

RÉPUBLIQUE Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département biologie



MÉMOIRE

Présenté par

Dahmani chahinez

&

Rahiel amina

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie Fondamentale

Thème

Culture du mycélium d'*Agaricus bisporus* sur le lactosérum

Soutenu le 30/06/2022, devant le jury composé de :

Président	TEFIANI Choukri	M.C.A	Université Tlemcen
Examineur	BREKESI REGUIG Selma	M.C.B	Université Tlemcen
Encadrant	BEKHTI SARI Fadia	M.C.B	Université Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord. Je loue Allah le seul et l'unique qui nous a permis et guidé de finaliser de ce travail.

*Nous tenons à remercier très vivement ma directrice de recherche madame **BEKHTI SARI FEDIA**, tout d'abord parce qu'elle a bien voulu accepter de m'encadrer et de diriger cette modeste recherche ainsi que pour précieux conseils, c'est recommandations éclairées, ses encouragements, ses suggestions, ses explications, son assistance, son soutien indéfectible et sa générosité qu'elle nous a toujours apportée toute au long du parcours.*

*Nous remercions **Mr TEFIANI CHOUKRI** Maitre de conférences A à l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen qui nous a guidées de l'élaboration de ce travail, pour ses précieux conseils, son assistance et de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous tenons aussi à remercier Mme **Brekesi reguig selma**, Maitre-assistant à l'Université Abou Bekre Belkaid-Tlemcen pour avoir accepté d'examiner ce travail et donc faire partie du jury de soutenance.*

Nos remerciements vont aussi les responsables de laboratoires sans oubliant nos collègues qui ont contribué à créer une ambiance de travail agréable et propice à la coopération et au partage d'expériences.

Et enfin, nous remercions nos parents qui nous ont soutenus, encouragé et surtout supporté tout au long de ce travail. Sans eux tout aurait été beaucoup plus difficile.

Dédicace

J'offre ce modeste travail :

*A mes chers parents « **NASSRADDINE et DJAMILA** », mais aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect, car je ne pourrais jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont toujours entouré depuis mon enfance.*

*Mes chers frères : **SIDI MOHAMMED, ABED NACER** en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude. Puisse dieu vous donne la santé, bonheur, courage et réussite.*

*A ma cousine **TOURIA** que je considère comme une sœur et sa merveilleuse fille
YAMINA*

*A mes grands-parents maternels : **HIDRA BENAMAR et KHADIJA NAHADE**, ce travail est le résultat de vos prières incessantes, de votre tendresse, et de votre amour. Que dieu vous procure santé et joie pour le restant de la vie...Je vous aime !*

A TOUTE MA FAMILLE (RAHIEL ET HIDRA)

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

*A mes amies **ASMA, CHAHINEZ, AZHAR, AMIRA, FATIMA**, et mes chers cousine **NOURIA et SIHEM et ANFEL**, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A ma binôme **CHAHINEZ** qui m'a soutenu et a été patient avec moi, et toute la joie et la tristesse que nous avons traversées. Vous êtes un morceau de mon cœur et mon compagnon à l'université. Je vous souhaite plus de réussite et d'excellence dans votre vie scientifique et pratique.*

AMINA RAHIEL

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

*A mes très chères parents **ALI** et **NOURIA**, qui sont la cause de mon existence dans cette vie, pour leur Soutient, leur patience et leur amour qui m'ont donné la force pour continuer mes études. Que Dieu les protège et leur prête santé et Longue vie.*

*Hommage à ma chère grand-mère **SALIHA** que je n'arriverais jamais à oublier, tu es gravée dans mon cœur, j'aurais aimé que tu sois là, je suis certaine que tu seras fière de moi, **ALLAH YARHMEK**.*

*A mon grand-père maternel : **MOHAMMED**, ce travail est le résultat de vos prières incessantes, de votre tendresse, et de votre amour. Que dieu vous procure santé et joie pour le restant de la vie.*

*A mes très chères frères **FOUAD**, et **MOHAMMED**, et ma cousine **FAIROUZE** et ma tante **AMEL**. Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A tous les membres de la famille **DAHMANI** et **KHATER**.*

*A mon très cher ami **AZHAR** qui a été à mes côtés dans toutes mes circonstances difficiles sans oublier mes chères amies **AMIRA**, **ASMA**, **SIHEM**, **AMINA**. En Souvenir des moments heureux passés ensemble, avec mes vœux sincères de Réussite, bonheur, santé et de prospérité.*

*A ma binôme **AMINA** qui m'a soutenu et a été patient avec moi, et toute la joie et la tristesse que nous avons traversées. Vous êtes un morceau de mon cœur et mon compagnon à l'université. Je vous souhaite plus de réussite et d'excellence dans votre vie scientifique et pratique.*

CHAHINEZ DAHMANI

Résumé

Agaricus bisporus est l'un des champignons les plus cultivés au monde pour ses vertus nutritifs et médicinales. Sa culture nécessite des étapes effectuées au laboratoire. Le champignon de Paris est d'abord purifié sur milieu PDA. Le Lactosérum, sous-produit de l'industrie laitière peut constituer un milieu de culture de l'*Agaricus bisporus* par sa richesse en nutriments.

Cette étude consiste à optimiser le lactosérum en tant que milieu de culture du mycélium à partir des spores de champignons de Paris. Des ajustements de pH du lactosérum ont été réalisés à 5,6 et 7 ainsi que le lactosérum pur. Des dilutions sont réalisées à 25%, 50%, 75% et 100 % pour les différents pH du lactosérum.

Les résultats obtenus sont satisfaisants. La dilution de lactosérum 75% à pH=7 a donné le meilleur résultat en termes de croissance radiale et en densité comparé au PDA.

A la lumière de ce travail, la valorisation du lactosérum en tant que milieu de culture du mycélium de l'*Agaricus bisporus* offre des résultats très encourageants.

Mots clés :

Agaricus bisporus, substrat, lactosérum, champignons, mycélium.

ملخص

يعد فطر باريس أحد أكثر أنواع الفطر المزروعة في العالم لخصائصه الغذائية والطبية. تتطلب زراعته خطوات يتم تنفيذها في المختبر.

يتم أولاً زراعة فطر باريس على مستوى وسط مغذي PDA .

مكن أن يشكل مصّل اللبن، وهو منتج ثانوي لصناعة الألبان، وسيلة لزراعة فطر باريس بسبب ثرائه في العناصر الغذائية.

تتكون هذه الدراسة من تحسين مصّل اللبن باعتباره وسطاً لزراعة الفطريات باستعمال الإبواغ الفطرية مع تعديلات في درجات الحموضة لمصّل اللبن قيمتها 5,6 و 7 وكذلك مصّل اللبن النقي. يتم إجراء التخفيفات بنسبة 25% و 50% و 75% و 100% لمختلف النتائج التي تم الحصول عليها مرضية. أعطى التخفيف بنسبة 75% من مصّل اللبن في درجة الحموضة = 7 أفضل نتيجة من حيث النمو والكثافة مقارنة بل PDA

في ضوء هذا العمل، فإن تقييم مصّل اللبن كوسيلة لزراعة فطر باريس يقدم نتائج مشجعة للغاية

الكلمات المفتاحية

فطر باريس، ركيزة، مصّل اللبن، فطر، فطريات

Abstract

Agaricus bisporus is one of the most cultivated mushrooms in the world for its nutritional and medicinal properties. Its cultivation requires steps carried out in the laboratory. The Paris mushroom is first purified on PDA medium. Whey, a by-product of the dairy industry, can constitute a medium of culture of *Agaricus bisporus* because of its richness in nutrients.

This study consists in optimizing whey as a mycelium culture medium from fungal spores of Paris pH adjustments of whey were made at 5,6 and 7 as well as pure whey. Dilutions are carried out at 25%, 50%, 75% and 100% for the different pH of the whey.

The results obtained are satisfactory. Dilution of 75% whey at pH=7 gave the best result in terms of radial growth and density compared to PDA.

In the light of this work, the valorization of whey as a culture medium of the mycelium of *Agaricus bisporus* offers very encouraging results.

Key word:

Agaricus bisporus, substrate, whey, mushrooms, mycelium

Liste des Figures

Figure 1: Morphologie de l'Agaricus bisporus	7
Figure 2: Production d'Agaricus. bisporus.....	9
Figure 3: Processus de culture de champignon de Paris	10
Figure 4: Cycle de vie de l'Agaricus bisporus	12
Figure 5: Les cycles génétiques d'Agaricus bisporus	13
Figure 6: Photos de lactosérum.	15
Figure 7 : Schéma technologique d'obtention des principaux types de lactosérums issus de la transformation du lait	16
Figure 8: Pollution de l'environnement avec lactosérum	20
Figure 9: Photo de champignon de paris	23
Figure 10: Mesure de pH de lactosérum avec le pH mètre	24
Figure 11: Mesure d'agar agar avec la balance	25
Figure 12: Agitateur de laboratoire	26
Figure 13: Remplissage des flacons avec du lactosérum à différentes dilutions et à différents pH	26
Figure 14: Différente étape de réparation du PDA	27
Figure 15: Stérilisation des flacons dans un autoclave	28
Figure 16: Les étapes permettant l'obtention des spores de champignon	29
Figure 17: Milieu PDA envahit de mycélium	30
Figure 18: Une hotte à flux laminaire.	31
Figure 19: Inoculation de lactosérum à partir de la culture de mycélium sur PDA.	32
Figure 20: Etiquetage des boîtes de pétri.....	33
Figure 21: Etuve bactériologique à convection naturelle.....	34
Figure 22: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps pour les différentes dilutions à pH=4.6.	40
Figure 23: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps à pH=5.6.....	41
Figure 24: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps pour les différentes dilutions au pH=7.	41
Figure 25: Densité du mycélium sur milieu de lactosérum 75 % et PDA	42

Liste des tableaux

Tableau 1: Position taxonomique de champignon de Paris).....	8
Tableau 2: Apport nutritionnel du champignon de paris	11
Tableau 3: Principales protéines du lactosérum	17
Tableau 4: Teneur en vitamines du lactosérum	18
Tableau 5: Les principaux composants du lactosérum doux et acide	19
Tableau 6: Préparation des dilutions de lactosérum.....	24
Tableau 7: Développement du mycélium de champignon de Paris sur lactosérum pendant 15 jours à pH=4,6.....	37
Tableau 8: Développement du mycélium de champignon de Paris sur lactosérum pendant 15 jours à pH=5.6.....	38
Tableau 9: Développement du mycélium de champignon de paris sur lactosérum pendant 15 jours à ph=7.	39
Tableau 10: Développement du mycélium de champignon de paris sur PDA pendant 15jours.	40

Liste des abréviations

- BSA : albumine sérique bovine
- C: Carbone
- cm: centimètre
- C/N: rapport massique carbone sur azote
- D °: degré Dornic
- FAO : (Food and Agriculture Organisation) L'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture
- Ig: Immunoglobulines
- jr: jour
- Kcal: kilocalorie
- KJ: Kilojoule
- MG: matière grasse
- mg: milligramme.
- MM: matière minérale
- MS: matière sèche
- mn: minute
- N: azote
- NaOH: hydroxyde de sodium
- ONU: Organisation des Nations Unies
- PDA: potato dextrose agar
- PH: potentiel hydrogène
- UE: Union Européenne
- %: Le pourcentage
- α -LA: alpha lactoglobuline
- β -LG: bêta lactoglobuline

Table des matières

RÉPUBLIQUE Algérienne Démocratique et Populaire	1
Résumé.....	5
Chapitre 1 : Le champignon de paris « <i>Agaricus bisporus</i> »	5
1.1 Généralités :.....	6
1.2 Historique :.....	6
1.3. Morphologie du champignon de paris :.....	7
1.4. Classification et systématique du champignon de Paris.....	8
1.5. Culture de champignon de Paris :.....	8
.....	10
1.6. Écologie du champignon de Paris	10
1.7. Valeur nutritionnelle :.....	10
1.8. Cycle de vie et génétique du champignon de paris.....	11
Chapitre 2 : Le lactosérum.....	14
2.1. Définition du lactosérum :.....	15
2.2. Les différentes sources du lactosérum :	15
a) La fromagerie.....	15
b) La beurrerie.....	16
2.3 Type de lactosérum :	16
a. Le Lactosérum doux :.....	16
b. Le Lactosérum acide :	16
2.4 Composition du lactosérum :.....	17
a. Le Lactose :.....	17
b. Les Protéines :.....	17
c. Les Vitamines :.....	18
2.5. Pouvoir polluant du lactosérum :	19

a. Intérêt alimentaire	20
b. Intérêts biotechnologiques	21
c. Intérêt médical.....	21
3.1. Matériel.....	23
Le travail a été effectué au laboratoire pédagogique de l'université SNV STU. L'échantillon a été prélevé de la ferme de champignonnière de Sidi Bel Abbès (Petit Paris).	
a. Matériel de laboratoire	23
b. Matériel mycologique	23
c. Résidus agricoles utilisés	23
3.2. Méthode	23
a. La détermination du pH.....	23
b. Les dilutions	24
c. Procédé	25
d. Préparation des milieux contenant le lactosérum	26
e. Culture de champignon à partir des spores.....	28
1) Inoculation du substrat stérilisé	30
3) Lecture :.....	34
4.1. Résultats :	36
a. La croissance de mycélium sur le lactosérum à différentes dilutions	36
b. La croissance de mycélium sur le Lactosérum pur	36
c. La Croissance de mycélium sur le PDA.....	36
4.2. Discussion :	44
Références bibliographiques.....	48
Résumé.....	53

Introduction générale

Le nombre de champignons présents dans le monde entier est estimé à environ 140 000, mais seulement 10%, soit environ 14 000 espèces sont connues aujourd'hui. Les champignons font partie intégrante de la plupart des écosystèmes naturels, et contribuent à la redistribution des ressources alimentaires utilisées par l'ensemble des organismes du milieu. Il existe plus de 2000 espèces comestibles dont certaines sont produites à l'échelle industrielle, comme le shiitake (*Lentinula edodes*), les pleurotes (*Pleurotus spp*) et le champignon de couche (*Agaricus bisporus*) (**Largeteau, 2007 ; Régulo, 2013**).

