

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR

en Sciences Biologiques

Option : Biologie Végétale

Présentée et soutenue publiquement

Par

Malika BENAMAR épouse MANSOUR

Le 10 Mars 2016

VALORISATION DE RESIDUS AGRICOLES PAR LA CULTURE DE DEUX SOUCHES DE CHAMPIGNONS COMESTIBLES DU GENRE *PLEUROTUS*

Jury:

Mr. Arezki DERRIDJ	Professeur UMM Tizi-Ouzou	Président
Mr. Louis CHAVANT	Professeur UPS Toulouse	Directeur de thèse
Mme Djamila ADJOUUD-SADADOU	MCA UMM Tizi-Ouzou	Co-directrice de thèse
Mme Noria SMAIL-SAADOUN	Professeur UMM Tizi-Ouzou	Examinatrice
Mr. Guy DURRIEU	Professeur UPS Toulouse	Examinateur
Mr. Amar RIBA	Professeur UMB Boumerdes	Examinateur

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux (LPAPV) de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO).

Elle n'aurait pu voir le jour sans le concours de nombreuses personnes. Je souhaite adresser mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation.

Mes premiers et mes plus vifs remerciements vont à mon Directeur de thèse, le Professeur Louis CHAVANT, qui m'a confié ce sujet et m'a guidé dans sa réalisation. Je le remercie de m'avoir reçu à plusieurs reprises dans son laboratoire et fait profiter de ses connaissances sur la mycologie ainsi que pour son aide chaque fois que je l'ai sollicité,

Mes vifs remerciement vont également à :

- Monsieur Arezki DERRIDJ, Professeur à l'UMMTO pour avoir accepté de présider le jury et pour toute son aide et ses encouragements,
- Mon ancien co-directeur de thèse, Monsieur Rabah LEBSIR, Professeur en Pharmacie et ma nouvelle co-directrice de thèse Madame Djamila ADJOUND –SADADOU, Maître de Conférences classe A à l'UMMTO et Directrice du LPAPV, pour leur aide et leurs encouragements,
- Monsieur Guy DURRIEU, Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse pour avoir accepté de participer à mon jury de soutenance et accepté d'examiner ce travail. Ma reconnaissance envers lui est immense car c'est grâce à lui que de nombreux collègues et moi-même avons pu progresser dans nos carrières en tant qu'enseignants - chercheurs,
- Madame Noria SAADOUN-SMAIL, Professeur à l'UMMTO pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour son aide ,
- Monsieur Amar RIBA, Professeur à l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier également Monsieur Jean-Michel SAVOIE, Directeur de recherche et Directeur de l'Unité Propre de Mycologie et Sécurité des Aliments de l'Institut National de Recherche Agronomique de Bordeaux Aquitaine. Je tiens à le remercier pour m'avoir guidée dans la réalisation de la thèse, pour toute l'aide technique, scientifique et humaine qu'il m'a apporté et pour sa disponibilité chaque fois que j'ai sollicité son l'aide.

Je tiens à remercier Monsieur Didier FOURNIER, Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, pour m'avoir accueillie à plusieurs reprises dans son Laboratoire, m'avoir fait profiter

de ses connaissances dans le domaine de la biologie moléculaire ainsi que pour ses qualités scientifiques et humaines.

Mes remerciements les plus chaleureux vont aussi à mon amie Andrée LOUGARRE, qui a toujours veillé à ce que mes stages à l'UPS Toulouse soient agréables ainsi qu'à Hélène CHAVANT qui m'a toujours bien accueillie chez elle à chacun de mes passages à Toulouse.

Je tiens à remercier toute l'Equipe de MYCSA de l'INRA Bordeaux Aquitaine, pour leur aide, leur disponibilité et leur gentillesse.

Un merci spécial à Nathalie MINVIELLE, Simone REXTOUÉIX-GRANIT et Christiane COLDEFY, pour leur amitié et leur assistance technique ainsi que pour les moments agréables que nous avons partagé au cours de mes stages à l'INRA Bordeaux-Aquitaine.

Je remercie également Christophe BILLETTE, pour l'initiation à la biologie moléculaire et pour toute son aide, ainsi que Patrick CASTANT pour toutes les connaissances acquises à ses côtés sur la culture des champignons et toute son aide, sans oublier, Phillipe CALLAC, Jacques GUIMBERTEAU et Michelle LARGETEAU.

Je remercie vivement Messaoud BENSIDHOUM pour les nombreuses récoltes de champignons et pour ses encouragements ainsi que Djamel MEDJBEUR, Salem AIRED et Samira AKKACHE, pour toute leur aide.

Je remercie vivement Malika BOUDIAF-NAIT KACI, Abdelkader BOUAHMED et Samira ALI-AHMED pour leur aide efficace dans les analyses statistiques de ce travail.

Je suis particulièrement reconnaissante à Nadia AMMAR-KHODJA, pour son amitié, son soutien permanent, ses encouragements et son aide pratique et efficace.

Je tiens à remercier particulièrement ma famille, mon mari, Yahia, mon fils Mourad et ma fille Nassima qui m'ont toujours encouragé et soutenu. Ma dette envers eux est infinie. Ils ont passé tellement de temps à m'aider à réparer, bricoler, déplacer et aménager ma salle de culture de champignons et mon matériel, et jusqu'à l'achèvement de mon manuscrit !

Mes remerciements seraient incomplets si j'oubliais mes sœurs qui m'ont aidé chacune à sa manière tout particulièrement Aicha pour le soutien constant, l'aide scientifique et technique et sa disponibilité, Terkouya et Zina qui m'ont toujours reçu chaleureusement au cours de mes stages en France et Drifa pour son aide et sa présence de tous les instants.

Pour finir, je voudrais dire un grand merci aux Responsables du SNDL (Système de Documentation en Ligne Algérien) pour l'accès facilité à la documentation.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	IV
INDEX DES FIGURES.....	X
INDEX DES TABLEAUX	XIII
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE A- SYNTHSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
PREMIER CHAPITRE : LES SUBSTRATS DE CULTURE.....	7
I. <i>OLIVIER, OLEICULTURE ET GRIGNON D'OLIVE</i>	8
1- INTRODUCTION	9
2- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DE L'OLIVIER.....	9
2.1- Les variétés d'oliviers.....	9
2.2- Taxonomie de l'olivier.....	11
2.3- Cycle de développement de l'olivier	12
2.4- Le fruit de l'olivier : l'olive	12
2.5- Exigences pédoclimatiques de l'olivier	14
3- LE SECTEUR OLEICOLE EN ALGERIE	14
3.1- La Politique du Renouveau Agricole et Rural (PRAR).....	15
3.2- Les surfaces oléicoles.....	15
3.3- Les unités de trituration et de confiserie.....	18
3.4- Les variétés d'oliviers en Algérie.....	18
4- LE SECTEUR OLEICOLE DANS LA WILAYA DE TIZ-OUZOU.....	18
4.1- Brève présentation de la wilaya.....	18
4.2- Situation de l'oléiculture	22
4.2.1- Variétés d'olivier et répartition spatiale.....	22
4.2.2- Conduite culturale	22
4.3- Production oléicole.....	23
4.4- Parc oléicole	24
4.5- Les systèmes d'extraction de l'huile d'olive.....	24
4.5.1- Opération de réception.....	24
4.5.2- Opération de pressage et d'extraction.....	24
4.5.2.1- Système discontinu à presse.....	25
4.5.2.2- Système continu.....	25
4.5.3- Les sous-produits de l'industrie oléicole.....	27
5- LE GRIGNON D'OLIVE	28
5.1- Définition	28
5.2- Composition physique du grignon d'olive	28
5.3- Composition chimique du grignon d'olive	28
6- VALORISATION DU GRIGNON D'OLIVE	29

II. CAFEIER, CAFEICULTURE ET MARC DE CAFE.....	32
1- INTRODUCTION	33
2- BREF APERÇU SUR L'HISTOIRE DU CAFEIER ET DE LA CAFEICULTURE	34
3- IMPORTANCE ECONOMIQUE DU CAFE: PRODUCTIONS, EXPORTATIONS ET IMPORTATIONS	36
3.1- Production de café.....	36
3.2- Les exportations de café.....	37
3.3- Les importations de café	37
3.4- La consommation de café dans le monde et en Algérie	38
3.4.1- La consommation de café dans le monde	38
3.4.2- La consommation de café en Algérie.....	38
4- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DU CAFEIER.....	39
4.1- Les espèces de caféiers	39
4.2- Systématique du caféier.....	39
4.3- Description du caféier	41
4.3.1- Appareil végétatif.....	41
4.3.2- Fleur, fruit et graine	43
5- MODES DE TRAITEMENT ET DE PREPARATION DU CAFE.....	47
5.1- La récolte des cerises de café	47
5.2- Traitement des cerises de café	48
5.3- La torréfaction.....	50
5.3.1- Le séchage	51
5.3.2- La torréfaction	51
5.3.3- Le refroidissement	51
5.4- La production du café moulu et de sa boisson.....	54
5.4.1- La mouture des grains	54
5.4.2- La préparation du café boisson.....	54
5.4.3- Fabrication du café instantané	55
5.4.4- Les résidus de l'industrie du café	55
6- LE MARC DE CAFE	55
6.1- Définition.....	55
6.2- Composition chimique	56
6.3- Valorisation du marc de café.....	56
III. PAILLE DE BLE ET GRAINS D'ORGE	58
1- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DES CEREALES	59
1.1- Systématique du blé et de l'orge (Cronquis, 1981 ; APGIII, 2009).....	59
1.2- Description d'une graminée ou Poacée.....	59
2- QUELQUES GENERALITES SUR LE BLE ET L'ORGE	63
2.1- Origine du blé et de l'orge.....	63
2.1.1- Origine du blé	63
2.1.2- Origine des orges cultivées.....	64
2.2- Importance économique des céréales	65
2.2.1- Dans le monde.....	65

