Aspergillus oryzae</i>	+		+	+	+		+								
<i>Aspergillus tamaraii</i>							+	+			+				
<i>Aspergillus penicilloides</i>	+	+					+	+							
<i>Aspergillus ochraseus</i>	+	+	+				+								
<i>Aspergillus parasiticus</i>	+			+	+	+	+								
<i>Aspergillus wentii</i>	+	+	+												
<i>Aspergillus niger</i>	+		+			+	+		+						
<i>Aspergillus sp.1</i>	+	+								+					
<i>Aspergillus foetidus</i>							+	+							
<i>Aspergillus sp.3</i>							+								
<i>Aspergillus terreus spp.1</i>							+	+	+	+					
<i>Aspergillus terreus spp.2</i>	+	+	+				+		+	+					
<i>Aspergillus terreus spp.3</i>	+	+	+				+	+	+						
<i>Aspergillus nidulans</i>							+					+			
<i>Aspergillus sydowi</i>		+	+			+	+	+				+			
<i>Aspergillus sp.2</i>	+	+	+			+	+		+						
<i>Aspergillus flavipes</i>		+											+		
<i>Aspergillus fischeri</i>	+	+					+								
<i>Aspergillus fumigatus</i>							+								
<i>Aspergillus itaconicus</i>	+	+	+				+								
<i>Penicillium decumbens</i>		+	+			+	+								
<i>Penicillium fellutanum</i>	+	+					+								
<i>Penicillium griseofulvum</i>	+	+	+				+	+	+	+					
<i>Penicillium ochrochloron</i>	+	+					+								

Résultats et discussions

<i>Penicillium corylophyllum</i>	+	+	+				+								
<i>Penicillium expansum</i>	+	+	+				+								
<i>Penicillium italicum</i>	+	+	+				+								
<i>Penicillium cyclopium</i>							+								+
<i>Penicillium citrinum</i>	+	+	+			+	+			+					
<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	+				+		+						
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	+	+				+					+			
<i>Fusarium sp.</i>		+	+				+					+			
<i>Fusarium culmorum</i>	+	+	+				+		+			+			
<i>Fusarium avenaceum</i>	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+			
<i>Verticillium sp.</i>		+	+				+								
<i>Trichoderma sp.</i>							+	+							
<i>Acremonium sp.</i>							+						+		
<i>Geomyces sp.</i>							+						+		
<i>Geotrichum candidum</i>	+		+			+	+		+						
<i>Cladosporium macrocarpum</i>	+		+			+	+								
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>			+				+								
<i>Alternaria alternata</i>		+	+				+		+				+		
<i>Trichophyton soudanense</i>							+		+						
<i>Trichophyton sp.</i>	+	+	+				+		+						
<i>Miросporum langeronii</i>			+				+								
<i>Miросporum sp.1</i>			+				+								
<i>Miросporum sp.2</i>			+												

Parmi les milieux de culture utilisés, le milieu **Czapek** a été majoritairement colonisé, sur le plan qualitatif, par 82% des souches de moisissures purifiées ; celles-ci absorbent aisément de l'azote minéral, sous forme de nitrate, à de faibles concentrations (2g/l). Des taux de 40 g/l de nitrate sont relativement élevés et pourraient avoir des effets indésirables sur la croissance de certaines souches. Alors que peu de souches tolèrent de telles conditions, il s'agit de : *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus penicilloides*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus sydowi*, *Penicillium griseofulvum*, *Trichoderma sp.*

A l'opposé, d'autres souches sont incapables de pousser sur le milieu Czapek ; elles marquent une auxotrophie stricte vis à vis des nitrates ; nous citons les souches *Aspergillus Wentii*, *Aspergillus sp.1*, *Aspergillus flavipes*, *Fusarium sp.*, *Fusarium culmorum*, qui demandent d'une source d'azote organique (comme: la peptone).

Le milieu de **Sabouraud**, quant à lui, a favorisé la croissance de 66 % du total des souches obtenues.

Les résultats de culture sur les 6 milieux de Sabouraud : simple, à 2 % de glucose, additionné à la gentamycine, au chloramphénicol et/ou à l'actidione, conduisent à confirmer l'activité **dénitrifiante** (voir page 14) chez les espèces isolées sur ce milieu.

Aspergillus flavus, *A. foetidus spp.*, *A. nidulans*, *A.sp.3*, *A. terreus spp. 1*, *A. tamarii*, *A. fumigatus*, *Penicillium cyclopium*, *Trichoderma sp.*, *Acremonium sp.*, *Geomyces sp. et Trichophyton sp.1*, montrent l'absence de croissance sur le milieu de Sabouraud en raison de leur incapacité d'assimiler la peptone ; elles seraient donc auxotrophes envers les aminoacides.

L'addition de **chloramphénicol** ne cause pratiquement aucun effet sur la croissance fongique, du fait que les espèces ayant poussé sur le milieu de Sabouraud simple, se comportent généralement de la même manière lors de leur repiquage sur Sabouraud + chloramphénicol, tandis que le même milieu additionné à la **gentamycine** présente une culture faible de mycètes (colonies peu abondantes sur la boîte).

Les espèces *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus parasiticus* et *Fusarium avenaceum*, ont été les seules à pouvoir supporter la présence d'**actidione**. Ceci confirme leur pathogénicité [35].

Les résultats de culture dévoilent également le pouvoir de dégrader l'azote aussi bien à l'état organique que minéral (assimilation mixte de l'azote) de 58% de souches. 13 souches ont été isolées à partir du milieu OGYA ; ce sont :

Aspergillus niger, *A. terreus*, *Aspergillus sp.2*, *Penicillium griseofulvam*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium culmorum*, *F. avenaceum*, *Geotrichum candidum*, *Alternaria alternata* et les souches de *Trichophyton*.

Ces résultats correspondent à 25 % de la totalité des isolats.

Sur le plan quantitatif, le milieu OGYA a été révélé le plus favorable pour la culture mycélienne.

Sur le milieu à base de papier filtre et d'extrait de levure (**milieu cellulose**), toute la surface de la boîte a été envahie par des colonies n'excédant pas 1 cm de diamètre et présentant un thalle trop fin ; ces résultats nous ont conduit à la mise au point de l'hypothèse suivante :

- ❖ Les souches cultivées sur ce milieu auraient consommé uniquement l'extrait de levure, leur activité cellulolytique étant extrêmement faible voir nulle.

Il s'agit des espèces : *Aspergillus flavipes*, *Acremonium sp.*, *Geomyces sp.* et *Alternaria alternata*.

Certaines souches d'*Aspergillus* et de *Fusarium* ont poussé et sporulé de manière abondante sur le milieu à base de **farine d'avoine** et sur lequel nous avons obtenu des résultats très satisfaisants pour la revivification de l'espèce *A. nidulans* et l'obtention de cellules en noisette.

Le **TGEA** ainsi que la **gélose nutritive** ont été moins colonisés par les mycètes, à des pourcentages respectifs de 7 % et 5 % des souches isolées. Ce serait du principalement à la concurrence trophique et spatio- temporelle des bactéries.

Le milieu **Chapman** a été introduit par coïncidence, dans l'ensemble des milieux de culture utilisés lors de la recherche des *Staphylocoques* à partir de notre échantillon d'eau à analyser ; c'est là que nous avons observé la présence d'une colonie fongique correspondant à la souche *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* étant la seule à posséder le

pouvoir d'assimiler le mannitol et de croître normalement en présence de 75% d'NaCl. Par conséquent, nous concéderons cette souche comme étant **halophile**.