Ces dernières années, la multiplication ou la culture des champignons comestibles est devenue une alternative économique intéressante, principalement en raison de l'augmentation de la demande et de leur valeur sur le marché. En 2009, la production mondiale de champignons comestibles cultivés était de 24 000 milliers de tonnes et elle est en constante augmentation depuis une vingtaine d'années (**NOUAR, BECILA.2021**). La principale raison de l'augmentation de la consommation est sa valeur nutritionnelle et ses propriétés médicinales ainsi que son utilisation comme complément alimentaire. Les projets d'amélioration des champignons s'adressent d'abord aux demandes des producteurs, pour lesquels des critères comme le rendement, la conservation après récolte et la résistance aux maladies sont parmi les plus importants. Cependant, les consommateurs et l'industrie alimentaire ont des intérêts différents tels que le goût, la valeur nutritionnelle, la qualité des traitements en cours de culture et post récolte (**Régulo, 2013**).

Le Champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) est le plus connu des champignons et le plus cultivée dans le monde. Il fait partie de la division des *Basidiomycota*, un saprophyte humicole qui est peut être cultivé à l'échelle laboratoire soit sur boîte pétri contient un milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) soit sur culture de blanc fongique on utilisent plusieurs types de graines végétales comme substrat (grain de blé, grain du maïs..)pour la production du blanc (**ziad nacer ,2010**) .Aussi sur des composts formés de résidus végétaux divers et de fumiers ou fientes de volailles (**Del Pilar et Rodrigues, 2014**).

Après la Seconde Guerre mondiale quand du blanc de champignon fiable est devenu facilement disponible dans de nombreux pays. Sa culture s'est beaucoup développée (Oei, 1993).

L'objectif de notre travail est de la culture du mycélium de champignon de paris (*Agaricus bisporus*) sur le lactosérum en l'utilisant comme milieu de culture.

Le lactosérum, coproduit de l'industrie laitière, est incontestablement une matière noble et riche. En effet, il est devenu une source intéressante de composés actifs et de nutriments spécifiques, présentant des propriétés incomparables, tant sur le plan nutritionnel que sur le plan techno-fonctionnel (Benaissa, 2018).

En Algérie, l'inexistence d'une mise en valeur du lactosérum se pose avec acuité en raison de

L'absence d'une réglementation stricte, émanant des pouvoirs publics, pouvant interdire le rejet de ce produit dans la nature. Le rejet de lactosérum dans les égouts représentant une perte sèche de l'élément nutritif. Selon des calculs effectués par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production algérienne de fromage en 2017 est de 1540 tonnes, ce qui se traduit par une production d'environ 14 million de litre de lactosérum (FAO-ONU, 2017). Ces quantités massives font de la gestion du lactosérum un enjeu à la fois économique et écologique. Économique grâce à la richesse de ces composants (Lactose, protéines, oligoéléments et vitamines.....etc.). Ecologique puisque le lactosérum, s'il n'est pas géré correctement, représente un polluant majeur il serait à l'origine de pollution grave due à la fermentation de ses matières organiques (lactose et matières azotées) et à la diminution de la teneur en oxygène dissous de l'eau au-dessus d'un seuil acceptable (Smithers, 2008) .

Ce travail a pour objectif principal de valoriser le lactosérum en l'utilisant en tant que milieu de culture de l'*Agaricus bisporus*. Le but recherché étant de remplacer le milieu conventionnel utilisé pour la croissance du mycélium de l'*Agaricus bisporus* par un milieu optimal à base de le lactosérum.

Les travaux réalisés de ce mémoire sont décrits en deux parties :

✓ Le premier chapitre est consacré aux rappels théoriques sur le champignon de Paris *Agaricus bisporus*.

✓ Le deuxième chapitre est une synthèse bibliographique qui traite des généralités sur le lactosérum.

✓ Le troisième chapitre traite les différents matériels et méthodes qui ont permis à la Réalisation de ce travail.

✓ Le quatrième chapitre e consacré à la présentation des résultats obtenues et les discussions liées à ces derniers.

✓ Le mémoire s'achève par une conclusion générale et quelques perspectives

Chapitre 1 : Le champignon de paris
« *Agaricus bisporus* »

1.1 Généralités :

Les **Agarics**, aussi appelés **Psalliotes**, sont des champignons à lames basidiomycètes du genre ***Agaricus***, appartenant à la famille des agaricacées. Il en existe de très nombreuses espèces, qui, pour la plupart, se ressemblent fortement. Certaines espèces sont comestibles, mais d'autres sont toxiques, comme l'agaric jaunissant (*Agaricus xanthodermus*). L'espèce la plus consommée est *Agaricus bisporus*, cultivé de façon industrielle en champignonnière sous le nom de champignon de Paris (**Malloch et al., 1987**).

L'*Agaricus bisporus* (champignon avec deux spore), mieux connu sous le nom français de champignon de paris. Il est un champignon basidiomycète de la famille agaricaceae, rare à l'état sauvage, ce champignon est cultivé sous le nom de champignon de paris ou champignon de couche très apprécié et largement commercialisé dans le monde entier (**Callac, P. 1995**).

1.2 Historique :

Ce champignon serait originaire d'Égypte ou de Chine. Vers 1670, La Quintinie, jardinier du roi Louis XIV en débute la culture sur couches en plein air à Versailles. La technique de culture en plein air du champignon de Paris est mentionnée pour la première fois en 1707 dans un traité de Joseph Pitton de Tournefort, celle-ci n'étant cependant pas encore au point (**Francis, 2014**).

En 1810, le maraîcher Chambry fait pousser des champignons de Paris dans des carrières du sud de la capitale. Pour le protéger des aléas climatiques. Il a l'idée d'humidifier et d'aérer les couches en ventilant les sites de culture. En 1893, l'Institut Pasteur donne son essor à cette production en recommandant la stérilisation du milieu de production. Sa culture est introduite dans le Val de Loire en 1895. La Touraine et le Saumurois représentent les trois quarts de la production française. La culture souterraine s'est d'abord pratiquée sur couches, puis en sac ou en caisses. Le champignon de Paris est ainsi cultivé en France, à grande échelle depuis deux siècles (**Philippe et Fabienne, 2013**).

À la fin du XIX^e siècle plus de 300 producteurs cultivaient le champignon de Paris pour un total de mille tonnes annuelles en 1875. Trois millions de paniers sont livrés aux Halles de Paris. Il est produit en banlieue, mais aussi à Paris jusqu'en 1895 où les travaux du métro mettent un terme à sa culture dans les carrières abandonnées du sud de Paris (**Cécile, 2016**).

Agaricus bisporus est le plus cultivé dans le monde, Il représente plus du tiers des 3,2 millions de tonnes produites annuellement. En 2004, la production française se place en troisième position dans l'union européenne (UE) et au cinquième rang mondial après celle de la Chine et des Etats-Unis. La Pologne est le principal producteur parmi les nouveaux membres de l'UE, et se place en deuxième position pour la production européenne en 2004 et 2005 (**Largeteau, 2007**).

1.3. Morphologie du champignon de paris :

La morphologie du champignon de couche se décompose :

❖ En une partie pratiquement invisible "le mycélium" qui est l'appareil végétatif des champignons. Il est formé par un amalgame de filaments ramifiés.

a. **Spore** : Cacao coloré dans la masse, ovoïde, lisse, 4-6,5 x 6-9 microns.

b. **Basides** : Seulement deux spores au lieu de quatre.

❖ En une partie visible "le carpophore" qui est en fait la fructification du mycélium.

a. **Chapeau** : Long jusqu'à 12 cm, parfois même plus qu'avant ovoïde, puis hémisphérique, enfin convexe ; très charnue et blanc (brun dans certaines variétés, connues dans les pays anglophones tels que champignons marronniers), Il présente souvent des échelles brunâtres.

b. **Lamelle** : Couleur rose candide, ils deviennent de couleur chocolat dans un court laps de temps et enfin brun foncé.

c. **Pied** : 1,5-2 x 3-5 cm, ferme, plein, court, cylindrique trapue, à plus grande échelle à la base ; blanc.

d. **Anneau** : Blanc, parchemin, facilement démontable (**Figure1**).

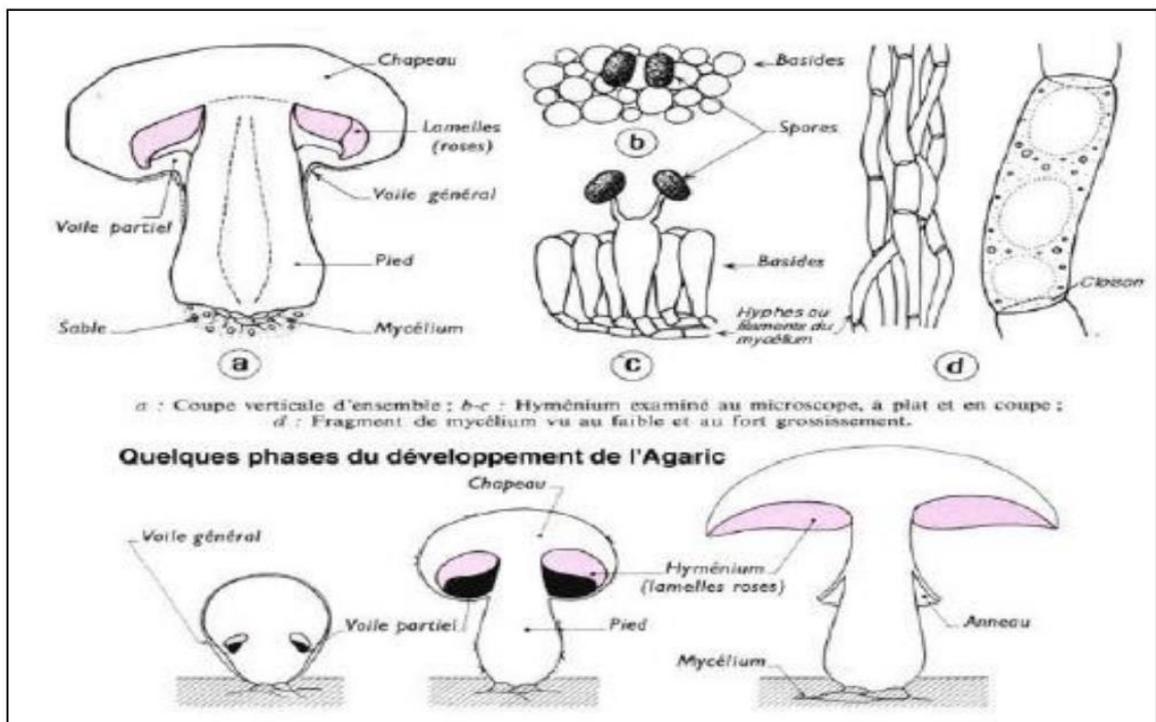


Figure 1: Morphologie de l'Agaricus bisporus (Feedrochinko, 2004)

1.4. Classification et systématique du champignon de Paris

Le champignon de couche (*A. bisporus*) fait partie de la famille des *Agaricaceae* du groupe basidiomycète que l'on reconnaît par des lamelles sous un chapeau rond. Trois variétés existent chez l'espèce *A. bisporus* qui regroupe ainsi les trois principaux types de reproduction sexuée connus chez les basidiomycètes (pseudothallisme, hétérothallisme et homothallisme).

Tableau 1: Position taxonomique de champignon de Paris (Islam, 2013).

Régne	Fungi
Division :	<i>Basidiomycota</i>
Classe :	<i>Agaricomycetes</i>
Sous-classe :	<i>Agaricomycetidae</i>
Ordre :	<i>Agaricales</i>
Famille :	<i>Agaricaceae</i>
Genre :	<i>Agaricus</i>
Espèce :	<i>Agaricusbisporus</i>

1.5. Culture de champignon de Paris :

L'aspect le plus important de la culture des champignons est le choix d'un milieu de culture qui assure le bon développement de mycélium.

La plupart des espèces comme : *Agaricus bisporus* poussent sur le milieu PDA (Milieu gélosé de dextrose et d'extrait de pomme de terre) pour le clonage des champignons à partir de tissu mère et par l'ensemencement à partir de spore. L'isolement de mycélium est réalisé sur le milieu (PDA). Le mycélium est ensuite transféré sur un substrat adéquat et stérile à base des grains comme le blé. Le produit obtenu à l'issue de cette opération est appelé « blanc-mère » qui sera utilisé ultérieurement pour ensemer différents substrats de fructification qui nécessitent un traitement thermique (Kerfez et Brik, 2015).

Aussi la culture des champignons de Paris se fait en champignonnière (anciennes carrières ou caves) bien aérée, où la température et l'humidité restent constante et plus récemment dans des champignonnières construites et modernisées. L'*Agaricus bisporus* a été cultivé depuis plusieurs siècles sur du fumier de cheval recouvert d'une couche de Terre. Actuellement, les champignons de Paris poussent sur du compost obtenu à partir de fumier de cheval ou la fiente de poulet et de paille qui vont fermenter et se décomposer jusqu'à correspondre au substrat nécessaire. Il est

Chapitre 1 : le champignon de paris « *Agaricus bisporus* »

ensuite pasteurisé, lorsque le compost descend en température sous les 25°C, il est mis en sac, caisse ou bac, et peut alors êtreensemencé avec le blanc de champignons appelé aussi mycélium, qui va envahir tout le compost en créant des filaments blancs. Après une incubation entre 22 et 25 °C et une hygrométrie très précise, une terre de « gobetage" (pierre calcaire de tuffeau broyé et tourbe) va venir recouvrir le compostensemencé sur 2 à 3 cm d'épaisseur et servir de réserve d'eau au compost afin qu'il reste bien humide. La récolte des jeunes sporophores commence 3 à 6 semaines après le gobetage et peut se poursuivre ensuite pendant 2 à 6 mois (**Bouchet et al., 2005**) (**Figure 2 et 3**).