2.2.2- En Algérie.....	65
2.3- Relation rendement en grains et paille	67
3- LA PAILLE DE BLE	67
3.1- Composition chimique	67
3.2- Valorisation de la paille.....	67
4- LES GRAINS D'ORGE	68
4.1- Composition physique et biochimique du grain d'orge.....	68
4.1.1- Les enveloppes	69
4.1.2- l'embryon.....	69
4.1.3- l'albumen	69
4.2- Utilisation de l'orge.....	70
DEUXIEME CHAPITRE : LES CHAMPIGNONS	71
IV. GENERALITES:.....	72
V. PRESENTATION DE QUELQUES SOUCHES DE MACROMYCETES QUE NOUS AVONS ESSAYE D'ISOLER	74
1.1- Pleurotus ostreatus (Jacq. :Fr.) Kummer	74
1.1.1- Description	74
1.1.2- Systématique.....	74
1.1.3- Répartition.....	75
1.1.4- Importance économique et écologique.....	76
1.1.5- Importance pharmacologique	76
1.2- Auricularia auricula-Judae (Bull. : Fr.) Wettstein.....	77
1.2.1- Description	77
1.2.2- Systématique.....	77
1.2.3- Répartition.....	78
1.2.4- Importance économique et écologique:.....	78
1.2.5- Importance pharmacologique :.....	78
1.3- Ganoderma lucidum: (W. Curtis: Fr.) P. Karsten?.....	79
1.3.1- Description	79
1.3.2- Systématique.....	79
1.3.3- Répartition.....	80
1.3.4- Importance économique et écologique.....	80
1.3.5- Importance pharmacologique	81
1.4- Lentinus edodes (Berk.) Singer	83
1.4.1- Description	83
1.4.2- Systématique.....	84
1.4.3- Répartition.....	84
1.4.4- Importance économique et écologique:.....	85
1.4.5- Importance pharmacologique	85
1.5- Flammulina velutipes (Curt. : Fr.) P. Karsten.....	87
1.5.1- Description	87

1.5.2- Systématique.....	87
1.5.3- Répartition.....	87
1.5.4- Importance économique et écologique.....	88
1.5.5- Importance pharmacologique	88
PARTIE B : PARTIE EXPERIMENTALE.	90
PREMIER CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES.....	91
<i>I - MATERIEL UTILISE</i>	<i>92</i>
1- MATERIEL MYCOLOGIQUE	92
2- MILIEUX DE CULTURE GELOSES UTILISES	92
2.1- Milieu de culture semi synthétique : Milieu PDA (Pomme de Terre – Dextrose-Agar).....	92
2.2- Milieux de culture synthétiques : milieux ODDOUX et RC.....	93
3- MATERIEL VEGETAL UTILISE: GRIGNON D'OLIVE, MARC DE CAFE, grains d'ORGE ET PAILLE DE BLE.....	93
3.1- L'orge.....	93
3.2- Le grignon d'olive.....	93
3.3- Le marc de café.....	94
3.4- La paille de blé.....	94
<i>II - METHODES D'ETUDE</i>	<i>95</i>
1- PRODUCTION D'INOCULUMS SUR MILIEUX DE CULTURE GELOSES	95
1.1- Préparation des milieux de culture solides.....	95
1.2- Récolte de carpophores et bouturage.....	95
1.2.1- Récolte de carpophores	95
1.2.2- Bouturage des carpophores.....	95
1.2.3- Repiquage du mycélium à partir de cultures mycéliennes issues du bouturage de carpophore ou d'une pré-culture en boîte de Pétri	97
1.3- Incubation	98
1.4- Sélection de milieux de culture favorables par l'estimation de la croissance mycélienne.....	98
2- FABRICATION DU BLANC DE CHAMPIGNON.....	99
2.1- Préparation et stérilisation de l'orge.....	99
2.2- Inoculation de l'orge	100
2.2.1- La première inoculation ou blanc primaire.....	100
2.2.2- La deuxième inoculation ou blanc secondaire	101
2.3- Incubation	102
2.4- Influence de l'humidité, du pH, de la température et du temps d'incubation sur la fabrication du blanc primaire de POL et POC	102
3- ETUDE DU COMPORTEMENT des deux souches de pleurote SUR SUBSTRAT EN BOITE DE PETRI.	104
3.1- Fractionnement du grignon d'olive.....	104
3.2- Le marc de café.....	104
3.3- Supplémentation des substrats par la paille.....	104
3.4- Préparation des boîtes de Pétri	105
3.4.1- Humidification du substrat de culture.....	105
3.4.2- Traitement thermique et répartition des substrats dans des boîtes de Pétri	106

3.4.3- Inoculation des substrats.....	106
3.4.4- Mesure de la croissance mycélienne.....	107
3.4.5- Analyses physico-chimiques	107
3.4.5.1- Mesure du pH dans les substrats de culture :	107
3.4.5.2- Mesure de l'humidité et des matières sèche, minérale et organique	107
3.4.6- Dosage de l'azote total après fractionnement chimique des substrats.....	108
3.4.6.1- Fractionnement chimique des substrats.....	108
3.4.6.2- Dosage de l'azote total	110
3.4.7- Dosage de la cellulose brute	111
3.4.8- Dosage des enzymes extracellulaires produites dans les substrats.....	111
3.4.8.1- Préparation des extraits enzymatiques	111
3.4.8.2- Dosage de l'activité hydrolase	111
3.4.8.3- Dosage des activités enzymatiques glycosidases	113
3.4.8.4- Dosage de l'activité enzymatique protéase (PRO).....	114
3.4.8.5- Dosage des activités enzymatiques laccase (LAC)	114
4- CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTÉS : POC ET POL.....	115
4.1- Phase végétative des deux souches de pleurote: Préparation, inoculation et incubation des substrats.....	115
4.2- Phase de la fructification.....	118
4.2.1- Choc thermique	118
4.2.2- Récolte des carpophores et évaluation des rendements.....	118
5- ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS	119
DEUXIEME CHAPITRE : RESULTATS ET DISCUSSION	121
I – RESULTATS.....	122
1- PRODUCTION D'INOCULUMS SUR MILIEUX DE CULTURE GELOSES	122
1.1- Isolement du mycélium dicaryotique de la souche locale de Pleurote et repiquage du mycelium de la souche commerciale.....	122
1.2- Sélection de milieux de culture favorables par l'estimation de la croissance mycélienne.....	123
2- FABRICATION DU BLANC DE CHAMPIGNON.....	124
2.1- Blanc primaire et blanc secondaire.....	124
2.2- Influence de l'humidité, du pH, de la température et du temps d'incubation sur l'envahissement des grains d'orge par les mycelia des deux souches de pleurote	125
3- ETUDE DU COMPORTEMENT DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE SUR SUBSTRAT EN BOITE DE PETRI .	130
3.1- Fractionnement du GOB en GOI et GOS.....	130
3.2- Culture de POC et POL sur substrats en boite de Pétri.....	131
3.2.1- Mesure de la croissance mycélienne des souches de pleurote sur substrats en boite de Pétri	131
3.2.2- Mesure de la matière sèche dans les substrats de culture des deux souches de pleurote ...	136
3.2.3- Mesure des activités hydrolases dans le grignon d'olive et le marc de café inoculés par les deux souches de pleurote après 10 et 24 jours d'incubation.....	137
3.2.3.1- Mesure des activités glycosidases dans le grignon d'olive inoculé par les deux souches de pleurote après 10 jours et 24 jours d'incubation.....	138

3.2.3.2- Mesure de l'activité protéase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote après 10 et 24 jours d'incubation	140
3.2.4- Mesure de l'activité laccase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote	140
3.2.5- Fractionnement chimiques des substrats de culture des deux souches de pleurote et dosage de l'azote total	141
4- VALORISATION DU GRIGNON D'OLIVE FRACTIONNE OU NON ET SUPPLEMENTE OU NON PAR LA PAILLE DE BLE PAR LA CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE	142
4.1- Mesure du pH dans les substrats de culture.....	142
4.2- Taux d'humidité, de matière sèche et de cendres dans les substrats de culture des deux souches de pleurote avant et après inoculation.....	143
4.3- Dosage de la lignocellulose et des protéines totales dans les grignons d'olive.....	146
4.4- Récolte et rendements en carpophores.....	147
4.4.1- Mensurations des carpophores	147
4.4.1.1- Poids des carpophores	148
4.4.1.2- Diamètre moyen du chapeau des carpophores	151
4.4.1.3- Longueur et largeur des pieds des carpophores	155
4.4.2- Efficacité biologique des deux souches de pleurote.....	159
5- VALORISATION DU MARC DE CAFEE PAR LA CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE POC ET POL166	
<i>II – DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION</i>	<i>181</i>
1- ISOLEMENT ET/OU MULTIPLICATION DU MYCELIUM DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE POC ET POL ET SELECTION D'UN MILIEU DE CULTURE GELOSE ADEQUAT	183
2- FABRICATION DE BLANC DE PLEUROTE.....	185
3- CULTURE EN BOITE DE PETRI ET EN SAC DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE	188
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	199
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	203
ANNEXES.....	229
PUBLICATION	232