Enfin, le milieu **Chitine** ne présente aucune culture, témoignant ainsi l'absence d'activité chitinolytique chez les mycètes.

4. pH

Les milieux de culture mis en jeu se caractérisent pour la majorité par un pH acide à légèrement acide allant de 5 à 6,8. Ceci demeure relatif aux exigences physiologiques des mycètes en croissance.

Certains milieux -surtout ceux utilisés en bactériologie, d'un pH neutre de 7 à 7,4 ont montré des résultats positifs pour la culture des mycètes ; il est à retenir que ceux-là sont moins favorables à la culture fongique, par rapport aux milieux acides ; c'est le cas de la GN et du TGEA.

5. Température

L'action de la température d'incubation sur la vitesse de croissance de chacune des souches isolées est représentée graphiquement par les figures de 4.1. à 4.14. suivant, déterminant le diamètre de colonie après une semaine d'incubation à chaque température.

Nous avons réuni dans chaque graphe les espèces systématiquement rapprochées.

L'action de la température d'incubation sur la vitesse de croissance de chacun des micromycètes isolés est représentée graphiquement par les histogrammes suivants, déterminant le diamètre de colonie après une semaine d'incubation à chaque température.

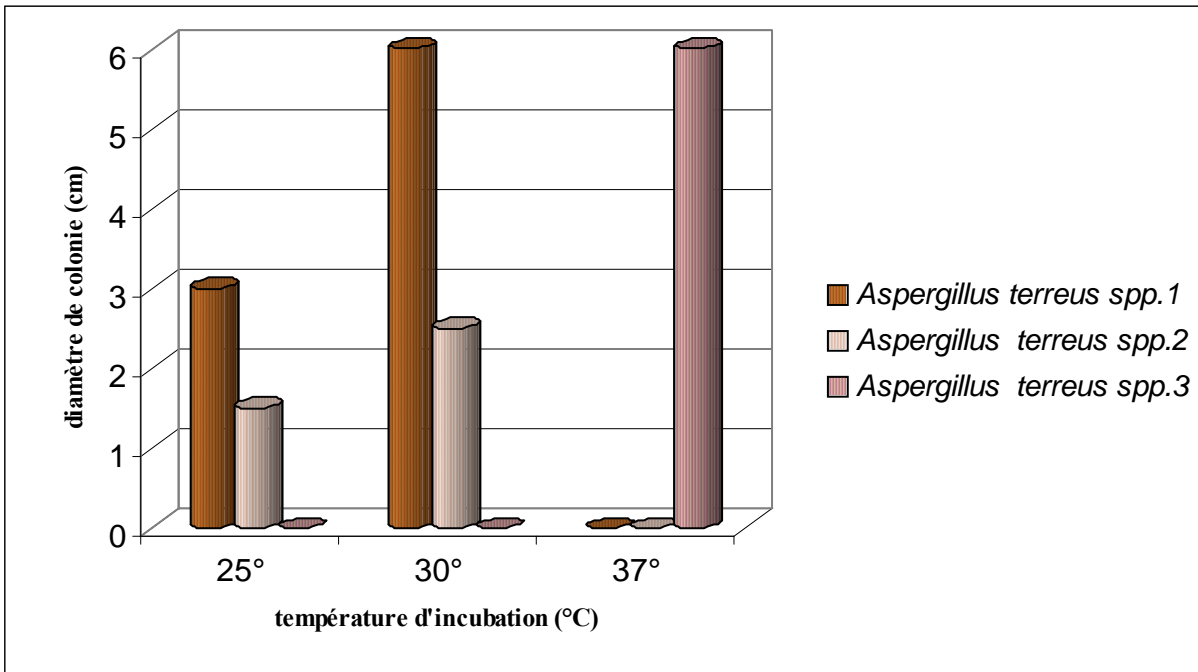


Fig. 4.1.: variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches de *Aspergillus* appartenant à la section *terrei*.

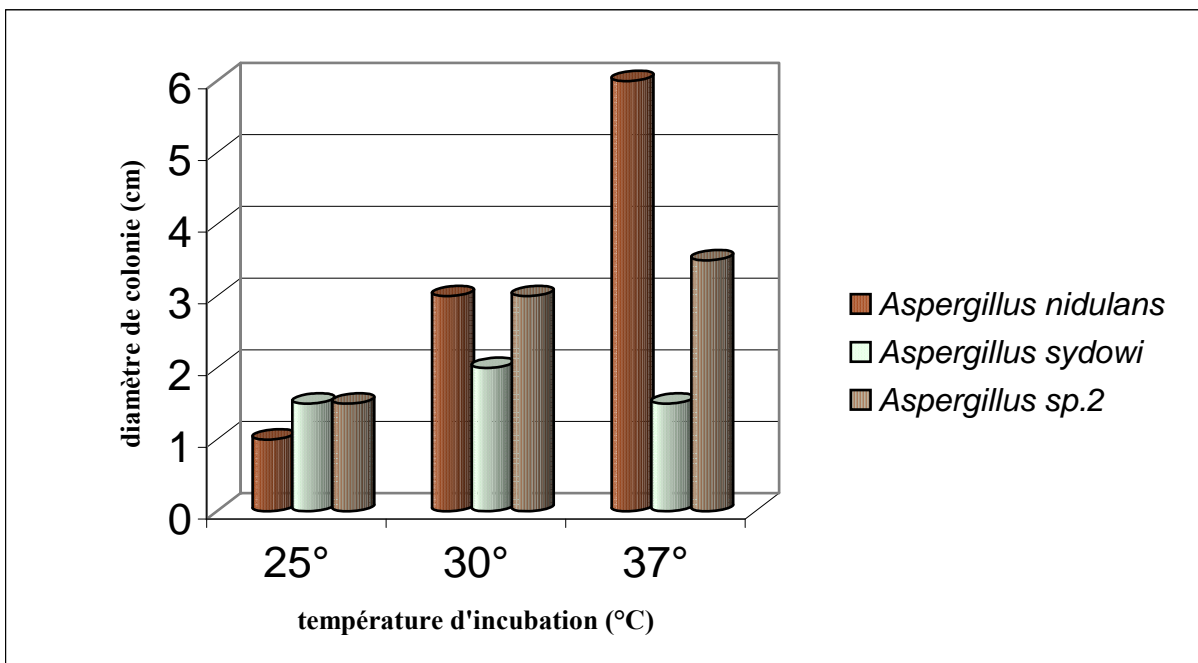


Fig.4.2. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches de *Aspergillus* appartenant à la section *Nidulantes*.