Figure 2: Production d'*Agaricus bisporus*. (DEL PILAR, A. M., & RODRIGUEZ, N)

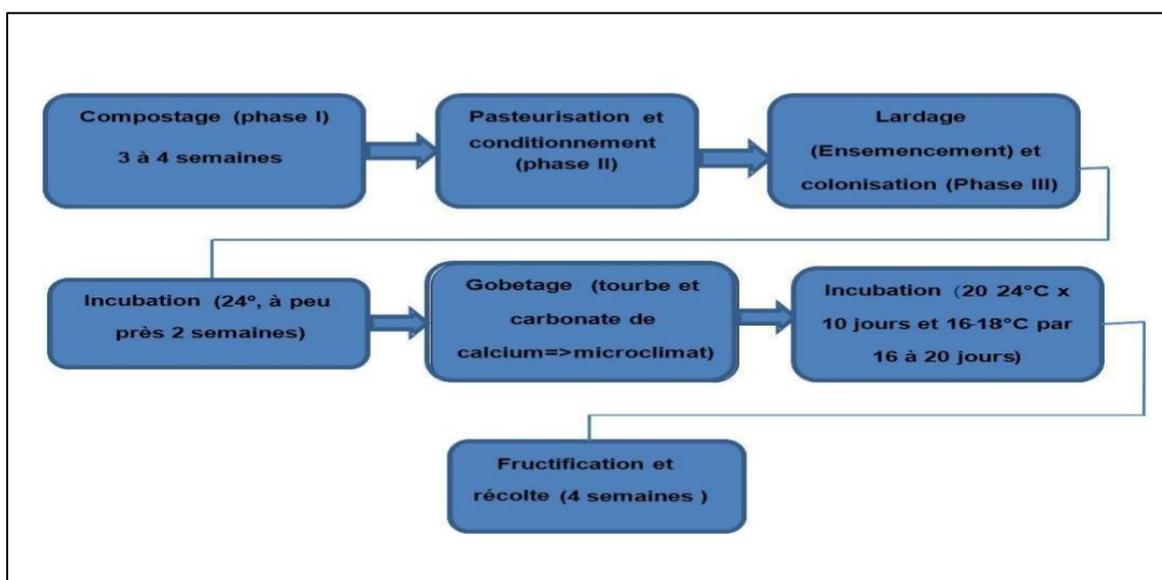


Figure 3: Processus de culture de champignon de Paris
(<https://lh3.googleusercontent.com/0FI7gWFMnLDzFQ-cknpNPc5RfqRTdiEI5rL9WEm14rHsVtv4IXE5OszE3KzZGHkm07sG0IY=s140>)

1.6. Écologie du champignon de Paris

L'*Agaricus bisporus* est un champignon Saprophytique humicole, C'est-à-dire qu'il se nourrit de végétaux en décomposition grâce à la richesse de son équipement enzymatique. La croissance de mycélium optimale à 22-25°C (San, 2002). Ainsi, dans la nature, *A.bisporus* est généralement trouvé associé avec les fumiers de cheval, les déchets agricoles, sur des pelouses, dans les litières forestières d'arbres des genres cupressus, picea et prosopis (Callac, 1994 ; kerrigan, 1995). Ce champignon pousse naturellement au début de l'été , ou En automne sous les climats tempérés comme en France. L'aire de répartition géographique connue d'*A. bisporus* s'étend de la région boréale de l'Alaska (Geml et al. 2008) au climat équatorial du Congo et de dunes côtières à des montagnes culminant à plus de 3000 m d'altitude (Callac, 1994).

1.7. Valeur nutritionnelle :

L'*Agaricus bisporus* blanc est l'espèce de champignon comestible la plus populaire et la plus consommée au monde. Riche en nutriments ainsi qu'en goût : fibres alimentaires (chitine), acides aminés essentiels et semi-essentiels, acides gras insaturés dont les acides linoléique et linolénique, protéines faciles à digérer, stérols, composés et composés phénoliques. Les indoles et les vitamines, en particulier les provitamines D2 et B1, B2, B6, B7(Koyyalamudi et al., 2009). L'*Agaricus bisporus*, possède des activités antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires, anti tumorales et immunomodulatrices. Il faut également noter la présence de l'antioxydant ergothionéine (qui présente également une activité antimutagène, chimio et radioprotectrice). L'*Agaricus bisporus* contient également des dérivés de la benzoquinone, une substance appartenant au groupe des antibiotiques. Des études

Chapitre 1 : le champignon de paris « *Agaricus bisporus* »

sur la tyrosinase isolée de cette espèce montrent des similitudes très similaires avec la tyrosinase humaine. Cela indique directement que cette espèce peut être une riche source de tyrosinase utilisée à des fins médicales et cosmétiques. Ce champignon est également une riche source en oligoéléments : sélénium, zinc et d'autres éléments tels que le magnésium, le cuivre, le fer, le potassium, le sodium, le calcium, le phosphore, le soufre ou le manganèse (Gbolagade et al. 2006)

Tableau 2: Apport nutritionnel du champignon de paris(Koyyalamudi et al., 2009)

Valeur nutritionnel/100g	
Énergie	94KJ (22Kcal)
L'eau	92.43 g
Graisses	0.34 g
Protéine	3.09 g
Glucides	3.26 g
Fibre alimentaire	1 g
Sucre	1.65 g
Le fer	0.50 mg
Vitamine C	2.1 mg
Vitamin B3	3.607 mg
Vitamin B2	0.402 mg
Vitamin B5	1.497 mg

1.8. Cycle de vie et génétique du champignon de paris

Le champignon de Paris présente un cycle de reproduction différent des autres basidiomycètes. Il représente un système d'incompatibilité sexuelle unifactoriel multi-

allélique (Miller et Kananen, 1972). L'espèce *Agaricus bisporus* a trois variétés distinguées par le mode de reproduction : *A. bisporus* var. *bisporus*, *A. bisporus* var. *brunatii* et *A. bisporus* var. *eurotetrasporus*. Ces modes de reproduction ont une influence majeure sur la structure génétique des populations (Banafshch, 2014).

Ces variétés diffèrent par leur cycle de vie, la taille des spores et le nombre moyen de spores par baside (Callac et al., 2003). En fait, tous les trois processus de reproduction sexuée des basidiomycètes (hétéromixis, intramixis et homomixis) existent chez *A. bisporus*.

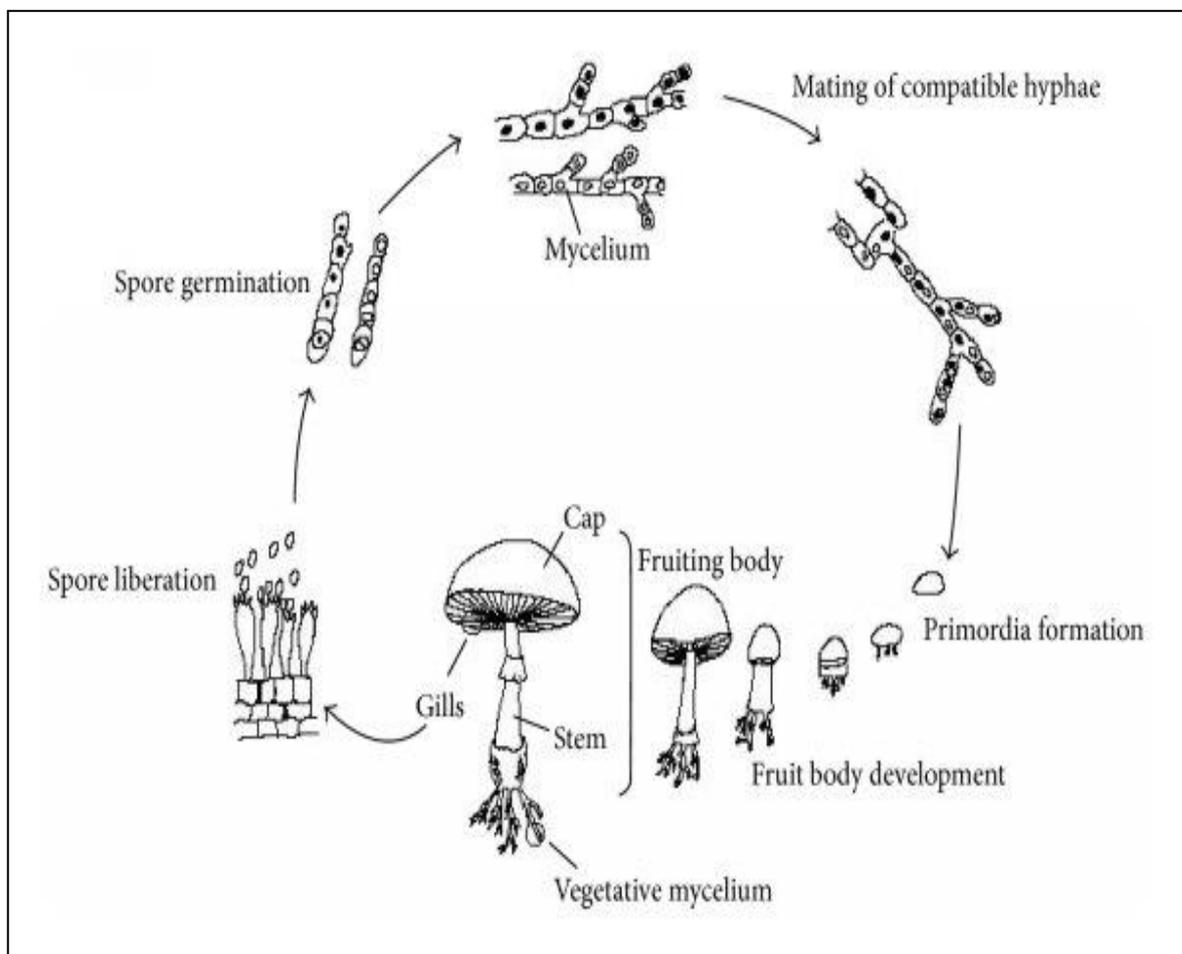


Figure 4: Cycle de vie de l'*Agaricus bisporus* (Cristina Lull et al 2005)

Les espèces d'*Agaricus* ont un système de reproduction bipolaire (unifactoriel) (Miller et Kananen, 1972) et au sein du genre, différentes espèces présentent divers modes de vie (Xuet al., 1993), l'homothallisme (par exemple *Agaricus subfloccosus*), le pseudohomothallisme/homothallisme secondaire (par exemple *A. bisporus*) et hétérothallisme (par exemple *Agaricus bitorquis*). Bien que la majorité des basides d'*A. bisporus* soient bisporiques (81 %) certains peuvent être trisporiques (18 %) et tétrasporiques (1 %). Les basides sont également présentes dans des proportions

Chapitre 1 : le champignon de paris « *Agaricus bisporus* »

variables (Elliott, 1972 ; Raper et al., 1972). Parmi les basides bisporées, toutes les spores ne donnent pas de mycélium fertile et de fructifications. Les spores peuvent contenir le même allèle de type d'accouplement en raison de la migration aléatoire des noyaux post-méiotiques. La séquence génomique d'*A. bisporus* a permis une cartographie complète des gènes codant pour les facteurs de transcription de l'homéodomaine de cette espèce pseudohomothallique et a révélé des gènes codant pour des phéromones et des récepteurs de phéromones conservés (Morin et al., 2012).