INDEX DES FIGURES

Figure 1: <i>Olea europea</i> var. chemlal	11
Figure 2: Olives de la variété Chemlal	13
Figure 3: Section transversale d'une olive (Source: Sansoucy, 1984)	13
Figure 4: Carte oléicole de l'Algérie (Source Boukhari, 2014)	17
Figure 5: Limites géographiques de la wilaya de Tizi-Ouzou	20
Figure 6: limites géographiques des 21 daïras et 67communes de la wilaya de Tizi-Ouzou	21
Figure 7: Les trois systèmes d'extraction de l'huile d'olive	26
Figure 8: Usages et valorisations potentiels des résidus de l'industrie oléicole	30
Figure 9 : Cafeier multicaule (A) ; Feuilles de <i>Coffea canephora</i> Pierre var. robusta (B)	42
Figure 10: Représentation schématique des bourgeons chez le caféier	42
Figure 11: Fleurs, fruits et graines de caféiers :	45
Figure 12: Techniques d'extraction des graines de caféier	49
Figure 13 Grains de café vert (A) et torréfiés (B)	50
Figure 14: Café en poudre (A), marc de café séché (B), marc de café frais (C)	56
Figure 15: Appareil végétatif d'une céréale, le blé	60
Figure 16: Un épi de blé	61
Figure 17: Epillets d'orge à 2 rangs (à gauche) et à 6 rangs (à droite)	62
Figure 18: Epis d'orge à 2 rangs (<i>Hordeum distichum</i> L.) et à 6 rangs (<i>Hordeum hexastichum</i> L.)	62
Figure 19: Zone d'origine et de domestication du blé et de l'orge	64
Figure 20: Grains d'orge	68
Figure 21: Morphologie du grain d'orge	70
Figure 22: Cycle de reproduction de <i>Pleurotus ostreatus</i>	73
Figure 23: Touffes de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. :Fr.) Kummer	75
Figure 24: <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.: Fr.) Kummer	75
Figure 25: Carpophores de <i>Auricularia auricula-Judae</i> (Bull. : Fr.) Wettstein.	77
Figure 26: <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis: Fr.) P. Karsten.	80
Figure 27: Deux carpophores de <i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Singer développés sur grignon d'olive	84
Figure 28: <i>Flammulina velutipes</i> (Curt.: Fr.) P. Karsten développé sur grignon d'olive	88
Figure 29: Bouturage d'un carpophore	96
Figure 30: Repiquage et multiplication du mycélium	97
Figure 31: Schéma explicatif de la mesure des diamètres D1 et D2 d'une colonie mycélienne	98
Figure 32: Préparation de l'orge pour la fabrication du blanc de Pleurote.	100
Figure 33: Première inoculation de l'orge et fabrication du blanc primaire ou master	101
Figure 34: Deuxième inoculation et fabrication du blanc secondaire.	102

Figure 35: Protocole utilisé pour l'étude de l'influence de trois facteurs à savoir l'humidité, le pH et la température et le temps d'incubation (6ème et 9ème jours d'incubation) sur le développement des blancs primaires de POC et POL	103
Figure 36: Protocole utilisé pour l'évaluation de la croissance mycélienne en boîte de Pétri	105
Figure 37: Boîtes avec substrat seul (A) et substrat inoculé par 3 grains de blanc (B)	106
Figure 38: Protocole du fractionnement chimique des substrats: l'extraction aqueuse et extraction acide	109
Figure 39: Protocole du dosage de l'azote total	110
Figure 40: Protocole du dosage de l'activité hydrolase par hydrolyse du FDA.....	112
Figure 41: Protocole du dosage des activités enzymatiques par la libération de phospho-nitrophénol: β -galactosidase (β -GAL), β -glucosidase (β -GLU), β -mannosidase (β -MAN), β -xylosidase (β -XYL), β -N-Acétyle-glucosaminidase (NAG).....	113
Figure 42: Protocole pour le dosage de l'activité protéase (PRO) par la solubilisation de l'azocoll.....	114
Figure 43: Protocole du dosage de l'activité laccase de POC et POL à 24 jours d'incubation.....	115
Figure 44: Traitement thermique du substrat à l'aide d'un couscoussier	116
Figure 45: Mise en forme des blocs de culture des souches POC et POL en parallélépipède rectangle	116
Figure 46: Dispositifs utilisés pour la culture de POC et POL.....	117
Figure 47: le choc thermique : Les blocs de culture sont plongés dans une froide. Des bouteilles d'eau gelée maintiennent la fraîcheur de l'eau des bacs.....	118
Figure 48: Pesée et mensuration des carpophores.....	119
Figure 49: Mycélium dicaryotique de la souche locale de pleurote sur milieu PDA	122
Figure 50: Mycéliums dicaryotiques de POC (D) et de POL (C) repiqués sur milieu PDA, en boîte de Pétri et sur gélose inclinée dans les tubes à essai ; (A): Inoculum ; (B) : Mycélium.....	123
Figure 51: Boîte de dispersion de la variable croissance mycélienne de POC et POL sur milieux Oddoux, PDA et RC.....	124
Figure 52: Le blanc de pleurote en sac agrafé ou en sacs avec goulot.....	125
Figure 53: Deux illustrations sur l'influence des facteurs, souche de pleurote, température, humidité et pH sur le blanc primaire au 6 ^e jour d'incubatio.....	126
Figure 54: Boîte de dispersion de la variable taux (%) de surface d'orge colonisée par le mycélium de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité, de la température et du temps d'incubation.....	128
Figure 55: Valeurs moyennes (\pm erreurs standards) des taux d'envahissement (%) de l'orge par les mycelia de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité et de la température et du temps d'incubation	129
Figure 56: Le grignon d'olive brut (GOB) et ses deux fractions GOI et GOS	131
Figure 57: Quelques-uns des substrats utilisés: Marc de café (MC), Paille coupée (P), mélange grignon d'olive- CaCO ₃ - Paille (GOBP10) et GOBP10-blanc de pleurote	131
Figure 58: Cultures mycéliennes en boîte de pétri des deux souches de pleurote POC (en rouge) et POL (en noir) âgées de 24 jours.....	132
Figure 59: Culture en boîte de Pétri des souches de pleurote POC et POL sur grignon d'olive +10% paille et grignon d'olive +10%paille de blé +10% son de blé	133

Figure 60: Boite de dispersion des surfaces colonisées par le mycélium en fonction des souches de pleurote (POC et POL) et des substrats testés et du temps d'incubation	134
Figure 61: Valeurs moyennes (\pm écarts standards) des surfaces colonisées par les souches de pleurote POC et POL sur les substrats testés.....	135
Figure 62: Mesure des activités hydrolases dans les substrats de culture des souches de pleurote POC et POL en fonction du temps d'incubation	138
Figure 63: Activités des enzymes extracellulaires extraites du grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote POC et POL après 10 jours et 24 jours d'incubation exprimées en nmoles de <i>p</i> -nitrophénol libérées /g de substrat sec/min	139
Figure 64: Activité protéase dans le grignon d'olive inoculé par les deux souches de pleurote POC et POL après 10 et 24 jours d'incubation	140
Figure 65: Mesure de l'activité laccase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote POC et POL après 10 jours et 24 jours d'incubation.....	140
Figure 66: Variable poids des carpophores.	150
Figure 67 : Diamètre moyen des carpophores des souches de pleurote POC et POL en fonction des substrats.	153
Figure 68: Boîtes de dispersion de la longueur des pieds des carpophores des souches de pleurote POC et POL en fonction des substrats de culture et valeurs moyennes et leurs écarts standards.....	156
Figure 69: Boîtes de dispersion de la variable largeur des pieds des carpophores des deux souches de pleurotes POC et POL en fonction des substrats de culture et valeurs moyennes et leurs écarts standards.....	157
Figure 70: Culture de des deux souches de Pleurote sur grignon d'olive supplémenté ou non par 10% de paille de blé.	161
Figure 71: Culture des deux souches de pleurote.....	162
Figure 72: Boite de dispersion de la variable efficacité biologique et écart standard des EB de POC et POL sur les différents substrats.....	165
Figure 73: Cultures sur milieu RC de <i>Hericium sp</i> , <i>Ganoderma sp</i> et <i>Lentinus edodes</i>	182
Figure 74: Culture mixte des deux souches de pleurote POC et POL; (A) après 3 jours d'incubation; (B): après 9 jours d'incubation. La ligne noire délimite la zone de POL et la ligne rouge celle de POC.	184

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition chimique des principales parties de l'olive	14
Tableau 2: Productions oléicoles de la wilaya de Tizi-Ouzou	23
Tableau 3: Rendements en huile d'olive et caractéristiques des sous produits obtenus avec les différents systèmes d'extraction	27
Tableau 4: Caractéristiques physiques du grignon d'olive brut	28
Tableau 5: Caractéristiques chimiques du grignon d'olive brut.....	29
Tableau 6: Estimation des quantités et pourcentage de café produit à l'échelle mondiale pour l'année caféière 2012/13.....	37
Tableau 7: Quelques caractéristiques de <i>Coffea arabica</i> L. et <i>C. canephora</i> Pierre var. robusta	46
Tableau 8: Composition chimique des grains de café verts et torréfiés de <i>Coffea arabica</i> L. et <i>C. canephora</i> Pierre var. robusta (en % matière sèche).....	52
Tableau 9: Mouture à choisir en fonction de la méthode de préparation du café boisson	54
Tableau 10: Composition chimique du marc de café	56
Tableau 11: Valeurs indicatives des caractéristiques chimiques de la paille de blé	67
Tableau 12: Composition chimique et mode de préparation du milieu PDA (Rapilly, 1968)	92
Tableau 13: Composition et mode de préparation du milieu Oddoux.....	93
Tableau 14: Estimation de la croissance mycélienne et de la vitesse de la croissance mycélienne de POC et POL sur milieux ODD, PDA et RC, après 8 jours d'incubation.....	123
Tableau 15: Résultats du test de Kruskal et Wallis appliqué aux diamètres moyens des colonies mycéliennes des souches de pleurote POC et POL sur les trois milieux de culture, Oddoux (ODD), Pomme de terre-Dextrose-Agar (PDA) et Raper Complet (RC) après 8 jours d'incubation	124
Tableau 16: Taux de colonisation de l'orge (\pm écart- type) par le mycelium de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité et de la température et du temps d'incubation.....	127
Tableau 17: ANOVA de Kruskal & Wallis sur l'influence du pH, du taux d'humidité et de la température et du temps d'incubation sur le développement du blanc primaire.....	130
Tableau 18: Résultats du test de Kruskal & Wallis appliqué au taux de colonisation des substrats par POC et POL aux deux temps d'incubation (3 et 6 jours).....	135
Tableau 19: Test de Dunn appliqué la colonisation des substrats testés par POC et POL aux deux temps d'incubation (3j et 6jours).....	136
Tableau 20: Estimation de la matière sèche dans le grignon d'olive (GOB) avant et après inoculation, aux 10 ^{ème} et 24 ^{ème} jours d'incubation (en pourcentage de matière fraîche)	137
Tableau 21: Fractionnement chimique du grignon d'olive non inoculé (Témoin) ou inoculé par les souches de pleurote POC et POL	141
Tableau 22: Concentration en azote dans les différentes fractions du grignon d'olive inoculés ou non (témoin) par les souches de pleurote POC et POL, aux 10 ^e et 24 ^e jours d'incubation.....	141
Tableau 23: pH initial et pH à la fin d'incubation dans les substrats de culture des deux souches de pleurote	143