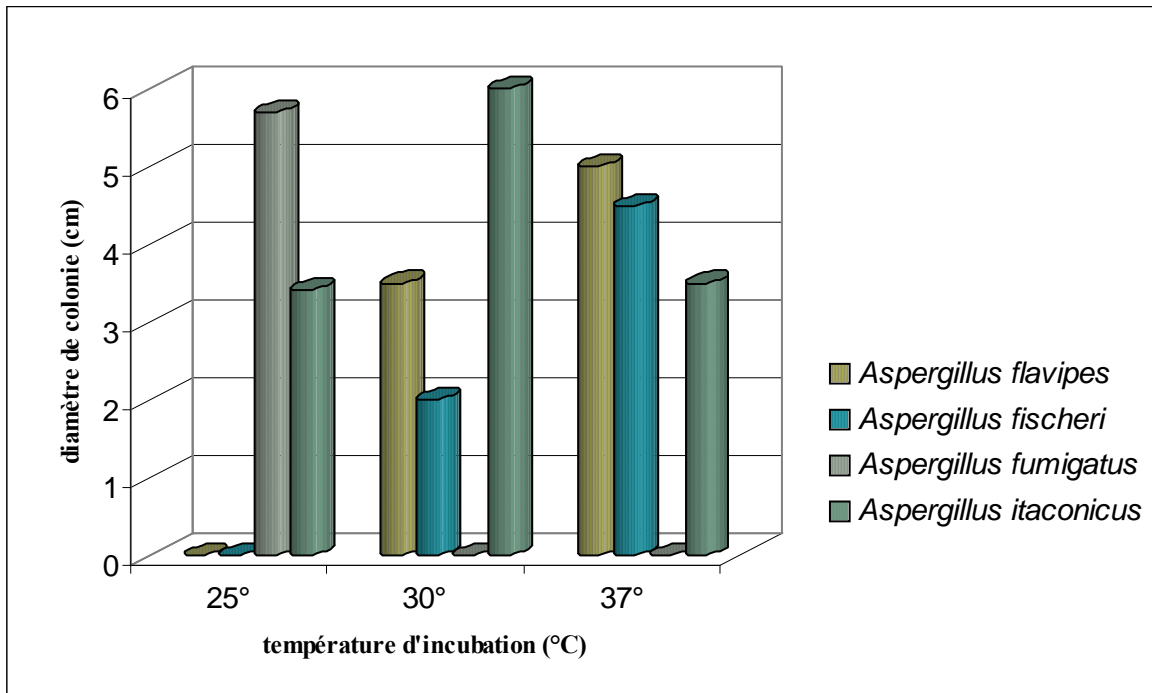


Fig.4.3. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches d'*Aspergillus* appartenant au groupe *Fumigati*.

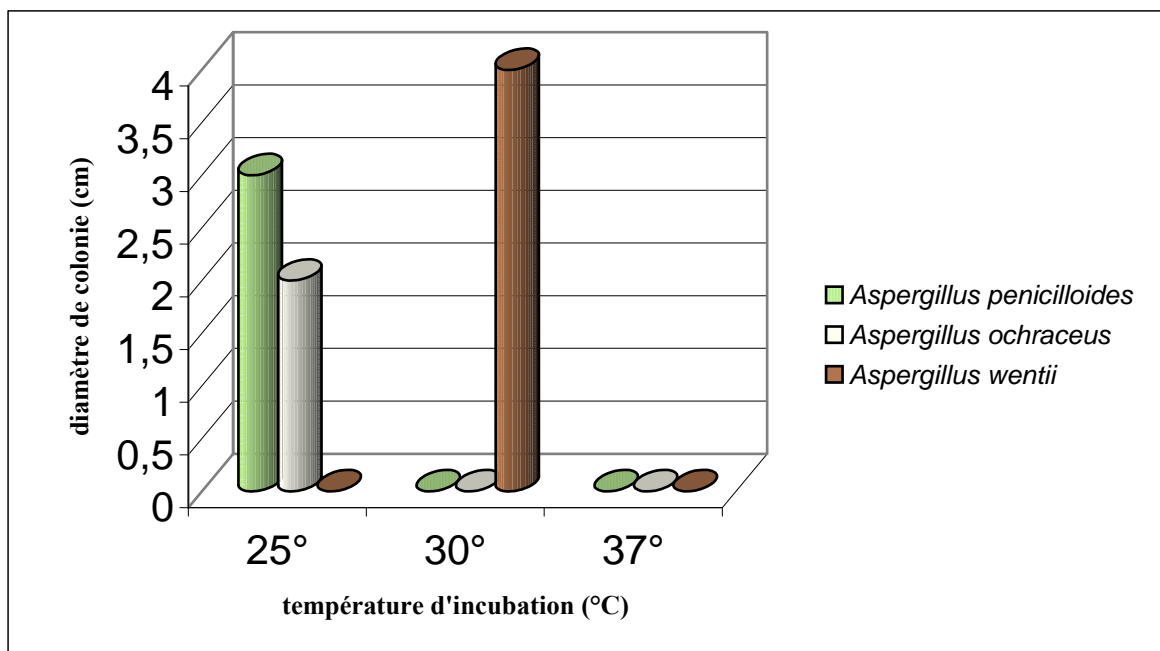


Fig.4.4. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches d'*Aspergillus* appartenant au groupe *Circumdati*.

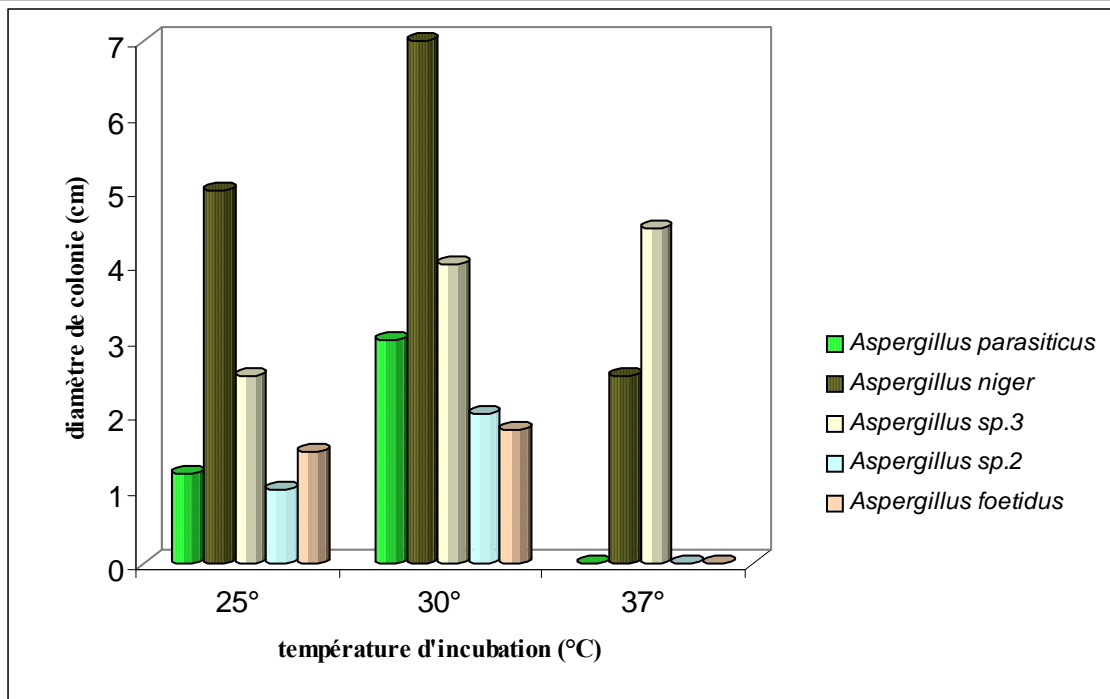


Fig.4.5. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches d'*Aspergillus* appartenant au groupe *Negri*.