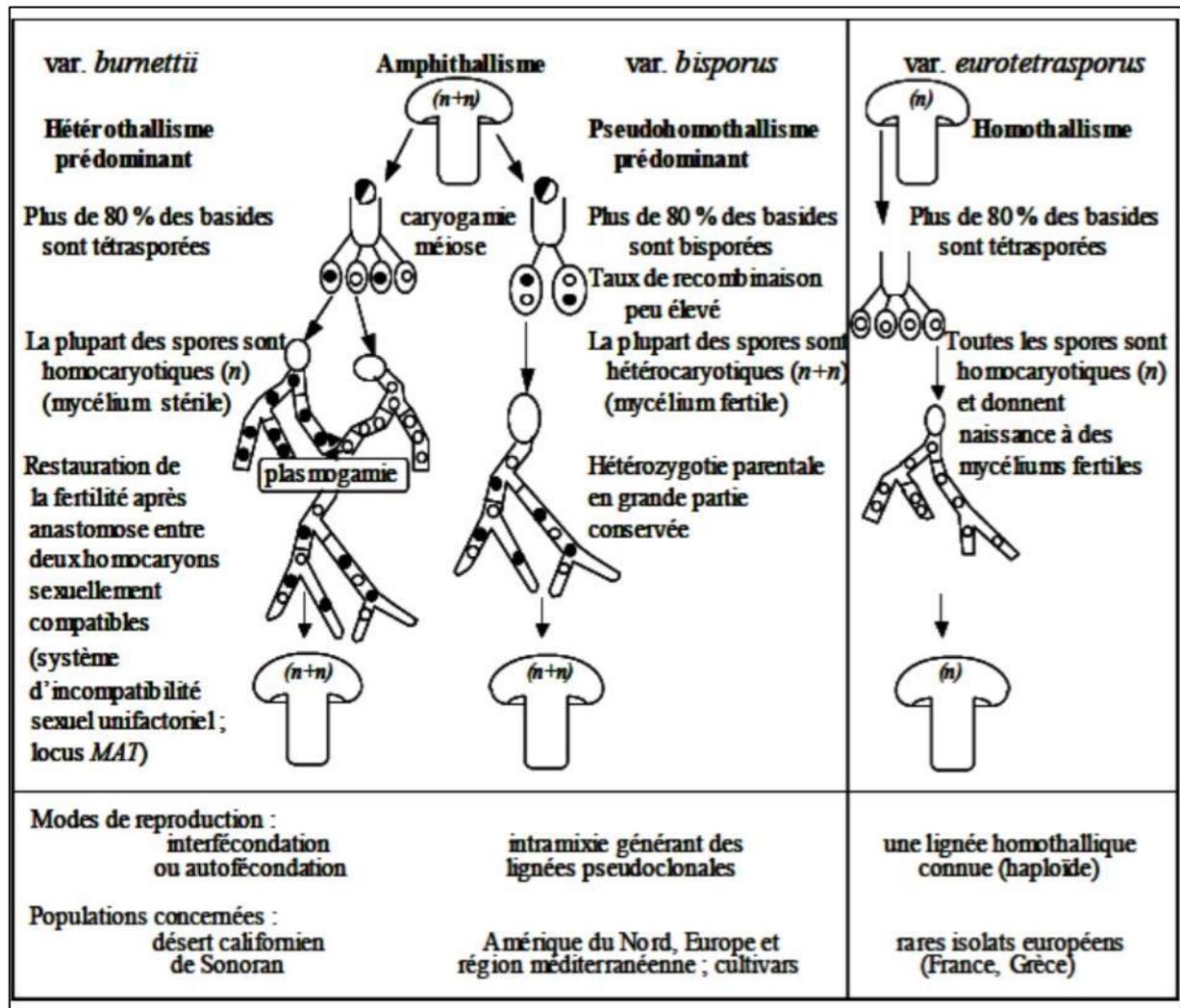


Figure 5: Les cycles génétiques d'*Agaricus bisporus* (Legendre, 1998)

Chapitre 2 : Le lactosérum

2.1. Définition du lactosérum :

Le lactosérum, également est un sous-produit liquide de couleurs jaune verdâtre, composé d'environ 90 % d'eau et contenant une quantité importante de protéine de lait environ 20% et riche en éléments nutritif (**Muller et al., 2003**), de sucre (le lactose), de matières grasses, de vitamines et de sels minéraux. La production de 10 L de lait permet d'obtenir 1 kg de fromage et 9 L de lactosérum soit 600 g de poudre de lactosérum (**Boudry et al., 2012**). Il contient environ 50 % des nutriments du lait de départ : protéines solubles, Lactose, vitamines et minéraux (**Tetra Pack et Processingsystem, 1995**).

Il a longtemps été considéré comme un déchet encombrant car à la fois très polluant et produit en grandes quantités par l'industrie Fromagère. De nouvelles techniques permettent de séparer les principaux constituants afin d'en tirer des ingrédients très élaborés, comme les concentrés de protéines de lactosérum. Ceux-ci sont incorporés dans des transformations agroalimentaires. (**Pierre et Fauquant, 1986**).



Figure 6:Photos de lactosérum.

(https://lh3.googleusercontent.com/vzwwLEhuNVfLdAboJMcEbQfhx6l6AJktUlb6laSs50ldzYPAEsISXMK_g0FOWNvgHWC4Mw=s11)

2.2. Les différentes sources du lactosérum :

a) La fromagerie

C'est l'ensemble des procédés qui conduisent à la fabrication des fromages à partir du lait, ce dernier subit les processus de coagulation et de synérèse, aboutissant d'une part à une phase solide le « fromage », et d'autre part à une phase liquide « le lactosérum » (**Laplanche, 2004**). La coagulation des caséines du lait sous l'action de

la présure produit le lactosérum doux. L'acidification du lait produit le lactosérum acide (Morr, 1989).

b) La beurrerie

C'est l'ensemble des procédés qui conduisent à la fabrication du beurre à partir du lait. Après écrémage total de ce dernier suivi d'une extraction de la caséine par précipitation on obtient du « lactosérum écrémé » (Laplanche, 2004).

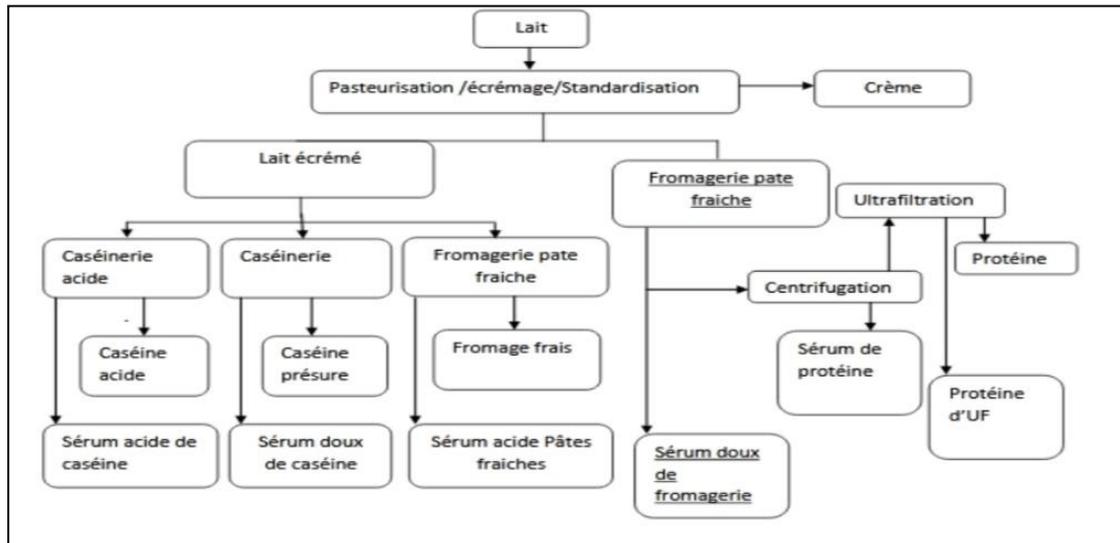


Figure 7 : Schéma technologique d'obtention des principaux types de lactosérums issus de la transformation du lait (Luquet et François, 1990).

2.3 Type de lactosérum :

On peut distinguer deux types de lactosérum selon leur acidité

a. Le Lactosérum doux :

Obtenu par coagulation du lait par la présure qui permet de donner un caillé mou, gélatineux et très imperméable. Le pH du L lactosérum doux est an alentour de 6,5 dont l'acidité varie entre 15 et 22 ° Dornic. Les fromages issus de ce type de coagulation sont des fromages à pâtes pressées et/ou cuites (emmental, saint-paulin, edam...etc.) (Schuck et al., 2004)

b. Le Lactosérum acide :

Le lactosérum acide, obtenu par coagulation du lait par acidification provoquée par le métabolisme des bactéries lactiques. Elle donne un caillé cassant, ferme et perméable. Les lactosérums acides atteignent une acidité de 120 ° Dornic et un pH ≈ 4,5 issus de la production des fromages à pâtes fraîches et molles ou lors de la production de caséines (Violleau, 1999).

2.4 Composition du lactosérum :

a. Le Lactose :

Il est le principal constituant du lactosérum de fromagerie. Il présente environ 70 % de la matière sèche de sérum (Saulnier et al., 1996).

b. Les Protéines :

Deux grandes familles de protéines entrent dans la composition du lactosérum à savoir, la première famille est constituée de caséines qui représentent environ 80% des protéines totales du lait et la seconde est composée des protéines solubles constituées essentiellement de β lactoglobuline (β - LG), α lactalbumine (α -LA), l'albumine sérique bovine (BSA), les immunoglobulines (Ig) et les protéases peptones (Cheftel et Lorient 1982).

Tableau 3: Principales protéines du lactosérum (Cheftel et Lorient 1982).

Protéines du lactosérum	Concentration (g/L)
β -lactoglobuline	2,5-3
α -lactalbumine	1,2
Immunoglobulines	0,5-0,7
Sérum albumine	0,3-0,4
Lactoferrine	0,1

c. Les Vitamines :

Le lactosérum représente une excellente source de vitamines hydrosolubles puisque la matière grasse a été presque totalement éliminée. Il renferme la majorité des vitamines du groupe B qui peuvent être utilisées dans l'industrie pharmaceutique ou alimentaire (**FICK, 2016**).

Tableau 4: Teneur en vitamines du lactosérum (**Linden et Lorient, 1994**)

Vitamines	Concentration (mg/ml)	Besoins quotidien (mg)
Thiamine (vit.B1)	0.38	1.5
Riboflavine (vi.B2)	1.2	1.5
Acide nicotique (vit.B3)	0.85	10-20
Acide panthothénique (vit.B5)	3.4	10
Pyridoxine (vit.B6)	0.42	1.5
Cobalamine (vit.B12)	0.3	2

d. Matières Minérales :

Toutes les matières minérales en solution dans le lait se retrouvent dans le lactosérum. Il s'agit d'une série d'éléments dont les besoins sont moindres, mais l'importance biologique est cependant fondamentale. La teneur varie de 5 à 10 g /L ; pour plus de 50 % de chlorure de sodium et de potassium et pour le reste, de différents sels de calcium principalement sous forme de phosphate (**Fevrier et Collet, 1975**)

e. Matières Grasse :

La matière grasse représente que 0,7 % de la matière sèche du lactosérum, la quasi-totalité de la matière grasse du lait étant retenue dans le caillé (**Leghlimi, 2004**).

Tableau 5: Les principaux composants du lactosérum doux et acide (**Tanguy-Sai, G. mars.2018**)

Composition g/L	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Matière sèche (MS)	55 à 75	55 à 65
Lactose	40 à 57	38 à 55
Lipide (MG)	0 à 5	0 à 2
Matière azotées totales	9 à 11	7 à 10
Cendres (MM)	4 à 6	6 à 8
Calcium	0.4 à 0.6	1.2 à 2.1
Phosphore	0.4 à 0.7	0.5 à 1.0
Potassium	1.4 à 1.6	1.4 à 1.6
Chlorure	2.0 à 2.2	2.0 à 2.2
Acide lactique	0 à 0.3	7 à 8

2.5. Pouvoir polluant du lactosérum :

Le lactosérum a longtemps été drainé de l'industrie fromagère. En raison de sa riche composition en matière organique, son émission dans l'environnement est une source de pollution. Cela est dû à la demande biologique en oxygène très élevée de 32 000 à 60 000 mg O₂ / L (**Cheryan, 1998**). C'est-à-dire qu'un litre de sérum nécessite 40 g d'oxygène pour que ses matières organiques soient détruites par oxydation microbienne. Le lactosérum engendre une pollution organique importante soit : 1 L correspond à environ 85 % de la pollution journalière générée par un habitant (**Laplanche et al. 2006**).



Figure 8: Pollution de l'environnement avec lactosérum
(https://lh3.googleusercontent.com/YWaLBGiHfj_cRWIwUomwGDoG2E7VpBD5BxnJb8qAc_o_MMGoY_wR3NEIs6XH4Zb1GetAfxY=s85)

2.6. Intérêt de la valorisation de lactosérum :

Les eaux usées produites par l'industrie fromagère se caractérisent par leur volume et leur charge polluante élevée. Bien qu'il existe des possibilités d'évaluation concernant le lactosérum, environ la moitié de la production mondiale est inexploitée mais il est rejeté sous forme d'eaux usées, entraînant une perte importante de matières premières alimentation (**Marwaha et Kennedy, 1988**).

Dans ces conditions, le lactosérum représente un problème environnemental très important en raison du volume considérable généré et du contenu élevé en matière organique. A cet effet, une série d'extractions doit être effectuée :

- 1) Elimination de l'eau, composant principal du lactosérum : par évaporation et séchage sur cylindres ou par pulvérisation (**Thomas et al. 2008**).
- 2) Enrichissement et extraction des protéines sériques et matière grasses : par ultrafiltration
- 3) Eliminer certains minéraux : par échange d'ion et électrodialyse (**Gaucheron, 2004**)
- 4) et enfin l'extrait de lactose.

a. Intérêt alimentaire

La poudre de lactosérum (en particulier le lactose) est principalement utilisée dans les aliments : Les produits d'origine animale, dans le lait infantile, pour les fromages

fondus, sont également ajoutés comme additif dans la préparation du bœuf, de la volaille, des saucisses, des ragoûts et des soupes.

Le lactosérum est aussi utilisé comme substitut partiel du lait dans les chocolateries et les biscuiteries. Les graisses du lactosérum « crèmes sérum » peuvent être utilisées pour :

-produire du fromage fondu ou du beurre de seconde qualité, (**Luquet 1990 ; Boudier, 1990**) et utilisé dans de nombreux aliments et boissons ; (**Lowisfert, 1994 ; Dryer et al. 2001**).

b. Intérêts biotechnologiques

En raison de sa composition biochimique, le lactosérum est principalement composé de lactose. Principalement utilisé comme source de carbone et d'énergie pour les milieux de fermentation par certains micro-organismes qui assimilent le lactose Comme *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida Kefyr*, *Kluyveromyces fragilis* qui sont cultivés dans du lactosérum doux riche en protéines et riche en facteurs de croissance dont le but de produire de la biomasse (**Gana et Touzi, 2001**). Le lactosérum est utilisé comme milieu de croissance pour les moisissures *Penicillium camemberti* permettant ainsi la production de protéases acides, neutres et alcalines. Ce sous-produit a également été utilisé comme milieu de culture pour le champignon de Paris.

Les recherches menées au fil des années nous ont permis de comprendre les préoccupations nutritionnelles du lactosérum, ainsi que son utilisation potentielle dans l'alimentation des animaux (vaches), comme milieu de fermentation pour les micro-organismes producteurs d'acide lactique, acide citrique, vitamines (B2. Et B12), enzymes protéases, amylases, galactosidases et biomasse, cellulose... (**Benaouida, 2008**).

c. Intérêt médical

Les différents types de protéines ou de peptides présents dans le lactosérum peuvent être utilisés dans l'alimentation humaine. Ils ont un effet bénéfique sur la santé (**Berry, 2000**).