Tableau 24: Taux d'humidité (H), de matière sèche (MS) et de cendre (MM) dans les substrats de culture des deux souches de pleurote POC et POL, avant et après inoculation	145
Tableau 25: Dosage des protéines et de la lignocellulose (en % de Matière sèche) dans le grignon d'olive et ses fractions, supplémentés ou non par 10% de paille, après 21 jours d'incubation de POC et POL	146
Tableau 26: Poids moyen des carpophores, diamètre moyen des chapeaux et les longueur et largeur moyennes des pieds (\pm écarts types) des carpophores de POC et POL développés sur les substrats testés	148
Tableau 27: Variable poids des carpophores de POC et POL sur les différents substrats: résultats de l'analyse de Kruskal &Walis pour	151
Tableau 28: Application du test de Dunn pour comparer les poids des carpophores obtenus sur les 7 substrats testés sous l'action de POC et POL	151
Tableau 29: Analyse statistique de Kruskal & Walis pour la variable diamètre moyen du chapeau des carpophores des deux souches de pleurotes développés sur les 7 substrats	154
Tableau 30: Résultats du test de Dunn appliqué aux diamètres moyens des carpophores de POC et POL récoltés sur les 7 substrats testés	154
Tableau 31: Resultats du tes de Kuskal & Walis pour les deux variables longueur et largeur des pieds des carpophores des deux souches de pleurote POC et POL sur les substrats de culture testés	158
Tableau 32: Test de Dunn pour la variable longueur des pieds des carpophores	158
Tableau 33: Test de Dunn pour la variable largeur des pieds des carpophores	159
Tableau 34: Nombre de carpophores formés, des rendements en carpophores par kilogramme de substrat frais et des efficiences biologiques des deux souches de pleurote (\pm écarts types).	163
Tableau 35: Résultats de l'ANOVA de Kruskal & Walis pour l'efficience biologique des deux espèces de pleurote POC et POL sur les sept substrats testés	164
Tableau 36: Test de Dun pour la variable efficience biologique	166

INTRODUCTION GENERALE

L'Algérie, à l'instar des pays du pourtour méditerranéen, est à vocation oléicole. L'industrie oléicole produit chaque année sur une courte période (3 à 5 mois) des déchets, l'un liquide (les margines ou eaux de végétation), l'autre solide, le grignon d'olive. Ce dernier est formé par un agrégat de pulpe d'olive et de noyaux concassés et représente environ 40% des olives triturées. C'est un déchet souvent brûlé en bordure des routes, à proximité des huileries, constituant une source de pollution et de nuisance pour les riverains.

De grandes quantités sont produites à chaque campagne oléicole, et la wilaya de Tizi-Ouzou occupe, en Algérie, la deuxième place après Bejaïa du point de vue superficie oléicole et production d'olives.

L'Algérie produit également un autre résidu solide, nettement moins visible que le grignon d'olive car produit, au quotidien, en quantités moins importante que le grignon d'olive, le marc de café, issu de la consommation de café boisson.

L'Algérie a été classée par l'USDA (United States Department of Agriculture) en 2014, 7^e parmi les pays importateurs de café, avec en moyenne 125 000 tonnes de café importées par an (UGCAA: Union Générale des Commerçants et Artisans Algériens, communication personnelle) et 11^e parmi les pays consommateurs de café. Elle est classée 1^{er} pays consommateur parmi les pays Africains et Arabes. Sachant que le marc de café représente les 3/5^e du café vert (Barbera, 1965), ce sont 75000 tonnes de marc de café qui sont donc jetées, chaque année, dans les poubelles.

Au vu des quantités produites pour chacun de ces déchets lignocellulosiques, il était nécessaire et judicieux de trouver un moyen d'en faire des produits à valeur ajoutée.

La culture de champignons comestibles offre cette possibilité. En effet, selon Mandeel et al (2005), la culture des champignons comestibles sur les déchets lignocellulosiques représente l'un des procédés de recyclage de déchets organiques le plus économiquement rentable.

Il s'agit d'un procédé biotechnologique simple qui permet de faire la bioconversion de résidus lignocellulosiques en carpophores de champignons (Velazquez Cedeño, 2005), aliments délicats et savoureux, dotés, pour la plupart des espèces de champignons comestibles, de vertus thérapeutiques en plus de leur valeur alimentaire (Olivier, 1991; Linquedist et al, 2005; Zahid et al, 2010).

Les champignons comestibles sont recommandés par la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) comme source protéique supplémentaire dans les pays en développement tributaires de céréales (Islam et al, 2009). Les carpophores des espèces de *Pleurotus* se situent entre les légumes de haute qualité et les viandes de moindre qualité (Bano et Rajarathnam, 2010, Babu & Subhasre, 2010) et selon Miles et Chang (1977), la plupart des champignons comestibles se classent au même niveau que la viande et le lait sur le plan de la valeur nutritive potentielle beaucoup plus élevée que la plupart des légumineuses et des légumes.

Après des essais d'isolement de différentes espèces de champignons comestibles ou médicinaux (*Hericium*, *Auricularia*, *Ganoderma*) pas toujours fructueux, nous avons finalement opté pour la culture de deux souches de *Pleurotus ostreatus*, une que nous avons ramassé localement (POL) à Oued-Aissi (Wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie) et isolée au Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux (LPAPV) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), et l'autre d'origine commerciale (POC) (provenant du Laboratoire de Cryptogamie de l'Université Paul Sabatier (UPS) de Toulouse (France) et originaire de la Société Royal Champignon de France). En effet, les pleurotes en particulier le pleurote en huitre (*Pleurotus ostreatus*) figure parmi les champignons les moins exigeants en conditions de culture. A titre d'exemple, contrairement à la culture de *Agaricus bisporus* (champignon de Paris), la culture des pleurotes ne nécessite ni fermentation du substrat, ni terre de gobetage à la fin d'incubation (Hadar et al, 1993).

En effet le pleurote est un champignon saprophyte très compétitif s'implantant facilement sur un substrat rudimentaire, ce qui permet aux amateurs d'en envisager la culture à peu de frais (Fourré, 1990). Cette compétitivité est liée à la libération par les cellules du mycélium d'enzymes capables de s'attaquer à des molécules aussi complexes que la cellulose ou la lignine, d'où son nom de champignon décomposeur primaire ou champignon lignocellulolytique (Durrieu, 1993; Velazquez Cedeño *et al*, 2002).

Nous avons décrit toutes les étapes de la culture, depuis la récolte du carpophore de la souche POL sur son hôte naturel, le ricin, jusqu'aux récoltes suivantes sur le grignon d'olive (GOB) et le marc de café (MC).

Cette thèse constitue un des aboutissements des travaux de recherche sur la valorisation de résidus agricoles par la culture de champignons comestibles initiés depuis

1993 à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (FSBSA UMMTO), dans le cadre de différents projets de recherche:

- **Projet de recherche CNEPRU F1533/01/02/93 intitulé :** Recherche de nouveaux produits à valeur ajoutée, issus des industries oléicoles et destinés à l'alimentation avec le chapitre « Culture des champignons comestibles sur le grignon d'olive» (1993-1997) ;
- **Projet F 1501/03/97:** « Valorisation alimentaire du marc de café par la culture de champignons comestibles (*Pleurotus - Lentinus - Flammulina, ..*) » (1997-2000) ;
- **Projet de recherche PNR III N°AU 49910 :** Valorisation alimentaire et non alimentaire de déchets agricoles et industriels par la culture de macromycètes des peuplements forestiers de la Kabylie (1999-2003) ;
- **Projet de recherche CNEPRU F 00520080016 :** Amélioration de la culture de champignons comestibles et valorisation des résidus de cultures dans un but alimentaire animal (2009-2012).

Nous pouvons citer également quelques mémoires de magister et de master II réalisés à la FSBA (UMMTO) dans le domaine de la valorisation de déchets agricoles par la culture de champignons comestibles, Kadi (1998), Genoune (2007) et Haddad (2014).

Ce travail de thèse qui constitue en Algérie, une première approche dans le domaine de la valorisation de résidus agricoles par pleuroculture en utilisant une souche de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fries) Kummer locale, est divisé en deux grandes parties, A et B:

Partie A : La synthèse bibliographique que nous avons subdivisé en deux chapitres. Le premier chapitre est relatif aux différents substrats que nous avons utilisé au cours de notre expérimentation et à leurs origines à savoir le grignon d'olive, le marc de café, et l'orge et la paille de blé. Le deuxième chapitre est relatif aux champignons auxquels nous nous sommes intéressés et à quelques généralités sur les Basidiomycètes.