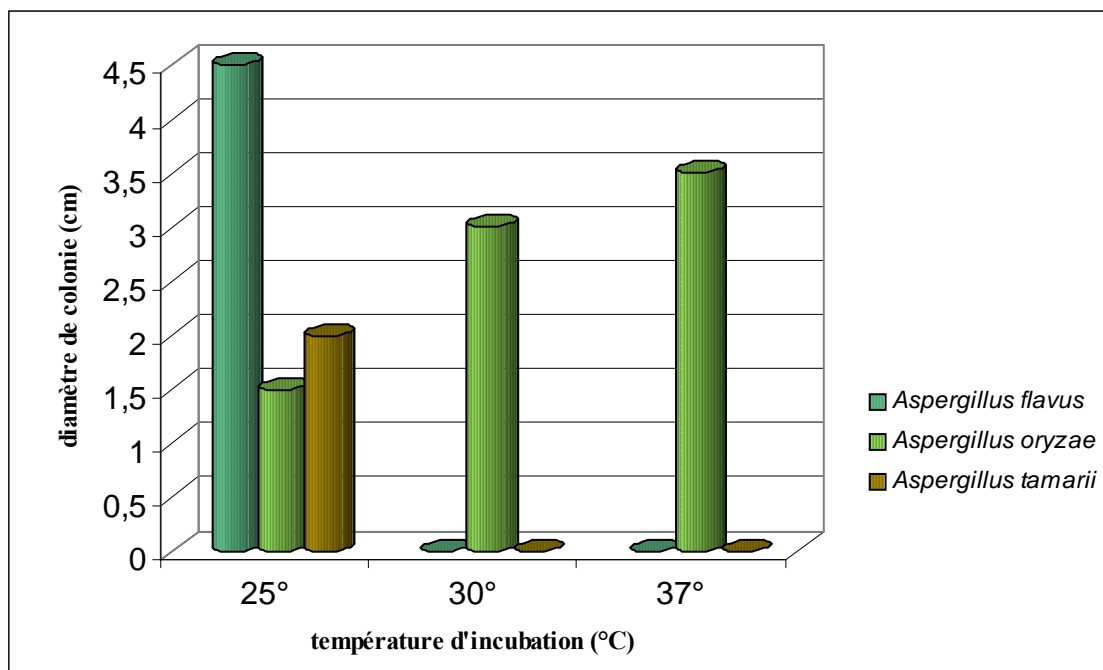


fig. 4.6. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation des souches d'*Aspergillus* appartenant au groupe *Flavi*.

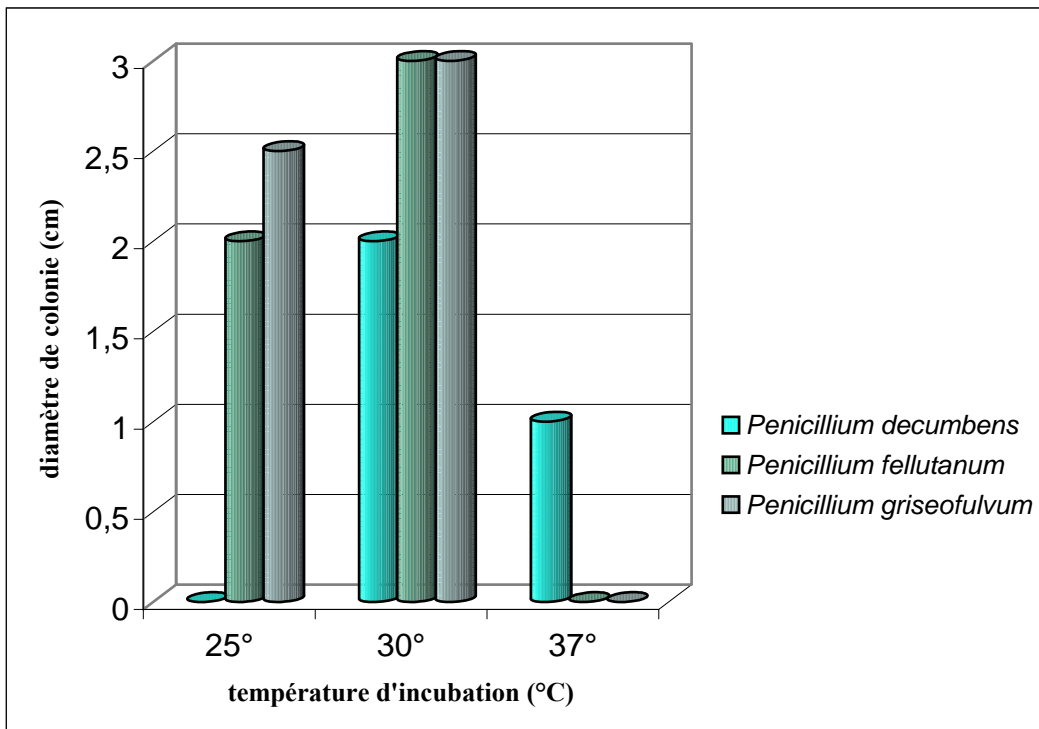


fig. 4.7. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation des souches de *Penicillium* appartenant au groupe *Lanata*

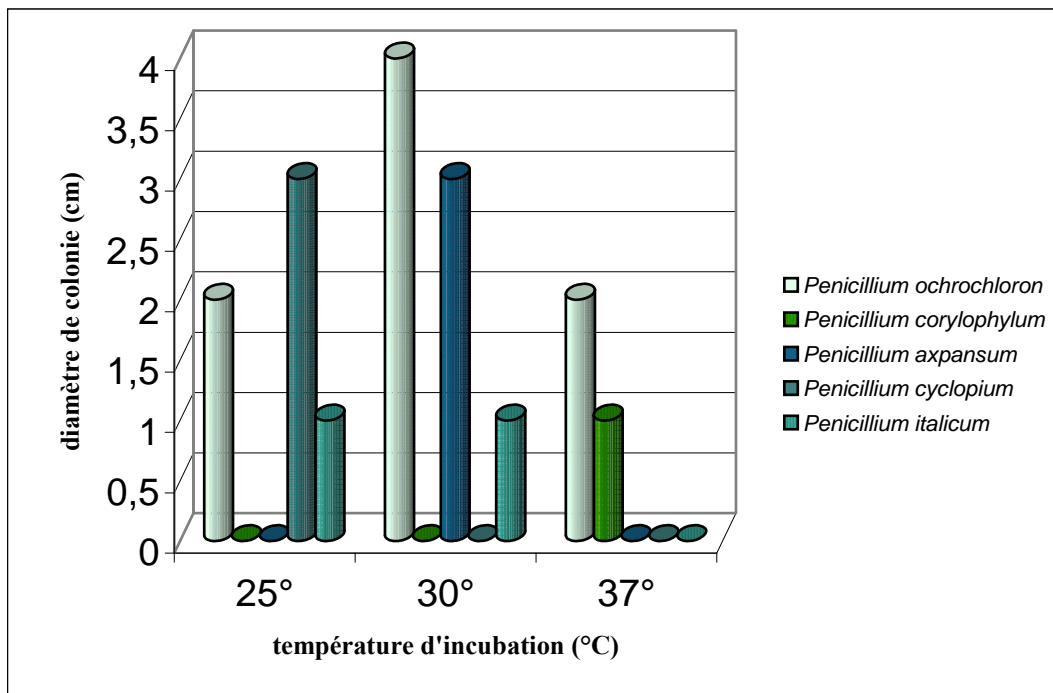


fig. 4.8. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation des souches de *Penicillium* appartenant au groupe *Fasciculata*