Chapitre 3:Matériel et Méthodes

3.1. Matériel

Le travail a été effectué au laboratoire pédagogique de l'université SNV STU. L'échantillon a été précurer de la ferme de champignonnière de Sidi Bel Abbes (Petit Paris).

a. Matériel de laboratoire

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé le matériel habituel et indispensable d'un laboratoire de microbiologie : à savoir une étuve, des boites de pétri, bec bunsen, une balance, un réfrigérateur, une étuve, un autoclave, des erlenmeyers, des béchers, des flacons en verre, un agitateur magnétique, pH mètre, une hotte à flux laminaire, Scalpel.

b. Matériel mycologique

Au cours de cette étude, nous avons utilisé une souche locale de champignon de paris « *Agaricus bisporus* ».



Figure 9: Photo de champignon de paris (**originale**)

c. Résidus agricoles utilisés

Le lactosérum est obtenu à partir de lait acheté dans le commerce. Le lait est laissé pendant trois jours à température ambiante. Après cela le lactosérum est obtenu par filtration.

3.2. Méthode

• Échantillonnage

Les essais ont été réalisés au sein du laboratoire pédagogique de l'université Abou Bakr Belkaid.

a. La détermination du pH

La détermination du pH est effectuée directement sur des échantillons prélevés à partir de lactosérum liquides à l'aide d'un pH-mètre digital.



Figure 10: Mesure de pH de lactosérum avec le pH mètre (originale)

Le pH du substrat est important pour le bon développement du mycélium c'est pour cette raison que des corrections de pH sont apportées au lactosérum par une solution de NaOH afin de ramener le pH à 5.6 et 7. Un échantillon de lactosérum acide est laissé sans modification de pH.

b. Les dilutions

Après stabilisation du pH, une gamme de 4 dilutions allant de 25% ,50%, 75% 'à 100% a pour chaque pH ont été réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 6: Préparation des dilutions de lactosérum

Ph Les dilutions	PH= 7 500ml	Ph=5.6 500ml
25%	125ml de lactosérum est dilués dans 375 ml d'eau distillée.	
50%	250ml de lactosérum est dilués dans 250ml d'eau distillée	
75%	375ml de lactosérum est dilués dans 125ml d'eau distillée	

100%	500ml de lactosérum
------	---------------------

c. Procédé

Le mélange a été agité sur un vortex, en ajoutant de l'agar agar selon les quantités recommandées pour éviter que la préparation soit trop ramolli ou trop dure (10 g dans 500 ml dans chaque dilution), puis chauffé pendant 30 mn à une température de 100°C avec une agitation pour faire fondre l'agar agar.

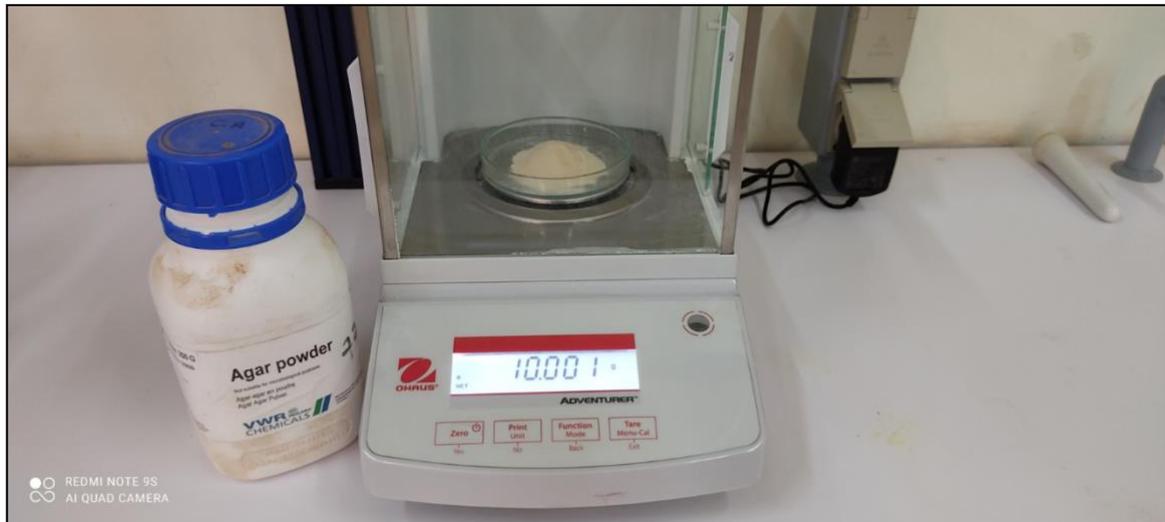


Figure 11: Mesure d'agar agar avec la balance (originale).

Dans la culture de champignon, l'agar-agar est utilisé pour préparer les milieux gélosés contenant les nutriments nécessaires au développement du mycélium.



Figure 12: Agitateur de laboratoire (originale)

Le mélange lactosérum et agar est mis sous agitation et chauffage dans un agitateur magnétique

d. Préparation des milieux contenant le lactosérum

La technique comprend le remplissage des flacons en verre, comme le montre la figure ci-après :



Figure 13: Remplissage des flacons avec du lactosérum à différentes dilutions et à différents pH (originale)

Figure 13 Préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Pour la préparation, les formules suivantes ont été considérées. 21 g de poudre de PDA, pour 500ml litre d'eau distillée sont chauffés sur une plaque pour liquéfier la poudre jusqu'à ébullition, Ensuite on laisse refroidir légèrement puis mise en bouteille.

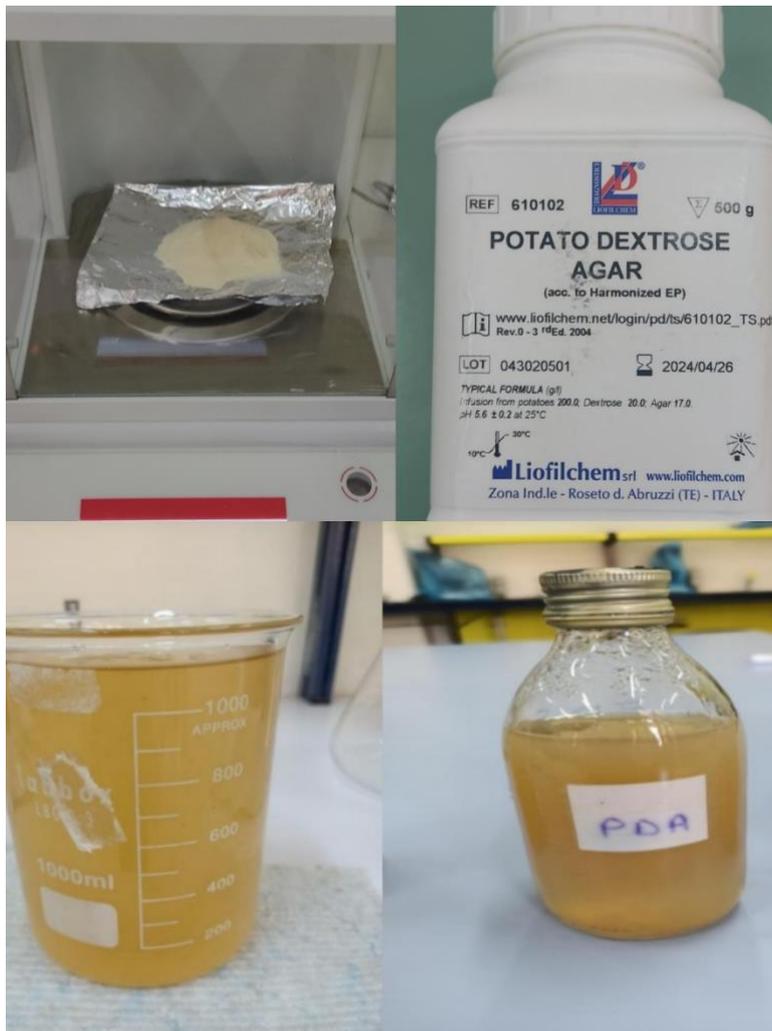


Figure 14: Différente étape de réparation du PDA (originale)

- **Stérilisation des milieux de culture**

La stérilisation des milieux est réalisée en maintenant la température de 121 C° pendant 20 minutes pour que la chaleur atteigne le cœur du substrat dans un autoclave.



Figure 15: Stérilisation des flacons dans un autoclave (originale)

e. Culture de champignon à partir des spores

Cette méthode est réalisée dans une hotte à flux laminaire par les étapes suivantes :

- Le champignon est d'abord traité par l'éthanol
- Le pied du champignon est ensuite retiré
- Le scalpel est trempé dans de l'alcool, chauffé sur la flamme puis refroidi.
- Le voile du champignon est retiré sans toucher l'intérieur des lamelles du champignon.
- Le champignon est mis sur deux supports à la surface de la boîte.

- Un courant d'air permet l'atterrissage des spores dans la boîte de pétri comme le montre les figures ci-après :

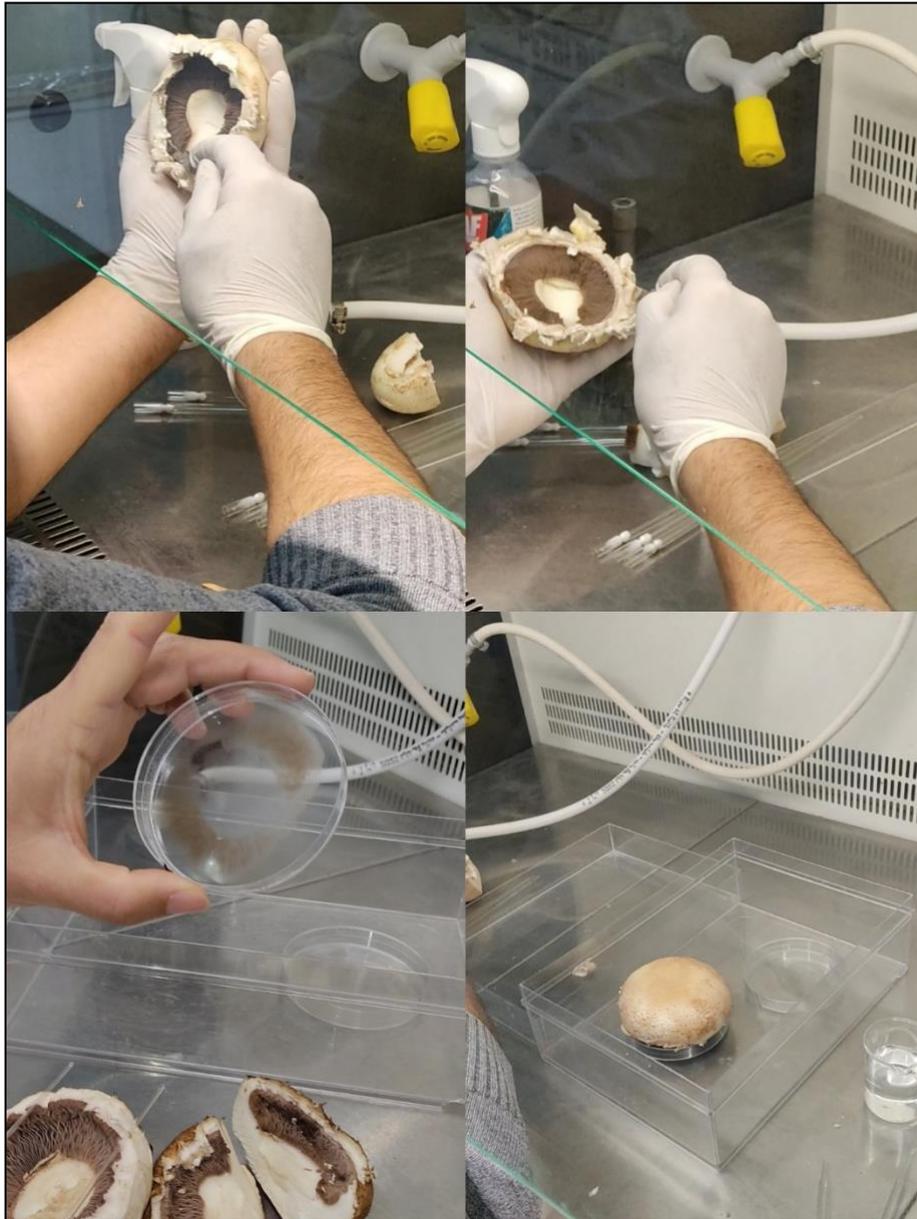


Figure 16: Les étapes permettant l'obtention des spores de champignon (**originale**)

- Un volume de 100 μl d'eau distillée permet de transporter les spores dans une micropipette qui serontensemencées dans les boîtes de pétri du PDA.
- Les boîtes ensemencées sont mises dans une étuve à 25°C pendant 14 jours.



Figure 17: Milieu PDA envahit de mycélium (**originale**).

- **Mode opératoire**

Les milieux préparés ont été coulé dans plusieurs boites de Pétri.

- 1) Inoculation du substrat stérilisé**

L'inoculation consiste à transférer dans les conditions aseptiques une petite quantité du mycélium, Cette opération s'effectue exclusivement sous une hotte à flux laminaire, Il faut au préalable stériliser ou désinfecter la surface sur laquelle se déroulent les manipulations, de même que le matériel nécessaire pour effectuer le transfert.



Figure 18: Une hotte à flux laminaire. (Originale)

2) Culture de spores sur boîtes de Pétri

A l'aide d'un scalpel, stérile, 0,5 cm du milieu PDA contenant le mycélium de *Agaricus bisporus* est découpé puis transféré dans des boîtes de pétri contenant différentes dilutions de lactosérum.