Partie B : La partie expérimentale que nous avons réalisée en trois principales étapes :

- la première étape consiste en la production d'inoculum par isolement et/ou multiplication du mycélium dicaryotique prélevé sur les carpophores du pleurote local ou de pré-culture du pleurote commercial, et sélection de milieux de culture

gélifiés le(s) plus favorable(s) à la croissance mycélienne des deux souches de pleurote,

- la deuxième étape consiste en la production de blanc des deux souches de pleurote et la recherche de la maîtrise de sa fabrication, en utilisant les inocula produits précédemment ;
- et la dernière étape consiste en la valorisation du grignon d'olive et du marc de café, en le lardant avec le blanc fabriqué, dans le but de produire des champignons destinés à l'alimentation humaine. Nous avons également cherché à optimiser les rendements.
- Ce sont les cultures de POC et POL sur grignon d'olive qui ont fait l'objet d'études plus approfondies pour des raisons matérielles.

PARTIE A- SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PREMIER CHAPITRE : LES SUBSTRATS DE CULTURE

I. OLIVIER, OLEICULTURE ET GRIGNON D'OLIVE

1- INTRODUCTION

L'olivier est parmi les arbres cultivés connus les plus anciens dans le monde (Kapellakis et al, 2008). Symbole de force, de longévité et de paix (Breton et al, 2006), il existe sur les 5 continents mais sa culture est prédominante dans les pays du pourtour méditerranéens où 98% des oliviers du monde sont concentrés (Sancoucy, 1984, Zervakis *et al*, 1996). En effet la présence de l'olivier est un symbole très marquant des paysages méditerranéens et de leur attrait (Breton et Berville, 2012). Dugelay, en 1954, disait que les géographes et les botanistes étaient unanimes à définir les limites botaniques et climatiques de la région méditerranéenne par celles de l'extension donnée à l'aire de cette essence.

Le but principal de la culture de l'olivier est la production du fruit, l'olive. Il existe un grand nombre de variétés destinées soit à la consommation, après avoir subi des préparations propres à assurer leur conservation, sous forme d'olives vertes ou d'olives noires dites de confiserie, soit à la fabrication de l'huile (Dugelay, 1954).

L'huile d'olive a des valeurs alimentaire et thérapeutique très spéciales (Dugelay, 1954). Cette huile est l'une des plus prisées en raison de ses qualités nutritives et de ses propriétés diététiques permettant, notamment, de réduire le risque de maladies cardiovasculaires (Breton, 2006). Les feuilles de l'olivier, sauvage ou cultivé, utilisées en tisane, ont des propriétés anti-hyperglycémiantes et hypotensives, alors que les polyphénols totaux extraits des feuilles d'oliviers ont des propriétés anti-oxydantes (Arab et al, 2013).

Les régions les plus productives en olives sont en Espagne et en Italie. En Afrique du Nord, les pays producteurs les plus importants sont la Tunisie, le Maroc et l'Algérie.

2- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DE L'OLIVIER

2.1- Les variétés d'oliviers

Selon Terral & Arnold-Simard (1996), dans le bassin méditerranéen, deux types ou groupes d'olivier ont été distingués par Zohary & Spiegel-Roy en 1975:

- le type sauvage, un complexe de formes, l'oléastre, classé conventionnellement comme *Olea europaea* var. *oleaster* DC. ou *Olea europaea* var. *sylvestris* (Hoffmanns et Link) Fiori ou encore selon Breton et Berville (2012), *Olea*

europaea subsp. *europaea* L. var. *sylvestris*. C'est une composante commune des communautés végétales méditerranéennes thermophiles ;

- et les variétés cultivées, l'olivier, classé *Olea europaea* var. *sativa* ou *Olea europaea* subsp. *europaea* L. var. *sativa* selon Breton et Berville (2012), caractérisée, par rapport à l'olivier sauvage, par une augmentation de bois et une meilleure production de fruits, avec des olives à mésocarpe plus charnu et gorgé d'huile.

Il existe actuellement de nombreuses sous espèces à travers le monde (Breton et al, 2006 ; Breton et Berville, 2012). Nous citerons la subsp. *Europaea* qui prédomine dans le pourtour méditerranéen et la subsp. *Laperrinei* ou « olivier du Sahara » appelé également « olivier de Laperrine » qui pousse en plein Sahara entre 1400 et 2800 mètres d'altitude, du Sud de l'Algérie jusqu'au Nord du Soudan, en passant par le Niger (Ignasse, 2013).

L'olivier et l'oléastre coexistent, de nos jours, dans le Bassin Méditerranéen, et l'oléastre est la forme sauvage de l'olivier (cultivé) (Breton et al, 2006 ; Breton et Berville, 2012). Selon Chevalier (1948), l'oléastre algérien serait féral (variété cultivée ensauvagée) alors que pour Trabut (1900) le vrai oléastre et le féral existent tous les deux en Algérie. L'oléastre est appelé Zeboudj ou Azeboudj en Algérie.

L'oléastre se présente sous forme d'un arbuste buissonnant, épineux, à rameaux quadrangulaires, à petites feuilles rondes ou légèrement allongées et à petits fruits ronds qui contiennent peu d'huile. Il est assez répandu dans les maquis des régions méditerranéennes et forme même de vraies forêts en Espagne, en Algérie et en Asie Mineure (www.afidol.org).

L'olivier se présente sous forme d'un arbre de 5 à 10 m de haut, capable de dépasser les 15 mètres (Dugelay, 1954). Il est facilement reconnaissable à l'aspect tortueux de son tronc, à ses feuilles de forme oblongues à ovales-lancéolées, opposées et à ses fleurs regroupées en petites inflorescences en forme de grappes dressées, naissant à l'aisselle des feuilles (Arab et al, 2013). Il s'appelle Thazemourth en Kabyle. Selon Trabut (1900) ce mot n'a pas d'équivalent dans les autres pays producteurs d'huile d'olive.

Il existe plus de 30 espèces (Kapellakis et al, 2008) et plus de 700 variétés d'oliviers à travers le monde (Hammami, 2013). Boukhari, en 2014, a rapporté les principales variétés cultivées citées par le CIO (Conseil Oléicole International). C'est l'Espagne et l'Italie qui

en possèdent le plus. Pour l'Algérie seules 5 variétés ont été citées : Chemlal (fig.1), Sigoise, Azaradj, Limli et Blanquette de Guelma.



Figure 1: *Olea europaea* var. chemlal

2.2- Taxonomie de l'olivier

L'olivier est classé dans la famille des Oleaceae et la tribu des Oleineae (Caruso, 1883) dont *Olea* est le seul genre à fruits comestibles (www.afidol.org). Selon la classification de Cronquist (1988), l'olivier appartient à l'ordre de Scrophulariales et celle de APG II (Angiosperms Phylogeny Group) en 2003, le place dans l'ordre des Lamiales.

Classification de l'olivier selon Cronquist (1988) (*) et APG II (2003) (**):

Règne :	Plantae	
Sous règne :	Tracheobionta	
Division :	Magnolophyta	
Classe :	Magnolopsida	
Sous classe :	Asteridae	
Ordre :	Scrophulariales (*)	O : Lamiales (**)
Familles :	Oleaceae	F : Oleaceae
Tribu :	Oleineae	
Genre :	<i>Olea</i> .	
Espèce :	<i>Olea europaea</i> L.	
Sous-espèce1:	<i>Olea europaea</i> L. ssp. <i>Oleaster</i> Hoffm.et Link	(l'Oléastre)
	= <i>O. europaea</i> L. ssp. <i>Sylvestris</i> L. (Miller) Lehr	
	= <i>O. europaea</i> subsp <i>europaea</i> var. <i>Sylvestris</i> (L.) (Mill.) Lehr	
Sous-espèce2:	<i>Olea europaea</i> L. ssp. <i>Sativa</i>	(l'Olivier)
	= <i>O. europaea</i> L. ssp. <i>europaea</i>	
	= <i>O. europaea</i> subsp <i>europaea</i> var. <i>Sativa</i> (L.)	

2.3- Cycle de développement de l'olivier

L'olivier se distingue des autres espèces fruitières par sa très grande longévité pouvant donner des arbres plusieurs fois centenaires. Il existerait, en Algérie, à Chechar dans la wilaya de Khenchela des oliviers qui auraient été plantés aux temps des romains et qui continuent à produire (Benouafa, 2014).

Au cours de la vie d'un olivier, on peut distinguer 4 périodes: juvénile (1-7 ans), entrée en production (7 à 35 ans), période adulte (35 à 150 ans) et sénescence (au-delà de 150 ans) (www.afidol.org).

Si le tronc disparaissait par vieillissement, des rejets vont se développer à sa base et assureront sa pérennité en redonnant un nouvel arbre.

2.4- Le fruit de l'olivier : l'olive

L'olive est le fruit de l'olivier (fig.2). C'est une drupe à peau lisse, cireuse (épicarpe), à mésocarpe charnu, riche en matière grasse (pulpe), renfermant un noyau ligneux (endocarpe) qui contient une graine (amandon) (fig.3).



Figure 2: Olives de la variété Chemlal

Sa forme ovoïde est typique. Sa couleur verte, vire au violet puis au noir à maturité complète chez la plupart des variétés. Cette maturité est atteinte entre octobre et décembre.

Selon la destination finale du fruit, on distingue trois types d'olives, à huile, de table ou mixtes (Villa, 2003). La variété Chemlal (fig.2) est l'exemple d'olives à huile. Comme olives de tables il y'a la variété Gordal ou Sévillane (originaires d'Espagne). Comme olives mixtes, il y'a les variétés Sigoise, Azaradj et Bouchouk.