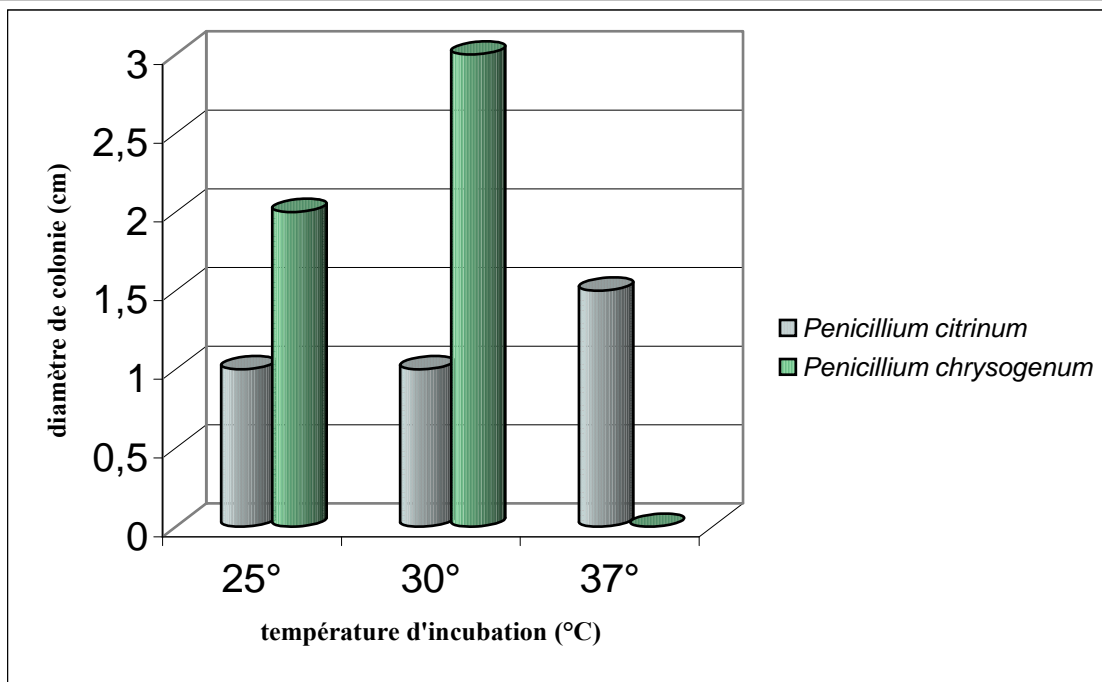


fig. 4.9. :variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation des souches de *Penicillium* appartenant au groupe *Velutina*

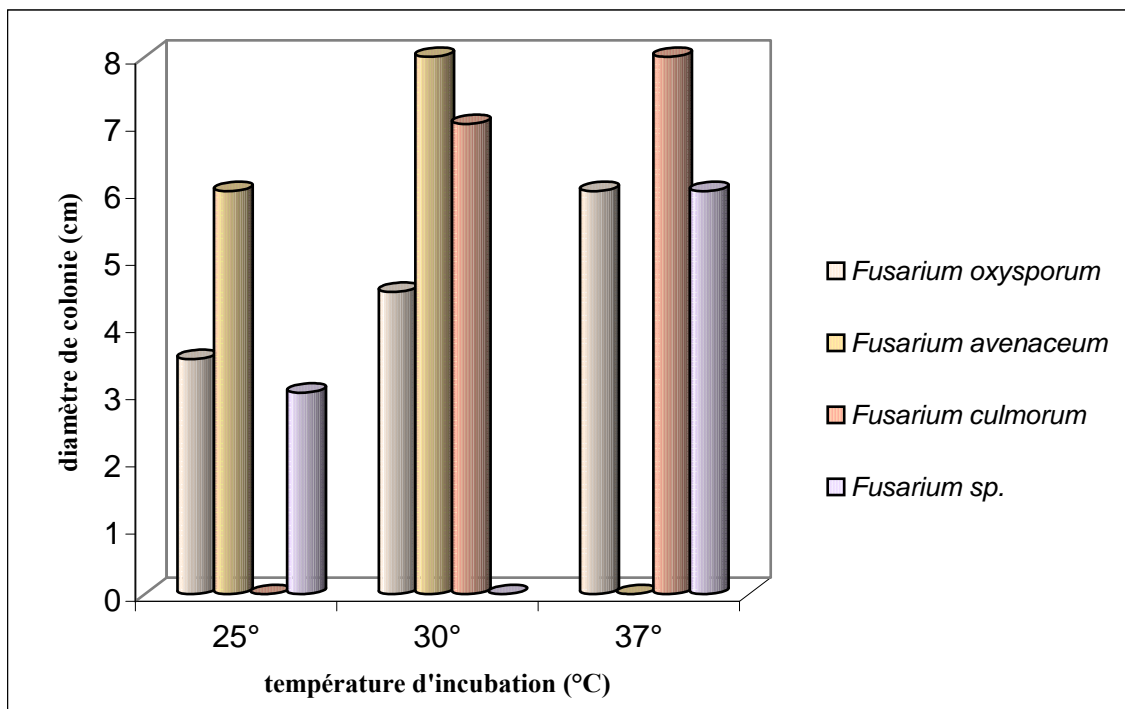


fig. 4.10. :variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches du genre *Fusarium*