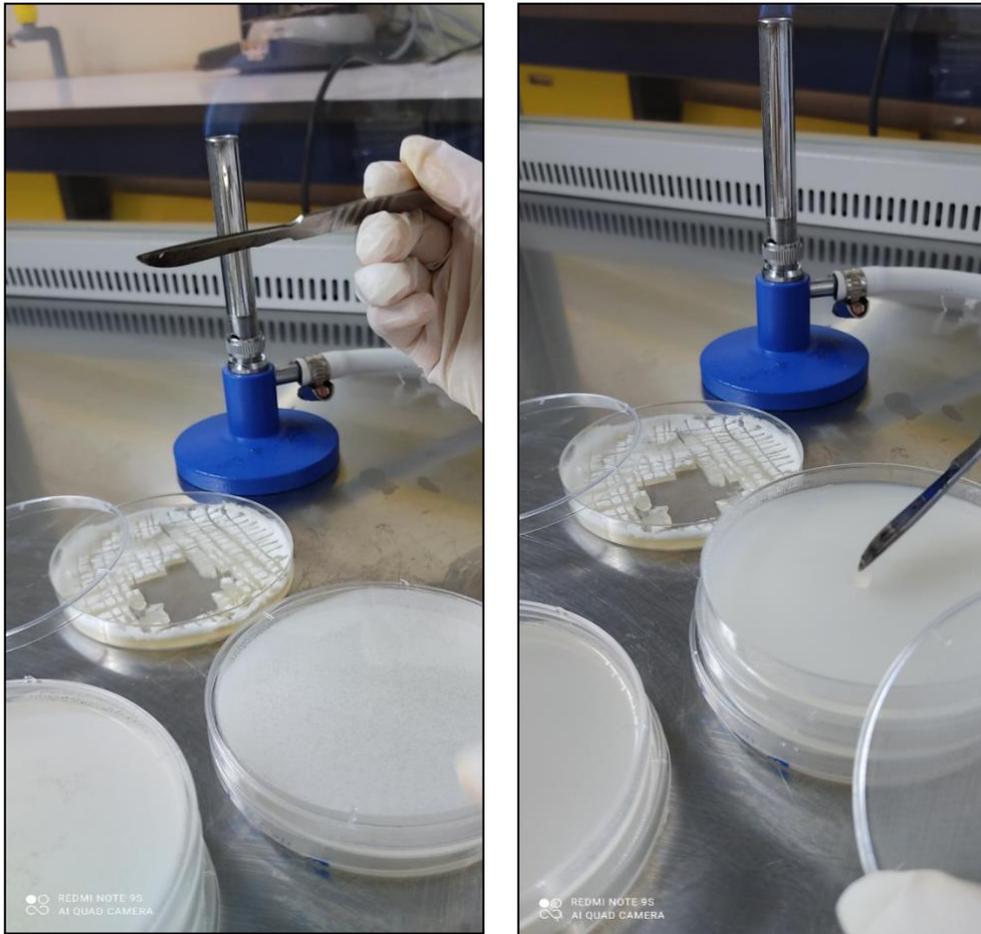


Figure 19: Inoculation de lactosérum à partir de la culture de mycélium sur PDA.

A la fin de l'inoculation, les boîtes de Pétri sont étiquetées comme indiqué dans la figure ci-après :

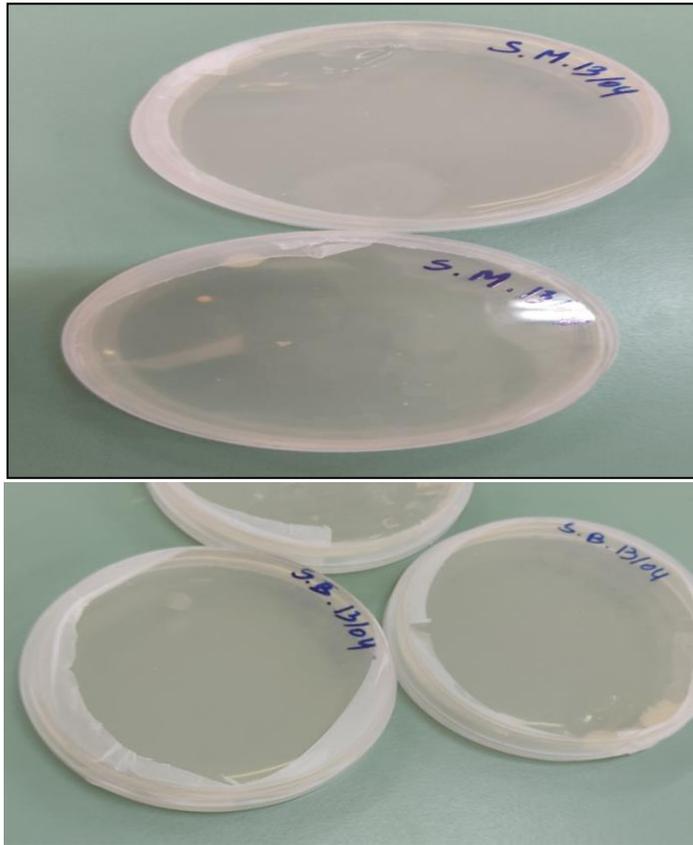


Figure 20:Etiquetage des boîtes de pétri(**originale**)

Après inoculation les boîtes de pétri sont incubées dans une étuve à une température de 25° C.

La période d'incubation, c'est le temps que met le mycélium pour coloniser tout le milieu contenu dans les boîtes).

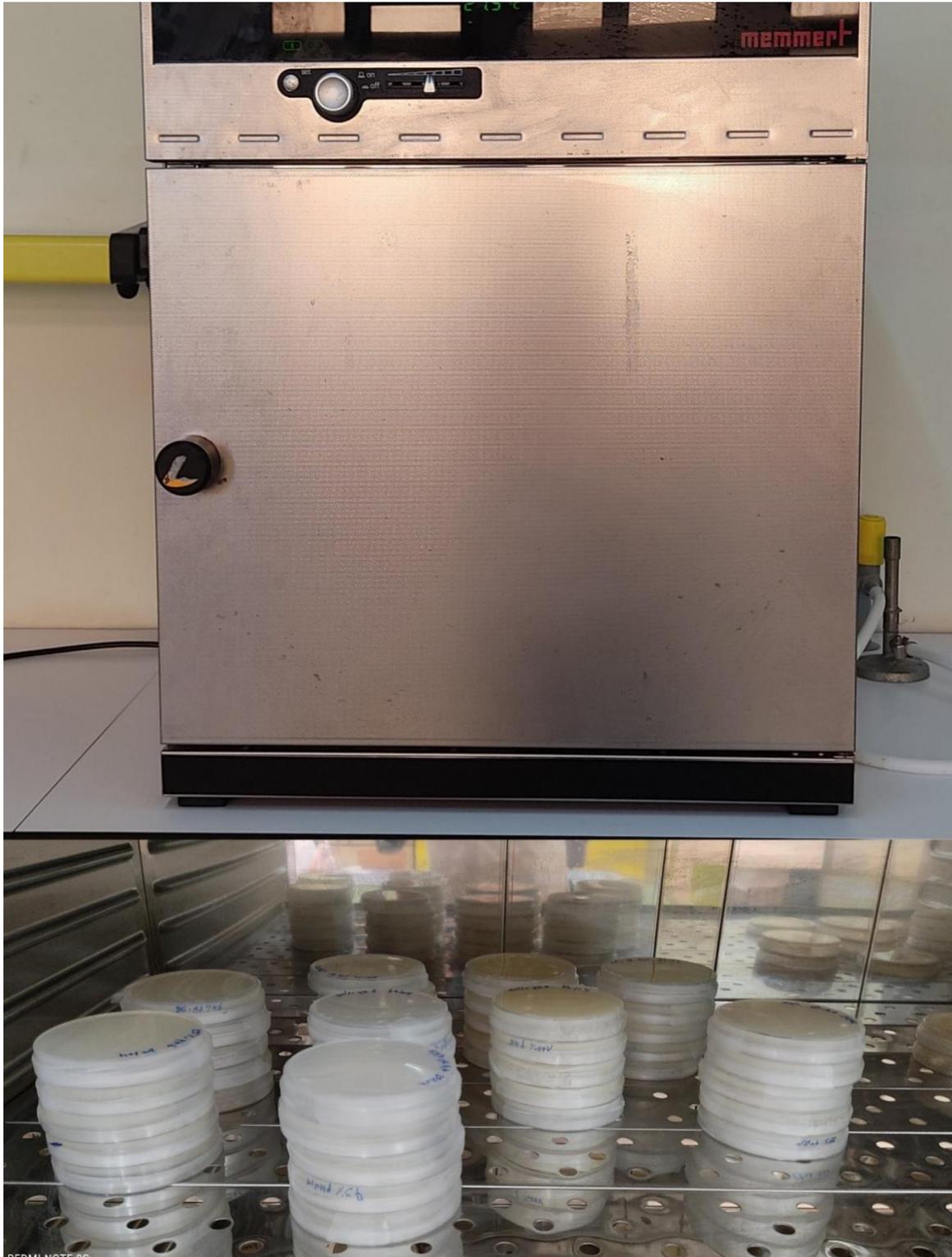


Figure 21: Etuve bactériologique à convection naturelle (originale)

3) Lecture :

Après le 7^{-ème} jour d'incubation une première lecture est réalisée par mesure du diamètre du mycélium. Une deuxième lecture est aussi réalisée le 14^{-ème} jour.

Chapitre 4 :Résultats et interprétation

4.1. Résultats :

La sélection d'un milieu optimum à base de lactosérum pour la croissance du mycélium de champignon de Paris, a été effectuée sur plusieurs milieux de culture à différent pourcentage de dilution avec ajustement de pH (5,6 et 7). En effet, après 15 jours d'incubation à une température de 25°C, la totalité des boîtes de Pétri ont été envahies par le mycélium du champignon de Paris. Ce dernier, est Caractérisé par un aspect cotonneux et une couleur blanchâtre.

a. La croissance de mycélium sur le lactosérum à différentes dilutions

L'évolution de la vitesse de croissance du mycélium au cours du temps est représentée par le tableau 6 et 7. Les résultats obtenus montrent que le lactosérum permet une croissance du mycélium sur les différentes concentrations utilisées. La meilleure croissance du mycélium est observée au pourcentage de dilution de 75 % à pH 7. En effet le diamètre maximal atteint après 15 jours à pH=7 est de 8 cm. Toujours à la dilution de 75 % à pH=5,6 le diamètre est le plus important comparé aux autres dilutions et est égal à 7.8 cm. Le lactosérum sans dilution (100%) présente aussi une bonne croissance du mycélium après la dilution de 75%. A pH=5,6 le diamètre est égal à 7,7 cm et à pH=7 le diamètre est de 7,8 cm. Viennent en dernière position de croissance du mycélium les deux pourcentages (25%) et (50%) pH=5,6 égal à 7,6 cm et pH=7 est de 7,5cm.

b. La croissance de mycélium sur le Lactosérum pur

L'évolution de la vitesse de croissance du mycélium au cours du temps est représentée par le tableau 09 les résultats obtenus, montrent la croissance du mycélium dans le lactosérum pur, a évolué au fil du temps jusqu'à l'occupation de la totalité de la boîte de Pétri au quinzième jour. Il est noté que la dilution de 75 % présente la meilleure croissance du mycélium comparé aux dilutions réalisées sur le lactosérum pur. En effet le diamètre maximal atteint après 15 jours est de 8 cm. Le lactosérum sans dilution présente aussi une bonne croissance du mycélium après la dilution de 75%. Le diamètre est égal à 7 cm. Vienne en dernière position de croissance du mycélium les deux pourcentages (25%) et (50%) égal à 6.5 cm.

c. La Croissance de mycélium sur le PDA

L'évolution de la vitesse de croissance du mycélium au cours du temps est représentée par Le tableau 08 ci-dessous les résultats obtenus, montrent que le milieu PDA favorise une bonne croissance du mycélium, débute dès le septième jour et atteint le maximum (occupe la totalité de la boîte de Pétri) au quinzième jour.

Tableau 7: Développement du mycélium de champignon de Paris sur lactosérum pendant 15 jours à pH=4,6.

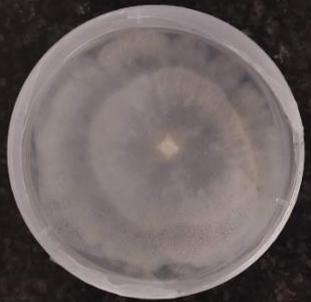
Jours Dilution Lactosérum	Development de mycelium		
	J4	J7	J15
25%			
50%			
75%			
100%			

Tableau 8: Développement du mycélium de champignon de Paris sur lactosérum pendant 15 jours à pH=5.6.

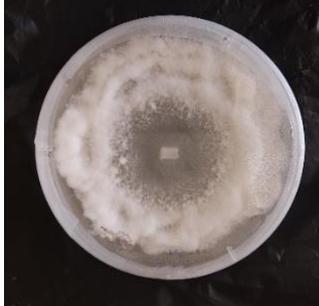
Jours Dilution Lactosérum	Development du mycelium		
	J4	J7	J15
25 %			
50 %			
75 %			
100 %			

Tableau 9: Développement du mycélium de champignon de paris sur lactosérum pendant 15 jours à ph=7.

Jours Dilution Lactosérum	Development du mycelium		
	J4	J7	J15
25%			
50%			
75%			
100%			

Résultats et discussion

Tableau 10: Développement du mycélium de champignon de paris sur PDA pendant 15jours.