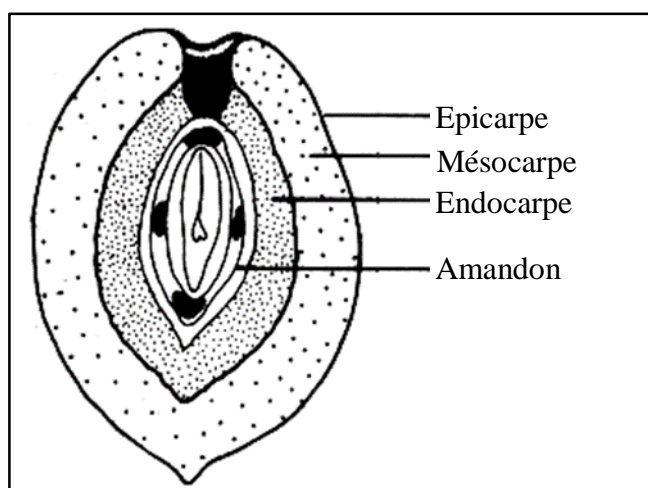


Figure 3: Section transversale d'une olive (Source: Sansoucy, 1984)

La composition chimique des différentes parties de l'olive est donnée dans le tableau 1.

Tableau 1: Composition chimique des principales parties de l'olive

Constituants	Pulpe (%)	Noyau (%)	Graine (%)	Source
Eau	50,060,0	9,3	30,0	Azbar et al, 2004
Huile	15,030,0	0,7	27,3	
Matières azotées	2,005,00	3,40	10,20	
Glucides	3,007,50	41	26,60	
Cellulose brute	3,006,00	38,0	1,9	
Minéraux	1,002,00	4,10	1,5	
Polyphénols	2,002,25	0,10	0,501,00	
Autres composés	-	3,4	24	

2.5- Exigences pédoclimatiques de l'olivier

La grande rusticité de l'olivier lui permet de se développer et de fructifier sous des conditions de climat subaride et sur des sols parfois très pauvres (Chevalier, 1948). L'olivier s'accommode de terrains pierreux et secs et apprécie particulièrement les sols calcaires.

L'olivier craint le froid. En période de repos végétatif, l'olivier peut supporter des températures de l'ordre de -10°C à -15°C . Avec des températures plus basses, l'olivier pourra souffrir et geler. Selon son âge et la profondeur de son système racinaire, il pourra, par la suite, se régénérer.

L'olivier, par contre, est apte à supporter des températures élevées si l'apport en eau est satisfaisant. Cependant des taux d'humidité ambiante élevés favorisent le développement de certains parasites. De ce fait, la culture de l'olivier n'est pas adaptée à la proximité immédiate de la mer (Trabut, 1900).

3- LE SECTEUR OLEICOLE EN ALGERIE

En Algérie, l'olivier est emblématique des zones montagneuses du nord de l'Algérie et des plaines de l'Oranie. En effet, 80% des vergers oléicoles algériens sont implantés dans des régions enclavées, sur des terrains escarpés, presque inaccessibles (40% des superficies ne sont pas du tout mécanisables) et à faible valeur agricole, mais bénéficiant d'une moyenne pluviométrique annuelle favorable qui se situe entre 400 et 900 mm de pluie/an (Benouafa, 2014).

3.1- La Politique du Renouveau Agricole et Rural (PRAR)

Les rendements en huile d'olive sont assez aléatoires et fluctuent d'une année à l'autre au grès des conditions climatiques (Hadjou et al, 2013). Pour l'année oléicole 2006/2007, l'Algérie a occupé la 8^{ème} place parmi les pays producteurs d'huile d'olive, avec une production en huile estimée à 1% de la production mondiale (Lazzeri, 2009). Durant la campagne oléicole 2008/2009 le niveau de production s'est amélioré et a pu atteindre 108 000 T d'huile d'olive (22% de la production totale des olives) soit 5% de la production mondiale estimée à 2 060 000 T (Benouafa, 2014).

Selon Bensemmane (2009), l'Algérie est consciente que la culture de l'olivier peut être mieux développée et ne représente aujourd'hui qu'un tiers de ses capacités.

Le diagnostic de la situation globale du secteur agricole algérien entrepris en 2008 a permis de réaliser un bilan des politiques de développement agricole menées depuis l'indépendance (1962). Cette analyse a débouché sur la définition de la Politique du Renouveau Agricole et Rural (PRAR). En effet, suite à l'adoption de la loi d'orientation agricole de 2008 (loi qui apporte notamment une réponse au problème du foncier agricole), le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) a engagé, à partir de 2009, la PRAR, dans le but d'améliorer la sécurité alimentaire de la population algérienne, de promouvoir un développement économique durable et d'améliorer les conditions de vie et de travail des populations rurales. Les objectifs de production fixés, alors, à l'horizon 2014, dans les contrats de performance pour la filière oléicole sont :

- la production de 5,5 millions de quintaux d'olive,
- l'organisation de la filière,
- l'amélioration de la productivité et de la qualité de l'huile,
- la modernisation des unités de transformation et de stockage,
- l'extension de l'olivieraie par l'augmentation des surfaces plantées.

3.2- Les surfaces oléicoles

L'extension de l'oléiculture sur tout le territoire algérien s'est traduite par la mise en place d'un programme spécial pour le développement de l'oléiculture en intensif, dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Benouafa, 2014) et par un triplement des plantations d'oliviers durant les dix dernières années. En termes d'équivalents plants, entre

2000 et 2012, le chiffre est passé de 16,8 millions de plants en 2000 à 48 millions de plants à la fin 2012 ; on comptait déjà 9 à 10 millions d'oliviers cultivés vers 1930 et qui fournissaient chaque année 1,5 à 2 millions de quintaux d'olives (Belkessam, 2012).

En termes de superficie, l'oléiculture occupe aujourd'hui 389 000 ha environ, soit 38,70% de la surface arboricole algérienne. Sur les 1541 communes que compte l'Algérie, 1336 font de l'oléiculture dont 120 au sud, 351 dans les hauts plateaux, 418 en zones de montagne et 447 dans les plaines et le littoral (Haider, 2012).

En 2013/2014, la production en olives a dépassé les objectifs de production fixés en 2008 et a atteint 5 832 885 q dont 4 029 546 q d'olives à huile et 1 803 339 q d'olives de table (Ministère de l'Agriculture Algérien).

La figure 4 représente la distribution actuelle des surfaces oléicoles à travers les différentes wilayas en Algérie.

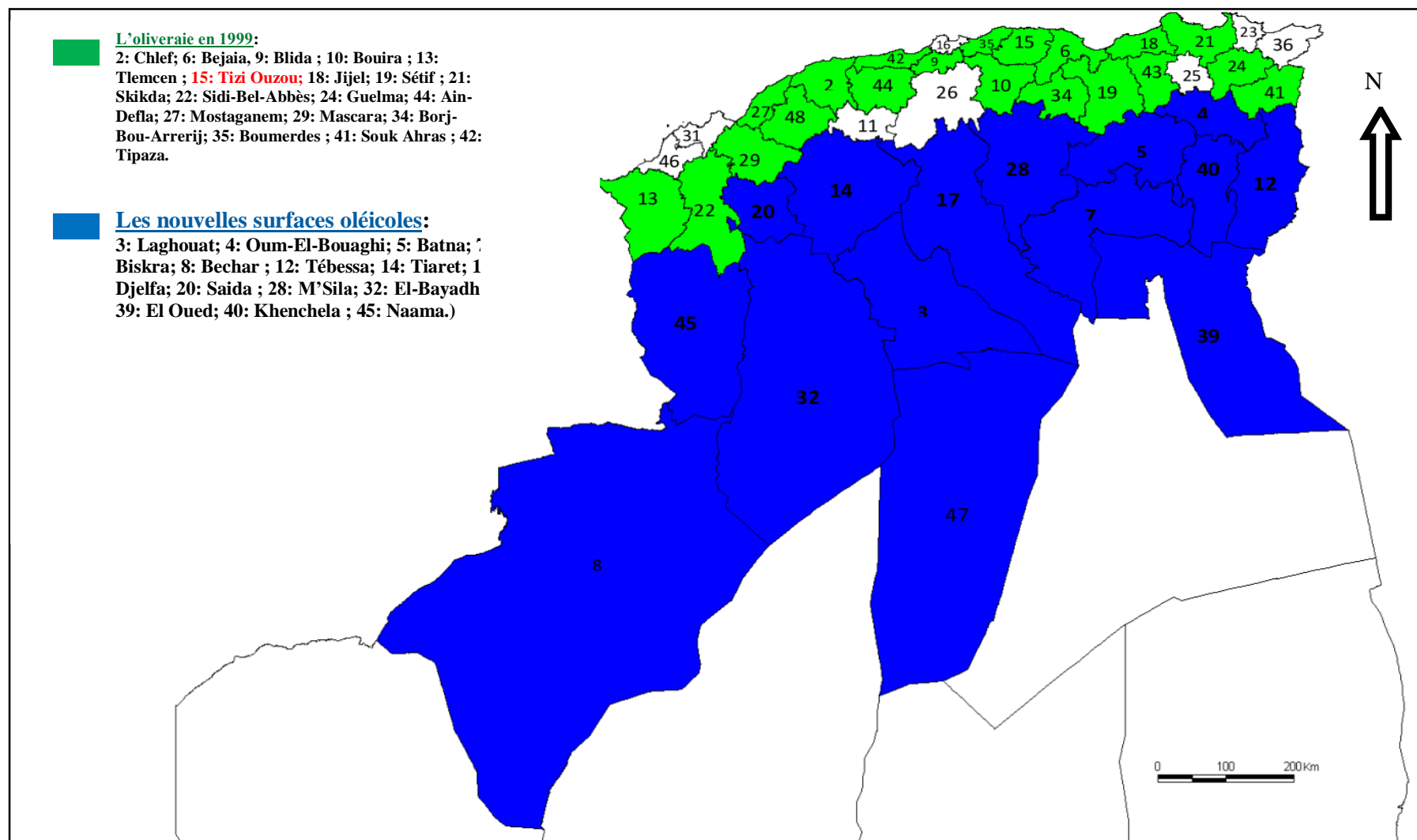


Figure 4: Carte oléicole de l'Algérie (Source Boukhari, 2014)

3.3- Les unités de trituration et de confiserie

En termes d'huileries, en 2008, l'Algérie disposait d'environ 1532 huileries dont 276 à chaînes continues (c.-à-d. à système d'extraction d'huile à trois phases) alors qu'en 1999, elle n'en possédait que 186 huileries de ce type (Mendil, 2009), les autres sont des huileries traditionnelles pour la majorité (80%) et des huileries avec presse ou super-presse. Concernant le système de séparation à 2 phases, utilisé surtout en Espagne, Moussouni, en 2009, a estimé que la discussion autour de cette question n'était pas opportune.