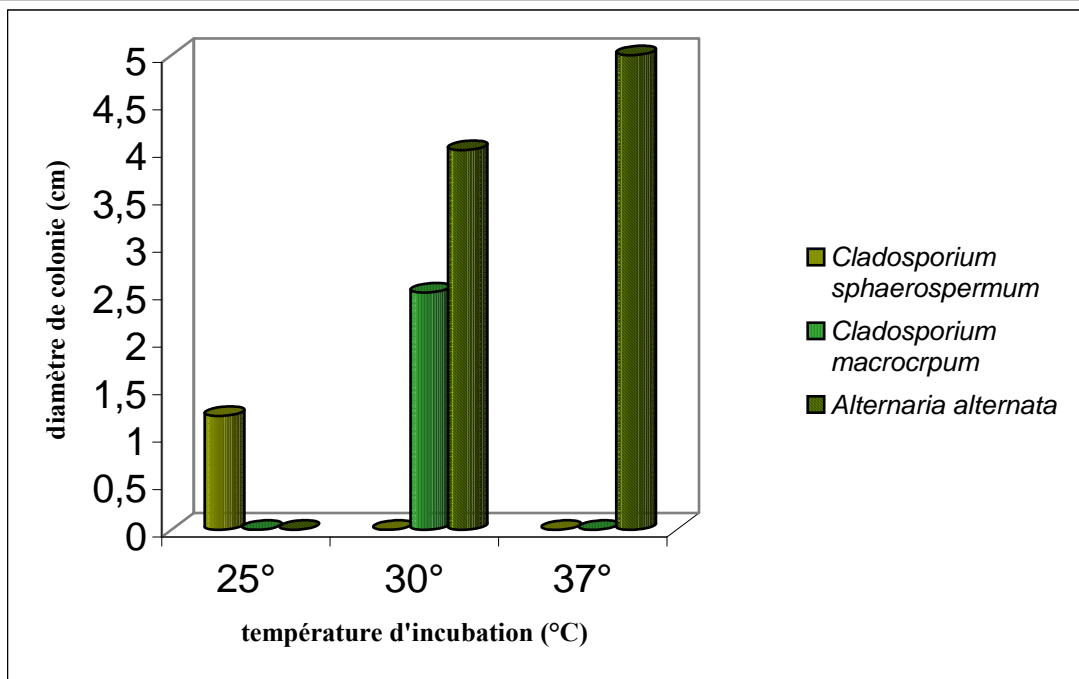


fig. 4.11. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches dématiées

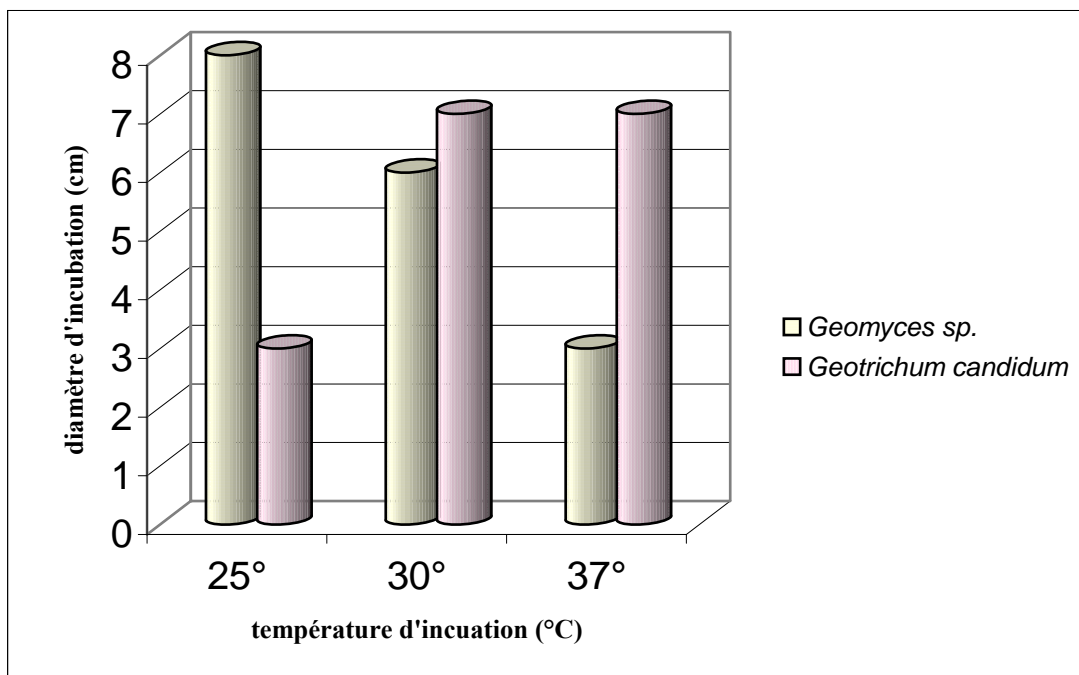


fig. 4.12. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches arthrosporées.

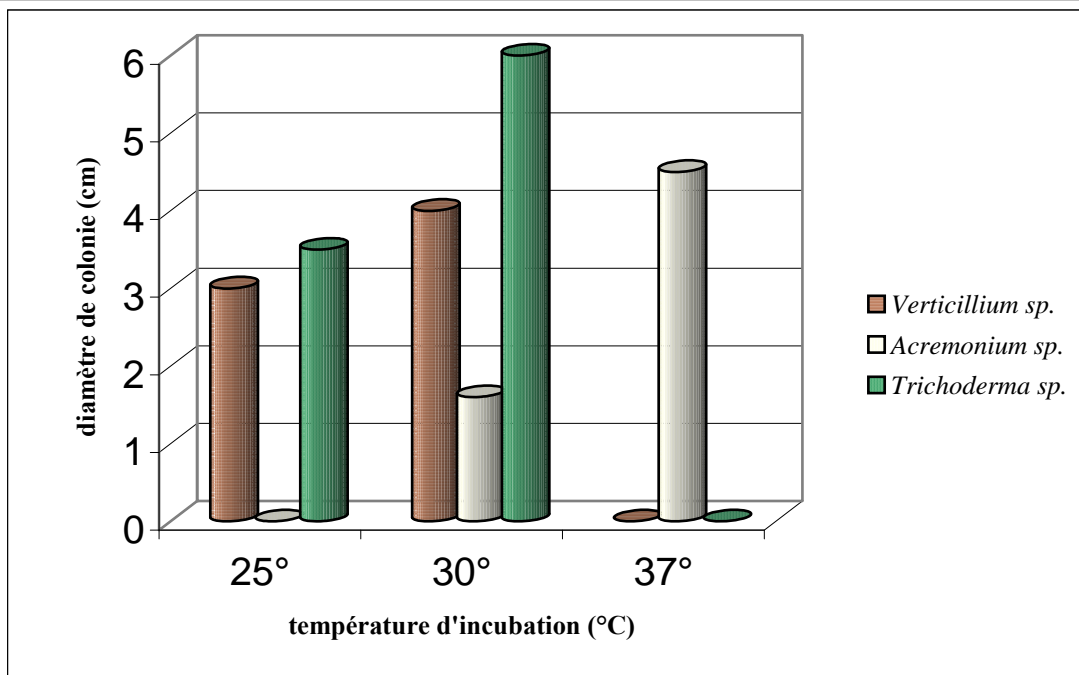


fig. 4.13. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches *verticillées*.

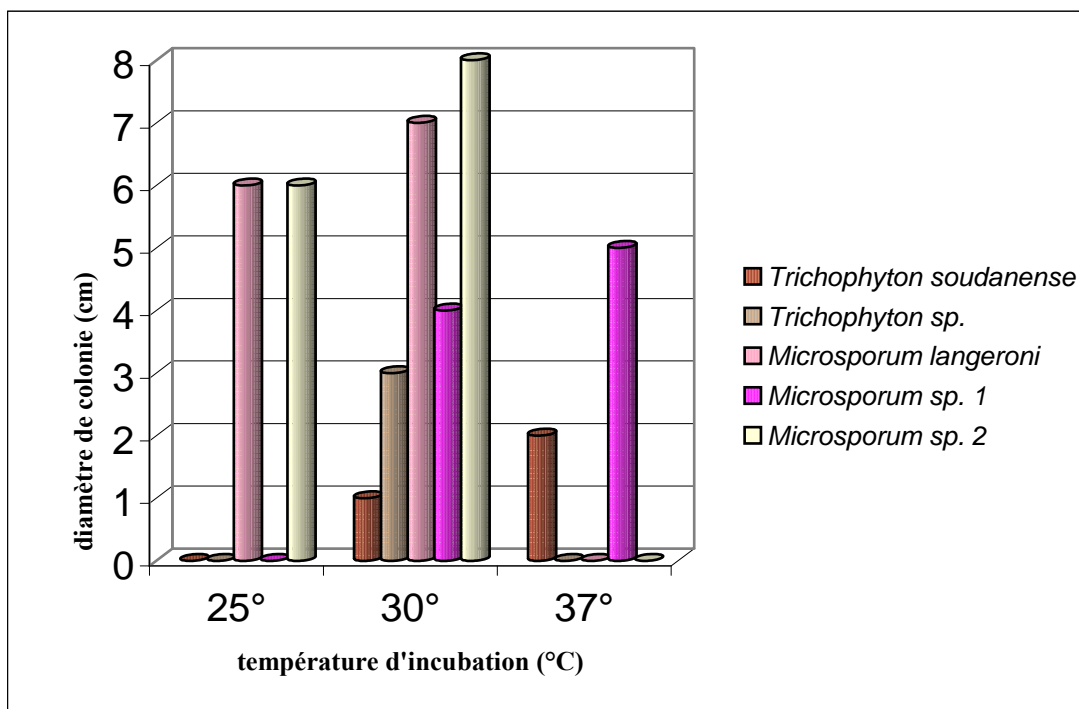


fig. 4.14. : variation du diamètre de colonie en fonction de la température d'incubation pour les souches *Dermatophytes*.