PDA	Durée	Development du mycelium		
		J4	J7	J15
	15 jours			

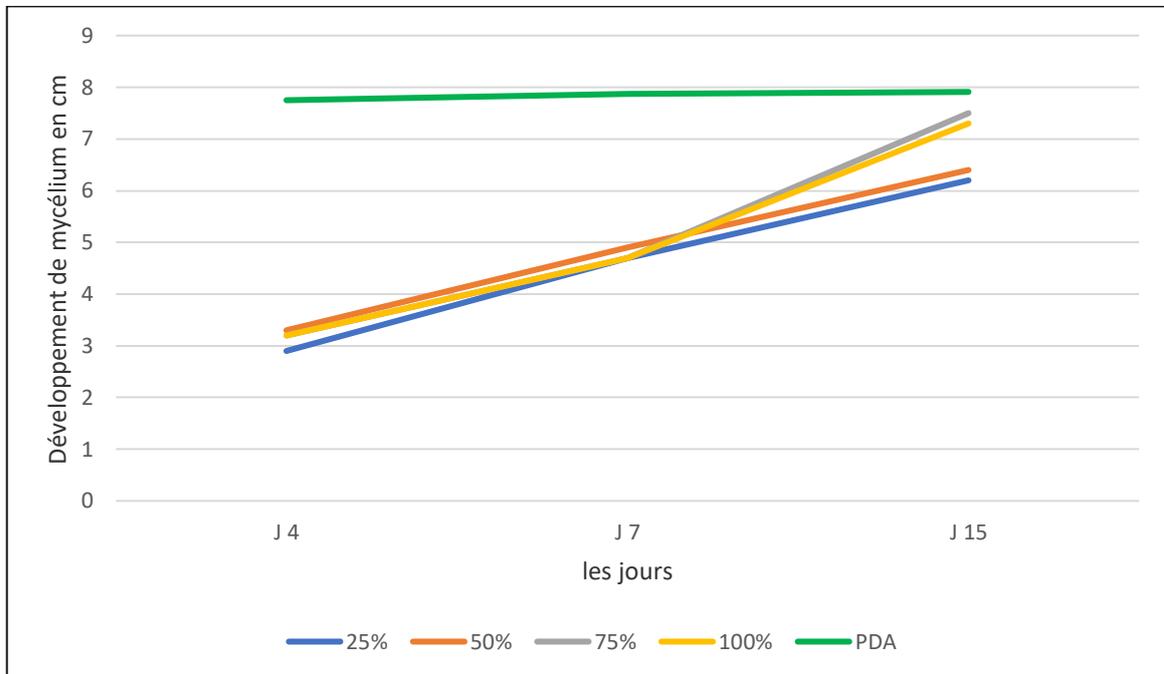


Figure 22: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps pour les différentes dilutions à pH=4.6.

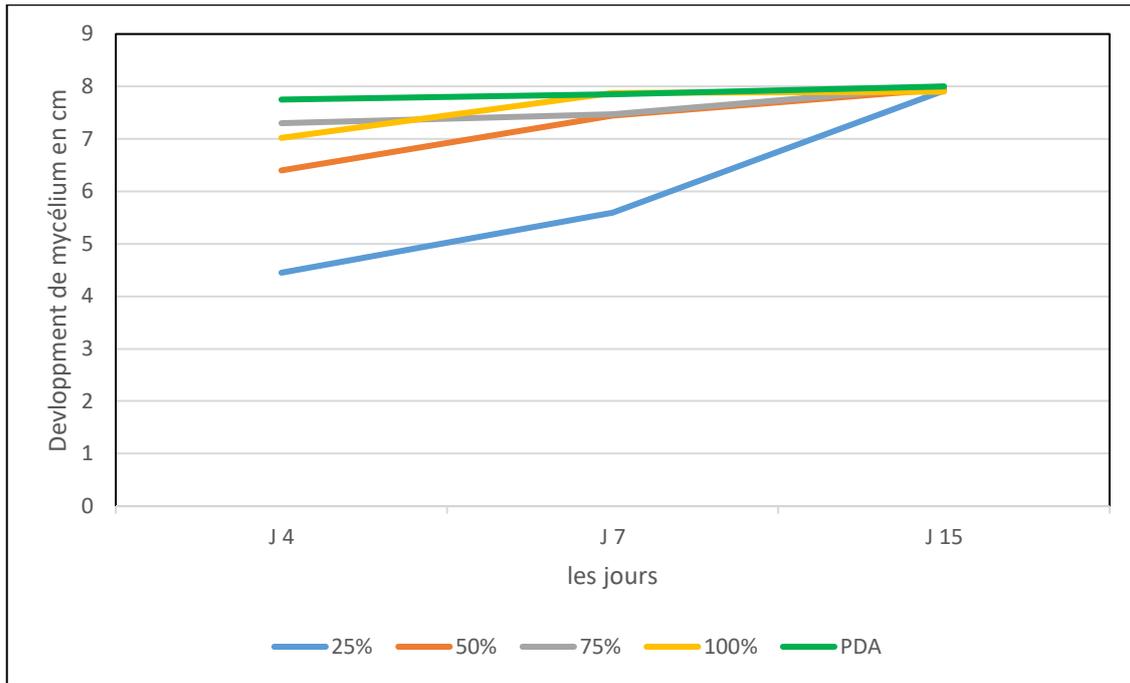


Figure 23: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps à pH=5.6

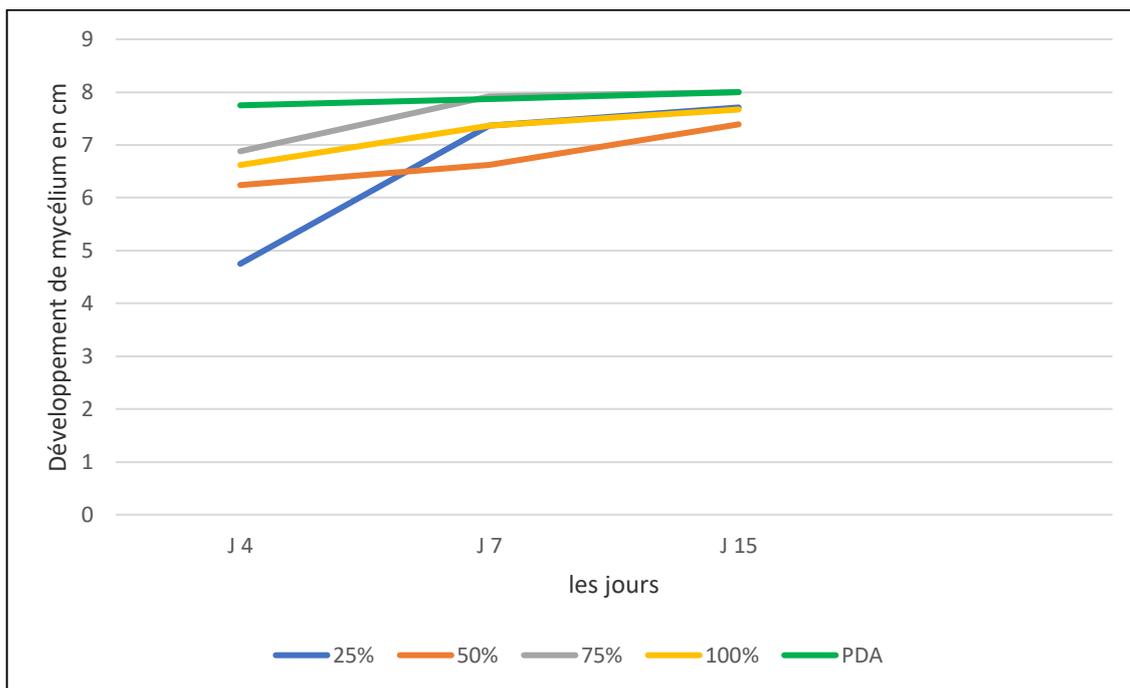


Figure 24: Croissance mycélienne en cm sur le lactosérum en fonction du temps pour les différentes dilutions au pH=7.

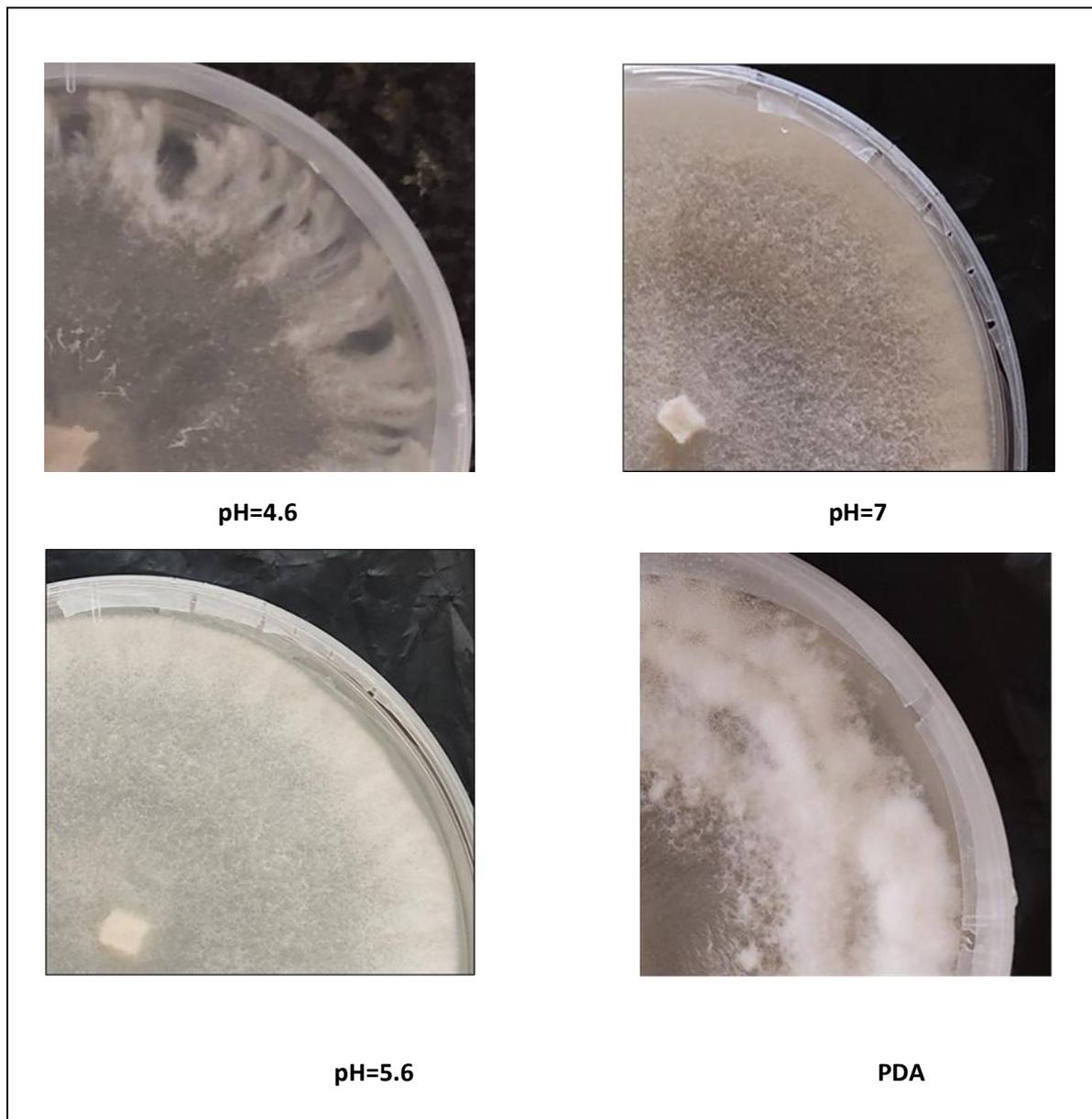


Figure 25: Densité du mycélium sur milieu de lactosérum 75 % et PDA

Comparés aux PDA la dilution 75 % présente des densités de croissance du mycélium différentes dont le meilleur est à pH 7 suivie par le pH 6,5 et enfin au pH du lactosérum pur.

Discussion

4.2. Discussion :

Les champignons sont des êtres hétérotrophes : ils doivent se procurer leur nourriture matière organique en décomposition grâce au mycélium qui est un ensemble de filaments plus ou moins ramifiés formant la partie végétative d'un champignon. Le mycélium a besoin de plusieurs éléments pour se développer de carbone : source d'énergie contenue principalement les sucres simples (glucose, fructose, etc.) ou les sucres complexes (amidon, cellulose, etc.) et d'azote contenu dans les acides aminés et les peptides. Outre la matière organique, le mycélium pour se développer à besoin d'éléments minéraux : soufre, phosphore, potassium, magnésium, calcium et d'oligo-éléments : fer, zinc, cuivre, manganèse, bore, molybdène (**Delmas, 1989**).

Le lactosérum qu'il soit doux ou acide est composé principalement de lactose (est une source importante de carbone et d'énergie), de protéines solubles (constituent environ 20% de la matière azotée globale de lait. Le lactosérum contient de 4.8 jusqu'à 10.5 (g /l) de matière azotée d'après (**Woo, 2002**) et d'ions minéraux.

Les meilleurs résultats ont été obtenus en les dilutions 75% et puis 100% cela revient probablement au fait que le lactosérum soit en grande concentration et par conséquent la quantité élevée en lactose et protéine (azote) et les minéraux. Concernant les dilutions de 25 % et 50 % où la quantité d'eau est plus importante, il a été observé une croissance de mycélium diminuée ce qui témoigne de la pauvreté de ces deux dilutions en nutriments. D'après **Janotto (2020)** les deux principales sources de nutriments sont le carbone (C) et l'azote (N) on parle de ratio C/N. Il existe un équilibre entre ces deux paramètres. Plus le substrat aura un C/N faible, plus le mycélium poussera vite. Il est alors clair que la dilution de 75 % dont la croissance mycélienne est la meilleure comparée aux autres dilutions présente le meilleur ratio C/N. La croissance au niveau de milieu PDA est la meilleure en comparaison avec les différentes dilutions de lactosérum grâce à sa richesse en carbone (glucose) et protéine grâce à leur composition (Extrait de pomme de terre à 4g / L - Glucose 20g / L - Agar 15g). Le glucose et l'amidon présent dans l'extrait de pomme de terre servent de nutriments pour la croissance des champignons (**Seyed Esmail, 2011**).