En 2008, il existait 225 unités de conditionnement ou confiserie pour l'olive de table, contre 45 unités en 2002 (Mendil, 2009).

3.4- Les variétés d'oliviers en Algérie

Sur les 48 wilayas algériennes (Fig.4), trois wilayas situées au centre de l'Algérie, à savoir Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira sont réputées pour la production d'huile d'olive. Les wilayas de Mascara et Relizane, situées à l'ouest, sont réputées pour la production de l'olive de table et c'est Relizane (avec la commune de Sig) qui est 1^{re} productrice de ce type d'olive (Laribi, 2009).

Au centre et à l'Est prédominent les variétés Hamma (pour la confiserie), Chemlal, Azeradj, Bouchouk, Rougette (Mitidja et Guelma) et Blanquette (de Guelma) et Limli (pour l'extraction d'huile) ; à l'Ouest, les variétés Sigoise (locale, pour la confiserie et l'huile) et, Verdial, Cornicabra et Gordal (Sévellane) (originaires d'Espagne), sont les plus cultivées (Algérie E.108/Doc. n°4, 2006).

4- LE SECTEUR OLEICOLE DANS LA WILAYA DE TIZ-OUZOU

4.1- Brève présentation de la wilaya

Le nom Tizi-Ouzou se traduit par « Col des genêts ». Cette appellation est due à l'abondance du genêt (arbrisseau épineux à fleurs jaunes). C'est une zone montagneuse à pente très forte; 80% de la superficie de la zone présente une pente supérieure à 25% (OPAT (Service de l'Organisation de la Production et de l'Appui Technique), 2009).

La wilaya de Tizi-Ouzou est située à 100 km à l'Est d'Alger et est limitée au Nord par la Méditerranée, à l'Est par la wilaya de Béjaïa, au Sud par la wilaya de Bouira et à l'Ouest par la wilaya de Boumerdes (fig.4- 6).

D'une superficie de 2994 km², la wilaya est composée de 21 daïras qui regroupent un total de 67 communes (fig.6). Le nombre d'habitant est de 1127166 (ANDI : Agence Nationale de Développement de l'Investissement, 2013).

Au sud se trouve le massif du Djurdjura sur lequel se dresse le mont de Lalla Khedidja qui culmine à 2 308 m.

Le climat de cette région relève du régime méditerranéen, sec et chaud en été, et assez froid et humide en hiver (www.tiziouzou-dz.com).

La surface agricole utile (SAU) est de 98 721 ha (987,21 km²) et correspond à 38% de la surface agricole totale. Le nombre d'exploitation agricoles est de 66 560 dont 95% appartiennent au secteur privé. Soixante dix sept pourcent (77%) de ces exploitations sont petites et ne dépasse guère les 2 ha de la SAU (OPAT, 2009).



Figure 5: Limites géographiques de la wilaya de Tizi-Ouzou

(Source : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Bibans>)

4.2- Situation de l'oléiculture

4.2.1- Variétés d'olivier et répartition spatiale

L'analyse de l'implantation de l'olivieraie dans la wilaya de Tizi-Ouzou fait apparaître deux types de régions :

- les régions à faible potentiel oléicole : situées face maritime de la chaîne côtière, et aux sommets du massif forestier du Djurdjura,
- les régions à fort peuplement d'oliviers : située sur le versant sud de la chaîne côtière, et dans la partie basse du massif de la Grande Kabylie et les zones Sud - Ouest de la wilaya.

En 2009, la wilaya de Tizi-Ouzou possédait 3 millions d'oliviers, répartis sur 33027 ha dont 27 757 en rapport. Cette surface représente 70% de la surface arboricole totale et 36% de la SAU.

La répartition de la surface oléicole entre les différentes communes regroupées en daïras n'est pas homogène. Les surfaces oléicoles les plus importantes, respectivement 5179 ha et 5413 ha, se trouvent dans les daïras de Boghni et de Maatkas (Fig.6).

Les variétés d'olivier dominantes sont Chemlal pour environ 90% et Azaradj pour les 10% restants. La variété Chemlal se présente sous forme d'un arbre robuste et rustique d'adaptation facile au milieu. Son olive est petite et pèse en moyenne 2,50 g mais donne une huile abondante, fine et d'extraction facile (OPAT, 2009).

Les vergers d'oliviers sont en général issus de greffage d'oléastres.

4.2.2- Conduite culturale

Le verger oléicole de la wilaya de Tizi-Ouzou rencontre de nombreux problèmes : il est planté « un peu n'importe comment » (OPAT, 2009) ; l'élagage est généralement mal fait ; la récolte des olives se fait par gaulage, ce qui détruit les nouvelles pousses; il y'a un vieillissement de l'olivieraie (la majorité des oliviers ont plus de 70 ans); les oliviers se situent dans des endroits enclavés, sur des reliefs accidentés, inaccessibles. Les arbres sont généralement dispersés à travers les champs, mélangés à d'autres arbres et la culture extensive est empirique. S'ajoutent, à tous cela, des problèmes phytosanitaires (cas de la mouche de l'olivier) (OPAT, 2009).

4.3- Production oléicole

Dans le tableau 2 sont regroupées les productions en olives et huile d'olive pour quelques récentes compagnes oléicoles.

Tableau 2: Productions oléicoles de la wilaya de Tizi-Ouzou

Compagne oléicole	2007/2008	2008/2009	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Superficie totale (ha)	32 971	33 027	33 105	33 722	34 315
Superficie en rapport (ha)	27 657	27 369	28 709	28 400	28 621
Production en olives (q)	263 940	743 120	179 230	506 637	28 8000
Production en huile (hl)	41 455	1 354 423	32 280	90 356	49 000
Rendement en olives (q/ha)	9,54	27,15	6,24	17,84	10,06
Rendement en huile (hl/ha)	1,50	5,32	1,12	3,18	1,71
Rendement en huile (q/ha)	0,44	4,89	0,33	0,92	0,50
Taux d'extraction d'huile	17 à 18%				
Sources : Organisation de la Production et de l'Appui Technique (2009); Direction des Services Agricoles de la Wilaya de Tizi-Ouzou (2013).					

Remarque : 1 litre d'huile pèse 920 g

Les rendements en huile d'olive sont aléatoires et dépendent fortement des conditions climatiques. Les rendements de la campagne oléicole 2007/2008 (0,44 q/ha) ont été considérés comme catastrophiques et ceux de 2011/2012, avec 0,33 q/ha, ont été pires.

C'est en 2008/2009 que les rendements ont été considérés comme exceptionnels avec des rendements en olives estimés à 27q d'olives/ ha, correspondant à 489 kg d'huile d'olive/ha. Ces résultats sont dus, selon l'OPAT, à une pluviométrie qui avait coïncidé avec la période active de l'arbre (Mars à Avril) à laquelle s'étaient probablement ajoutés les effets de repos des arbres la saison précédente (peu d'olives, par conséquent réduction du gaulage et de l'élagage).

Le rendement d'extraction de l'huile, quant à lui, a été meilleur pour l'année 2014/2015 avec 20 litres par quintal malgré un faible rendement en olive estimé à 12-13 quintaux d'olives par hectare (Service de l'Agriculture, wilaya de Tizi-Ouzou).

4.4- Parc oléicole

Le parc oléicole de la wilaya de Tizi-Ouzou est composé, en 2009, de 405 huileries dont 311 à système d'extraction discontinu à presse (réparties en huileries traditionnelles avec une pression ne dépassant pas les 80 kg/cm², des huileries classiques avec une pression de 180 à 200 kg/cm² et des huileries équipées de super-presses avec une pression de 250 à 400kg/cm²) et 94 modernes à système d'extraction continu par centrifugation avec séparateur à 3 phases (OPAT, 2009).

4.5- Les systèmes d'extraction de l'huile d'olive.

La technologie d'extraction de l'huile d'olive utilisée est variable et a fait l'objet d'importantes modifications durant les dernières décennies. Il existe principalement deux procédés, un procédé en discontinu et un procédé en continu (fig.7). Ces procédés se déroulent en deux opérations (CAR/PP, 2000), l'opération de réception et l'opération de pressage et d'extraction.

4.5.1- Opération de réception

Communes à tous les types d'huilerie, cette opération consiste en l'effeuillage et le lavage des olives réceptionnées à l'huilerie; la seule différence réside dans les degrés de perfectionnement et d'automatisation avec lequel elle est réalisée.

4.5.2- Opération de pressage et d'extraction

Les huileries ont en commun le broyage et le malaxage des olives. Les différences résident dans le système de séparation des différentes phases de la pâte d'olive.

Broyage : Le broyage des olives, dans le cas des huileries traditionnelles à presse, est réalisé par des meules en pierre de granit qui tournent dans un bac dont le fond est également en pierre. Par contre, les huileries modernes à système continu, utilisent des broyeurs mécaniques à disques ou à marteaux. Ces broyeurs peuvent travailler en continu, la pâte étant obtenue presque instantanément.