Les variations de la température d'incubation ont permis de répondre aux différents comportements des mycètes isolés via ce facteur physique et climatologique.

On distingue les mycètes s'étant développés de façon idéale à 25 °C, telles que *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. tamarii*.

L'espèce *Acremonium sp.*, diminue sa croissance de façon remarquable avec l'augmentation de température, tandis que *Geomyces sp.* est envahissante à 25°C et se caractérise par une vitesse de croissance presque nulle à une température $\geq 35^\circ\text{C}$. Ceci caractérise les espèces **phytoparasites** qui profitent des saisons froides pour manifester leur pouvoir pathogène.

De nombreuses souches marquent une croissance plus rapide à 30°C par rapport à 25°C et à 37°C, il s'agit de :

A. terreus, *A. itaconicus*, *A. ochraceus*, *Penicillium. cyclopium*, *P. ochrochloron* et *Verticillium sp.*

A. terreus, spp.3 et *Geotrichum candidum* dont le diamètre de colonie, stable (~7cm) au bout d'une semaine à $T^\circ\text{C} \geq 30^\circ\text{C}$.

Les trois espèces de *Microsporium* (anthropopathogènes et/ou zoopathogènes), toutes les souches de *Fusarium*, ainsi que *Aspergillus nidulans*, *A. wentii*, *A. oryzae* et *P. expansum*, ont mieux poussé à 37°C, il s'agit des espèces des Les zygomycètes, à côté de *Aspergillus sydowi*, *A. niger* et *A. parasiticus*, pousse plus lentement à 25°C qu'à 30°C.

L'espèce *Trichoderma sp.*, est envahissante à $T^\circ \geq 30^\circ\text{C}$, mais sa vitesse de croissance est très réduite à 20°C – 25°C. Elle est d'ailleurs répandue pathogène.

Certaines souches dont les colonies présentent un diamètre stable, ne montrent pas de variation de croissance vis-à-vis de la température, c'est le cas de :

Penicillium citrinum, *P. italicum*, *P. corylophylum* et *Cladosporium sphaerospermum*

Les espèces *Aspergillus foetidus*, *A. penicilloides*, *P. fellutanum*, *P. griseofulvum* et *P. chrysogenum* n'ont pas été isolées à 37 °C, contrairement à *A. fischeri*, *A. flavipes*, *P. decumbens*, *Trichophyton soudanense* et *Trichophyton sp.* que l'on n'a pu cultiver à 25°C.

Ceci serait dû à plusieurs facteurs :

- (1) l'envahissement d'autres espèces;
- (2) la concurrence trophique et spatiale,
- (3) l'antagonisme.

Ces facteurs peuvent masquer un nombre important de colonies (à croissance tardive) lors de la purification, l'une des difficultés majeures perçues en étudiant les microchampignons *in vitro* ; d'autre part les souches seraient incubées à des conditions climatiques ou trophiques défavorables à leur croissance.

Aussi nous sommes arrivés à confirmer la **psychrotolérance** des espèces dématées dont la croissance peut avoir lieu même à $>7^{\circ}\text{C}$, il s'agit de *Alternaria alternata*, de *Cladosporium sphaerospermum* et *Cladosporium macrocarpum* [22], [35].

Conclusion

Toutes les souches de micromycètes filamenteux que nous avons isolées de l'échantillon d'eau prélevé à la surface du lac Oubeira, ont été classées d'après leur identification dans le règne des *Eumycota* (champignons vrais), elles ont été repérées en majorité au stade anamorphe et attribuées, de ce fait à la classe des Deutermycètes ou champignons imparfaits.

Ces moisissures constituent une mycoflore commune, non spécifique du milieu dulçaquicole, elle est comparable à toute flore fongique rencontrée sur les couches superficielles de divers substrats en décomposition, à savoir litière, troncs d'arbres morts, murs humides, céréales, fruits et partout, là où se réunissent entre autres nutrition, humidité et température ambiante.

A partir de notre étude pratique, nous avons pu confirmer le rôle de ces microorganismes **détritivores** dans la décomposition de la matière organique et minérale, azotée en particulier, par leur capacité de **dénitrification** aboutissant au recyclage des éléments particuliers (carbone, azote, etc.) au profit des autotrophes, dans la chaîne alimentaire leur propriété de décomposeurs, représente un point principale dans la protection de l'écosystème du risque d'eutrophisation par l'élimination de l'azote (étant un facteur limitant du phénomène).

Parmi les microchampignons que nous sommes arrivés à isoler, nombreux sont ceux réputés **pathogènes de l'homme** et des animaux dont *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, les *Dermatophytes* et certaines espèces du genre *Aspergillus*.

D'autres sont dits **phytoparasites** et peuvent être à l'origine de dégâts considérables dans la végétation du lac aussi bien que de sont versant, on cite les genres *Acremonium* et *Geomyces*.

Prise en considération, ces données augmentent la probabilité d'une éventuelle pollution fongique menaçant la santé publique dans la région ; or, aucun signe d'alarme n'a été lancé à présent, des études quantitatives sont en perspective vers une réponse à la contradiction

Perspectives

En vue de mieux valoriser cette étude consacrée essentiellement à l'identification des souches de moisissures isolées à partir d'un échantillon d'eau prélevé du lac Oubeira, nous espérons pouvoir concrétiser les points suivant :

1/ Vérifier l'identification des souches de moisissures en utilisant des techniques modernes de biologie moléculaire, à savoir le séquençage d'ADN et les examens immunologiques, ou par l'établissement de galeries biochimiques classiques dont le principe de fonctionnement est le même qu'en bactériologie.

2/ Poursuivre le recensement, régulier (mensuel ou saisonnier, des mycètes à coté d'autres microorganismes lacustres tels les bactéries, le phytoplancton et le zooplancton.

3/ Généraliser le prélèvement sur les 4 sites de rejet d'eaux usées urbaines cités à la page 8, à coté d'un cinquième site, pris comme témoins, dans le but de préciser la mycoflore lacustre originale et celle apportée par les effluents d'eaux résiduaires, dite aussi mycoflore contaminante.

4/ Extraire et doser, à partir de l'hydrosystème et du milieu de culture (*in vitro*), les mycotoxines élaborées par certaines mycètes afin de donner une image sur le degré de pollution fongique dans le lac, et son seuil de danger.

5/ Etudier l'impact des mycètes sur la dégradation des déchets urbains et spécialement les hydrocarbures et les dérivés pétroliers, menaçant la santé publique dans la région, en raison de leur décharge directe dans le lac.

Resumé

Notre étude lancée au début du mois d'Avril 2003, sur un échantillon d'eau prélevé à la surface du lac *Oubeira*, près de l'embouchure de l'Oued *El Messida*, un site reconnu pollué par le déversement des eaux résiduaires urbaines et de dérivés pétroliers bruts, a été réalisée dans le but d'établir un inventaire de microchampignons filamenteux et de donner, en résultat, une image approximative sur la qualité microbiologique de cette eau.