En ce qui concerne le pH du milieu sa valeur affecte directement le taux de croissance. Le pH du milieu est important pour le bon développement du mycélium. La plupart des champignons poussent entre un pH compris entre 4 et 8 mais chaque espèce à un pH optimal concernant le champignon de Paris le pH optimum se situe entre 7.2 et 7.8 si non la croissance de champignons sera lente (**Boussaidi et al 2022**). En effet nos résultats obtenus, montrent qu'à pH 7 du lactosérum la croissance du mycélium est la meilleure par rapport les autres valeurs pH=5.6 et pH=4.6.

Yadav, & (2014), ont montré l'effet de différents pH sur la croissance radiale. Les résultats de leurs travaux ont montré que la croissance du mycélium dans pH=8 a été

bonne performance dans toutes les souches d'*A. bisporus* suivie par pH=7. La croissance mycélienne était très lente à pH=6 et la croissance complète s'est achevée en 18 jours.

Conclusion

Cette présente étude vise particulièrement à développer un procédé de culture de mycélium dans un but de production de champignons de Paris. Au terme de cette étude, il apparaît que le Lactosérum peut être valorisé en tant que milieu de culture du mycélium de *Agaricus bisporus*.

Les résultats obtenus révèlent que la richesse en éléments nutritives du lactosérum permet la croissance du mycélium de *Agaricus bisporus*. Les différentes dilutions réalisées sur le lactosérum indiquent que la croissance mycélienne est meilleure sur concentration la plus élevés (75%,100%) qu'aux taux de faible concentrations (25%,50%) et cela est probablement due à la richesse de milieu de culture en nutriments (carbone, azote et minéraux).

Au cours de l'analyse des résultats, les milieux de cultures utilisés à partir de différentes dilutions et différents pH de lactosérum donnent meilleures croissances mycéliennes du champignon étudié avec une importante densité sont à la dilution de 75% à pH=7 en comparaison avec les autres concentrations à savoir 100%, 50% et 25%.

A la lumière de ce travail, la valorisation du lactosérum en tant que milieu de culture du mycélium de *Agaricus bisporus* offre des résultats très encourageant. Il est été intéressant de poursuivre ce travail de valorisation du lactosérum afin de produire du blanc de champignon de Paris.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ADRIAN.J.** (1973) : «Valeur Alimentaire du Lait».(Edition; maison Rustique). Paris
- BERDI, R., BENOUARZEG, F., & BOUNAMOUS, A. E.** (2002). Analyse physico-chimique et microbiologique du lactosérum doux (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- BOUDRIER J.F., LUQUET.** (1980). Utilisation des lactosérums en alimentation humaine et Animale. *Apria* N°21, P : 136.
- Boussaidi.** (2022) *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 8(1), 35-49.
- CALLAC P,** (1994). Prospections pour la recherche d'Agaricus bisporus en France : contexte Historique et scientifique, premiers résultats. *Bull. Soc. Mycol. France* 110 : 145-165.
- CALLAC P, BILLETTE C, IMBERNON M, KERRIGAN RW,** (1993). Morphological, genetic, And interfertility analyses reveal a novel, tetrasporic variety of Agaricus bisporus from The Sonoran desert of California. *Mycologia* 85 : 835-851
- CALLAC P, THEOCHARI I, KERRIGAN RW,** (2002). The germplasm of Agaricus bisporus : Main results after ten years of collection in France, in Greece, and in North America. *Acta Horticulturae* 579 : 49-55.
- **CÉCILE CHEVALLIER,** (2016) « Le champignon de Paris fait de la résistance en banlieue » leparisien.fr, (consulté le 12 mai 2016).
- **C.M. BOURGEOIS ET J.P. LARPENT,** (1996) .Microbiologie alimentaire, Aliments fermentés et fermentations alimentaires, t. 2, TEC & DOC , 524 p., chap. III, 2 (« Les fromages à pâtes fraîches, molle, pressée ou persillée, J.P. Larpent ») ou acidification chimique.
- Das, B.; De, B. ; Chetree, R. ; Mandal, S.C.** (2020). Medicinal aspect of mushrooms : A view point. In *Herbal Medicine in India*; Springer: Berlin/Heidelberg, German; Volume 5, pp. 509–532.
- Delmas, J.** (1989). Les champignons et leur culture. Flammarion-La Maison Rustique.
- **DHAMODHARAN, G. ; MIRUNALINI,**(2010). S. A Novel Medicinal Characterization of Agaricus bisporus (white button mushroom). *Pharmacol. Online*, 2, 456–463.
- FAUQUANT, J., A. PIERRE, ET AL.** (1985). « Clarification du lactosérum acide de caséinerie. » *La technique laitière* 1003 : 37-41.
- FERNAND, N.**(1984).Les Champignons, Paris.
- **Fick M.**(2016). Rapport de projet sur la valorisation du lactosérum.
- **FRANCIS MARTIN,** (2014). Tous les champignons portent-ils un chapeau ? : 90 clés pour comprendre les champignons.

Références bibliographiques

- **FRANÇOIS LUQUET**, (1990). Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre, t. 2, Lavoisier, Tec & Doc, 637 p.
- **Jean Froc**, (2006). Balade au pays des fromages, Les traditions fromagères en France, Quae, 239 p.
- KEILLING.J, DEWILDE.R;** (1985) : « Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre, tome2 », Transformation et technologie technique et documentation (LA VOISIER) P 357-390
- KEMPKEN, FRANK** (2013). Agricultural Applications || 1 Genetics and Genomics of Cultivated Mushrooms, Application to Breeding of Agarics., 10.1007/978-3-642-36821-9(Chapter 1), 3–33
- LAPLANCHE J., DUCOGNON V., TREVISAN D.** (2006). Traitement du lactosérum par filtration sur Compostensemencé de vers, épuration of lactosérum in a compost filter with Worms, syndicat Des apagistes, fruit communs et vendeur direct de savoie. Maison de l’agriculture- saut Baldoph. PP : 73-90.
- **LEGLIMI H.**(2004). Optimisation de la production de la cellulase d’*Aspergillus niger* ATCC 16 404 cultivé sur un milieu à base de lactosérum : étude comparative entre *Aspergillus niger* ATCC 16 404 et *Aspergillus niger* O.Z isolée localement. Thèse de Magistère. Université Mentouri. Constantine.
- **MAUBOIS.** (1981) : « L’ultrafiltration du lactosérum » (optimisation du perméate) technique laitière. N°952 P 29-33
- MEREO, M.** (1971). « Utilisations industrielles de serum de fromagerie. » Indus Aliment Agr.
- MICHEL, A.** (1986). Production de protéines de levures à partir de lactosérum brut, Lyon 1. Michel,
- MOGHADDAM, S., JALALZADEH, B.**(2014).Evolution intraspécifique du génome et modes de reproduction générateurs de diversité génétique chez *Agaricus bisporus*. Thèse de doctorat de l’école doctorale sciences de la vie et de la santé spécialité biologie végétale.
- OLIVIER, L.** (2010).Le monde des Champignon.
- PETERSEN,J.H.**(2005) .Les champignons dans la nature. Henning Knudsen.france.
- **PHILIPPE SILAR ET FABIENNE MALAGNAC,** (2013). Le champignon redécouvert, Belin,p 232.
- Pierre, A., & Fauquant, J.** (1986). Principes pour un procédé industriel de fractionnement des protéines du lactosérum. Le lait, 66(4), 405-419.

Références bibliographiques

- **PIERRE SCHUCK**, (2004) « Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l'eau », *Le Lait*, vol. 84, no 3, p. 243-268.
- RODRIGUEZ, A. M. D. P. N.** (2014). Adaptation des températures élevées du champignon de Paris *Agaricus bisporus* (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux)
- SAULNIER, F., M. CALCO, ET AL.** (1996). « Composition minérale et organique de différents lactosérums acides industriels, analysée par électrophorèse capillaire. » *Le Lait* 76(5) : 423-432.
- **SCHUCK, P., S. BOUHALLAB, ET AL.** (2004). "Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l'eau." *Le Lait* 84(3): 243-268
- **Seyed Esmail, A.** (2011). Etudes mycologiques et moléculaires à partir de mycélium pur de *Ganoderma boninense*, impliqué dans le dépérissement des palmiers à huile (Doctoral dissertation, IUT Midi pyrénées).
- SOTTIEZ.,** (1990). *Produit dérivés des fabrications fromagères, lait et produit laitier*, tom 2. Ed, Lavoisier paris, PP : 357-392.
- SOTTIEZ P.,** (1975) *Produits dérivés des fabrications fromagères*, in : Luquet F.M. (Ed.), *Lait et Produits Laitiers*, Vol. 2, Tec. Et Doc, Lavoisier, Paris, France, PP : 357–392
- **Tanguy-Sai, G.** (2018, March). Impacts de la succession d'étapes (nanofiltration, évaporation, séchage) sur le lactosérum acide lactique: Qualité de la poudre et évaluation énergétique. Comparaison de stratégies. In *Méta Séminaire CEPIA 2018 AgroParisTech* (p. np).
- TAOFIQ, O.; HELENO, S.A. ; CALHELHA, R.C. ; ALVES, M.J. ; BARROS, L. ; BARREIRO, M.F. ; GONZALEZ-PARAMAS, A.M. ; FERREIRA,** (2016). I.C. Development Of mushroom-base cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules*, 21, 1372. [CrossRef].
- TRIVINO AREVALO, A.** (2017). « Étude environnementale comparative des procédés de valorisation du lactosérum. »
- VIOLLEAU V.** (1999). *Valorisation du lactosérum par électrodialyse*, Thèse de doctorat.
- VRIGNAUD Y.** (1983). Valorisations du lactosérum, une longue histoire. *Revue laitière Françaises* N°422, PP : 41-46.
- **Yadav, M. K., & Chandra, R.** (2014). Effect of culture media, pH and temperature on mycelial growth of *Agaricus bisporus* strains. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(3), 2497-2500

Webographie :

- <https://scholar.google.com>

Références bibliographiques

-Journal Officiel de la République Algérienne : <http://www.joradp.dz>.

-<https://www.sciencedirect.com>

-<http://bib.univ-ueb.dz:8080/jspui/handle/123456789/9092>

Résumé

Agaricus bisporus est l'un des champignons les plus cultivés au monde pour ses vertus nutritives et médicinales. Sa culture nécessite des étapes effectuées au laboratoire. Le champignon de Paris est d'abord purifié sur milieu PDA. Le Lactosérum, sous-produit de l'industrie laitière peut constituer un milieu de culture de l'*Agaricus bisporus* par sa richesse en nutriments.

Cette étude consiste à optimiser le lactosérum en tant que milieu de culture du mycélium à partir des spores de champignons de Paris. Des ajustements de pH du lactosérum ont été réalisés à 5,6 et 7 ainsi que le lactosérum pur. Des dilutions sont réalisées à 25%, 50%, 75% et 100 % pour les différents pH du lactosérum.

Les résultats obtenus sont satisfaisants. La dilution de lactosérum 75% à pH=7 a donné le meilleur résultat en termes de croissance radiale et en densité comparé au PDA.

A la lumière de ce travail, la valorisation du lactosérum en tant que milieu de culture du mycélium de l'*Agaricus bisporus* offre des résultats très encourageants.

Mots clés :

Agaricus bisporus, substrat, lactosérum, champignons, mycélium.

ملخص

يعد فطر باريس أحد أكثر أنواع الفطر المزروعة في العالم لخصائصه الغذائية والطبية. تتطلب زراعته خطوات يتم تنفيذها في المختبر. يتم أولاً زراعة فطر باريس على مستوى وسط مغذي PDA.

يمكن أن يشكل مصل اللبن، وهو منتج ثانوي لصناعة الألبان، وسيلة لزراعة فطر باريس بسبب ثرائه في العناصر الغذائية.

تتكون هذه الدراسة من تحسين مصل اللبن باعتباره وسطاً لزراعة الفطريات باستعمال الأوبوغ الفطرية مع تعديلات في درجات الحموضة لمصل اللبن قيمتها 5,6 و 7 وكذلك مصل اللبن النقي. يتم إجراء التخفيفات بنسبة 25% و 50% و 75% و 100% لمختلف النتائج التي تم الحصول عليها مرضية. أعطى التخفيف بنسبة 75% من مصل اللبن في درجة الحموضة = 7 أفضل نتيجة من حيث النمو والكثافة مقارنة بل PDA

في ضوء هذا العمل، فإن تقييم مصل اللبن كوسيلة لزراعة فطر باريس يقدم نتائج مشجعة للغاية

الكلمات المفتاحية

فطر باريس، ركيزة، مصل اللبن، فطر، فطريات

Abstract

Agaricus bisporus is one of the most cultivated mushrooms in the world for its nutritional and medicinal properties. Its cultivation requires steps carried out in the laboratory. The Paris mushroom is first purified on PDA medium. Whey, a by-product of the dairy industry, can constitute a medium of culture of *Agaricus bisporus* because of its richness in nutrients.

This study consists in optimizing whey as a mycelium culture medium from fungal spores of Paris pH adjustments of whey were made at 5,6 and 7 as well as pure whey. Dilutions are carried out at 25%, 50%, 75% and 100% for the different pH of the whey.

The results obtained are satisfactory. Dilution of 75% whey at pH=7 gave the best result in terms of radial growth and density compared to PDA.

In the light of this work, the valorization of whey as a culture medium of the mycelium of *Agaricus bisporus* offers very encouraging results.

Key word: *Agaricus bisporus*, substrate, whey, mushrooms, mycelium