Les caractères phénotypiques des mycètes, à savoir l'aspect des colonies et la morphologie microscopique ont servi de clés d'indentification systématique classique des moisissures isolées dont nous avons suivi le comportement en les cultivant sur 15 milieux de culture spécifiques, à 3 différentes températures.

Nous avons mis en évidence 51 souches de moisissures réparties sur 13 genres appartenant en majorité au phylum des *Deuteromycètes* ; il s'agit des genres : *Aspergillus*, en grand nombre d'espèces, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Geomyces*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Acremonium*, *Verticillium*, *Trichoderma* et, des souches *dermatophytes* des genres *Trichophyton* et *Microsporum*.

Leur intérêt dans la nature se traduit par leur propriété de décomposeurs du substrat organique essentielle dans le recyclage des éléments particuliers pour le déroulement naturel des cycles biogéochimiques, ainsi que leur rôle dans l'épuration biologique de l'hydrosystème.

En dépit de la présence de nombreuses espèces pathogènes de l'Homme, des animaux autant que des végétaux, leur nuisance est inapparente et aucun danger d'origine microbienne, menaçant la santé publique n'a été déclaré depuis 3 ans.

Déscriptif

Eau de surface, lac Oubeira, site pollué, eaux usée urbaines, dérivés pétroliers, moisissures, identification, caractères phénotypiques, Deuteromycètes, décomposeurs, épuration biologique.

ملخص

إنّ دراستنا التي انطلقت في أوائل شهر أفريل 2003، قد أجريت على عيّنة من المياه السطحية لبحيرة الأوبيرة، على مقربة من مصبّ وادي المصيدة، موقع معلن تلوثه عن طريق صرف المياه المستعملة و مشتقّات الزيوت البتروليّة، تهدف إلى عمليّة جرد للفطريّات المجهرية الخيطيّة لإعطاء صورة مقربة عن النّوعيّة الميكروبيولوجيّة لهذه المياه.

و قد كانت الصفات الظاهرية للفطريّات، كشكل المستوطنات و البنية المجهرية، على سبيل الذّكر، كمفاتيح استعملت للتعريف التّقليدي بالفطريات المعزولة و التي تابعتها نموها على 15 وسط زرع خاصة، و بحضنها تحت ثلاث درجات حرارة مختلفة.

و قد تمكنا من عزل 51 سلالة عفن موزّعة على 13 نوعا، منتمية في أغلبها إلى مجموعة الفطريّات *Penicillium*، بعدد كبير من الأصناف، ثم الأنواع *Aspergillus* و هي كالتالي: *Deuteromycètes* الناقصة *Fusarium Cladosporium, Alternaria, Geomyces, Geotrichum, Mucor, Acremonium, Verticillium, Trichophyton*، بالإضافة إلى بعض السلالات من الفطريات الجلديّة التي تنتمي إلى النوعين: *Trichoderma* و *Microsporium*.

إنّ دور هذه الفطريات في الطّبيعة يتجسد في نشاطها التحليلي والذي يدخل في عملية تكرير العناصر الجزيئيّة من أجل السّير الطّبيعي للحلقات البيوجيوكيميائية، إضافة إلى دورها في التطهير الحيوي للبيئة المائيّة.

في المقابل، فإنّ بعض أصناف هذه الفطريات يُعدّ ممرضاً و ضاراً للإنسان و الحيوان و كذا للنبات، غير أنّ خطورتها لم تظهر و لم يُعلن عن تفشّي أي مرضٍ أو خطرٍ ميكروبيّ يهدد الصحة العمومية منذ ثلاث سنوات.

المصطلحات الدالّة

مياه سطحيّة، بحيرة الأوبيرة، موقع ملوث، مياه حضريّة مُستعملة، مشتقّات الزيوت، تصنيف الفطريّات، الصفات الظاهرية، الفطريات الناقصة، النشاط التحليلي، التطهير الحيوي.

Abstract

Our study launched at the beginning of April 2003, on a water sample taken on the surface of the Oubeira Lake, meadows of the mouthpiece of El Messida Wadi, a recognized polluted site because of the discharge of urban waste water and rough oil derivatives, was realized in order to establish a filamentous fongical microflora of this water.

The phenotypical characters that, the aspect in colonies and microscopic morphology, were used as keys of traditional systematic indentification of the isolated moistures and of which we followed the behavior by cultivating them on 15 specific culture media and by incubating them to 3 different temperatures.

We highlighted 51 stocks of moistures distributed on 13 kinds belonging in majority, to the *Deuteromycètes* phylum; it is about *Aspergillus*, in great number of species, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alterneria*, *Geomyces*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Acremonium*, *Verticillium*, *Trichoderma* and about the dermatophyte species from the two kinds *Trichophyton* and *Microsporum*.

Their interest in nature is illustrated in their capacity of decomposers intervening in the recycling of the particular elements for the natural course of the biogeochemical cycles and their role in the biologic purification of hydrosystems, else.

In spite of the presence of many pathogenic species for man and animals as well as much the vegetables. Their harm wasn't manifested and no danger of microbial origin, threatening the public health has been declared for 3 years.

Key words

Surface water, Oubeira Lake, polluted site, urban worn water, oil derivatives, moistures, identification methods, phenotypical characters, Deuteromycetes, decomposers, biologic purification.

Identification des moisissures isolées du lac Oubeira et impact des eaux usées sur leur diversité

L. Kachour

Notre étude lancée au début du mois d'Avril 2003, sur un échantillon d'eau prélevé à la surface du lac *Oubeira*, près de l'embouchure de l'Oued *El Messida*, un site reconnu pollué par le déversement des eaux résiduaires urbaines et de dérivés pétroliers bruts, a été réalisée dans le but d'établir un inventaire de microchampignons filamenteux et de donner, en résultat, une image approximative sur la qualité microbiologique de cette eau.

Les caractères phénotypiques des mycètes, à savoir l'aspect des colonies et la morphologie microscopique ont servi de clés d'indentification systématique classique des moisissures isolées dont nous avons suivi le comportement en les cultivant sur 15 milieux de culture spécifiques, à 3 différentes températures.

Nous avons mis en évidence 51 souches de moisissures réparties sur 13 genres appartenant en majorité au phylum des *Deuteromycètes* ; il s'agit des genres : *Aspergillus*, en grand nombre d'espèces, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Geomyces*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Acremonium*, *Verticillium*, *Trichoderma* et, des souches *dermatophytes* des genres *Trichophyton* et *Microsporum*.

Leur intérêt dans la nature se traduit par leur propriété de décomposeurs du substrat organique essentielle dans le recyclage des éléments particuliers pour le déroulement naturel des cycles biogéochimiques, ainsi que leur rôle dans l'épuration biologique de l'hydrosystème.

En dépit de la présence de nombreuses espèces pathogènes de l'Homme, des animaux autant que des végétaux, leur nuisance est inapparente et aucun danger d'origine microbienne, menaçant la santé publique n'a été déclaré depuis 3 ans.

Déscriptif

Eau de surface, lac Oubeira, site pollué, eaux usées urbaines, dérivés pétroliers, moisissures, identification, caractères phénotypiques, Deuteromycètes, décomposeurs, épuration biologique.