Malaxage : Des raclettes ramènent en permanence la pâte sous les meules qui jouent alors le rôle de malaxieuses. La pâte est obtenue au bout d'une demi-heure environ. Le malaxage a pour but de réunir les gouttelettes d'huile, ce qui facilite l'extraction de l'huile (Mouton, 2012) et optimise les rendements d'extraction (Roussos et al, 2009).

Séparation des phases liquides et solide : La séparation des phases liquides grasse (huile) et aqueuse (eaux de végétation ou margines) et de la phase solide (grignon ou tourteaux ou encore marc d'olive) se fait différemment selon le type de système utilisé (fig.7).

4.5.2.1- Système discontinu à presse

Dans le cas du système discontinu à presse, la pâte d'olive obtenue après malaxage, est placée en couches d'une certaine épaisseur sur des disques en fibre de nylon (les scourtins), eux-mêmes empilés les uns sur les autres autour d'un pivot central (appelé aiguille) monté sur un petit chariot. L'ensemble est placé sur un piston de presse hydraulique qui permet de faire subir à la pâte une pression de l'ordre de 100 kg/cm². La phase liquide s'écoule dans un bac. Le grignon resté sur les scourtins est ensuite récupéré et jeté.

La récupération de l'huile se fait après décantation naturelle. L'huile ayant une densité inférieure à celle de l'eau (0,920 g/litre) remonte à la surface.

4.5.2.2- Système continu

Système continu à trois phases: apparu dans les années 70 (Chimi, 2006), la séparation de l'huile se fait par centrifugation à l'aide d'une centrifugeuse horizontale appelée « décanteur », qui effectue un travail en continu. Le résultat de l'opération est l'obtention de l'huile et des deux résidus, les margines et le grignon (appelées respectivement alpechin et orujo en Espagne) (fig. 7).

Sa consommation en eau est supérieure à celle du système traditionnel avec environ 100 à 130 litres d'eau/100kg d'olive (CAR/PP, 2000)

Système continu à deux phases : apparu dans les années 90 en Espagne (Ramos-Cormenzana et al, 1995, Morillo et al, 2009), c'est une variante du système à trois phases. Ici, le décanteur sépare l'huile du mélange grignon-margines de consistance pâteuse appelée grignon humide ou grignon à 2 phases (fig.7) ou encore margion (Roussos et al, 2009). En Espagne il est appelé alperujo.

La consommation d'eau se limite à l'eau utilisée pour laver les olives. C'est un système qualifié d'écologique.

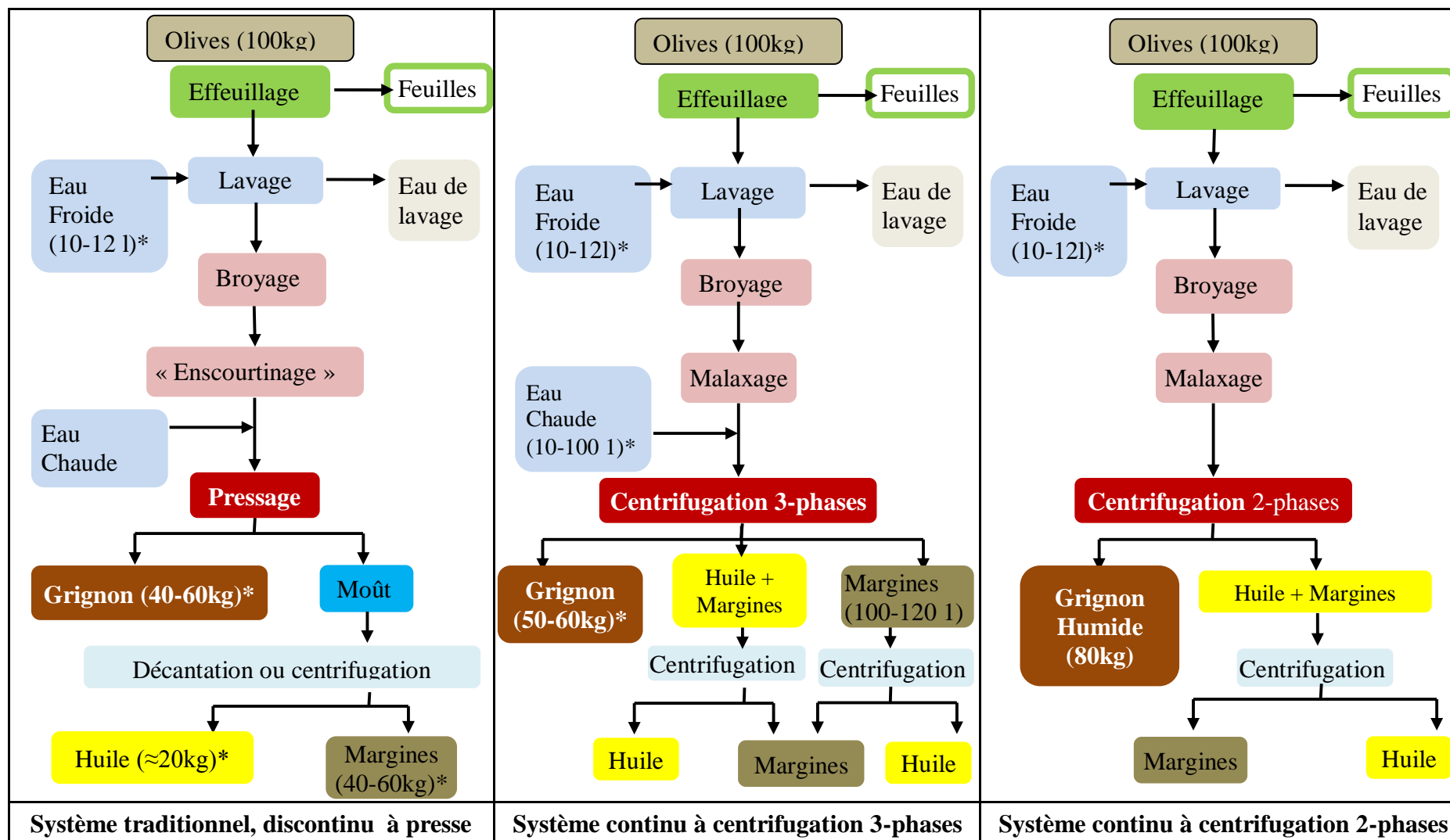


Figure 7: Les trois systèmes d'extraction de l'huile d'olive

(Source: CAR/PP, 2000 (*) et Chimi, 2006)

4.5.3- Les sous-produits de l'industrie oléicole

Il y a deux types de sous-produits liés à l'oléiculture, les résidus de la taille des arbres et de la récolte des olives (grosses branches, ramilles et feuilles) et les sous produits de l'huilerie (grignons d'olive et margines) (Sansoucy, 1984),

L'industrie oléicole engendre donc, en plus de l'huile comme produit principal, de grandes quantités de sous-produits. Ces résidus représentent environ 80 % du poids des fruits traités (Theriez & Boule, 1970).

Selon Chimi (2006), le décanteur 2 phases économise la fraction d'huile qui était perdu dans les margines dans le système à presse et le système 3 phases décanteur (tab. 3). Il estime que les pertes totales en huile passe de 5-8 kg d'huile/100 kg d'olives dans le système à presse à 3-5 kg/100 kg d'olives dans le décanteur 3 phases et 2-3 kg/100 kg d'olives dans le décanteur 2 phases. En outre, l'huile obtenue avec le système décanteur 2 phases est de meilleure qualité car riche en polyphénols totaux et en ortho-diphénols qui assurent une meilleure qualité organoleptique et une meilleure conservation (résistance à l'oxydation), en plus de la réduction de la consommation d'eau (tab.3).

Tableau 3: Rendements en huile d'olive et caractéristiques des sous produits obtenus avec les différents systèmes d'extraction

Détermination	Système super-presses	Décanteur 3 phases	Décanteur 2 phases
Capacité d'extraction de l'huile en %	84,50	85,50	86,10
Grignon			
Quantité (kg/100 kg d'olive)	45,50	57,50	75,50
Humidité (%)	35,50	55,40	57,30
Huile (kg/100 kg d'olives)	5,40	2,00	2,70
Margines			
Volume (litres/100kg d'olives)	75,00	90,00	3,60
Huile (kg/100 kg d'olives)	2,40	1,05	0,06
Source : Chimi (2006)			

5- LE GRIGNON D'OLIVE

5.1- Définition

Le tourteau ou marc d'olive, plus communément appelé grignon d'olive, est le résidu solide, issu de la première pression ou centrifugation et est constitué des pulpes et des noyaux d'olives concassés (Nefzaoui, 1991).

5.2- Composition physique du grignon d'olive

Le grignon d'olive est constitué de la pellicule du fruit (épicarpe) et la pulpe broyée qui contenait l'huile (mésocarpe), de la coque du noyau concassé (endocarpe) et de l'amandon (la graine) écrasée (Theriez & Boule, 1970). La composition physique du grignon d'olive est donnée dans le tableau 4.

Tableau 4: Caractéristiques physiques du grignon d'olive brut

Fraction du grignon	Épicarpe + Mésocarpe	Endocarpe	Amandon	Eau	Huile résiduelle
Pourcentage	42,30	21,20	3	25	9,5
Source : Feretti & Scalabre, 1978					

5.3- Composition chimique du grignon d'olive

La composition chimique du grignon d'olive (tab.5) dépend étroitement de la variété d'olive, du degré de maturation des olives et du système employé lors de l'extraction de l'huile d'olive (Nefzaoui, 1991).

Tableau 5: Caractéristiques chimiques du grignon d'olive brut

Composant	Pourcentage dans le grignon				
Matière Sèche(MS) (en % de Matière Fraîche)	75–80	70	74	–	–
Teneur en protéines brutes (% MS)	5–10	–	4,66	–	–
Teneur en cellulose brute (% MS)	32–47	47,60	47,60	–	–
Cellulose (% MS)	–	–	–	33,42	34,25
Hémicellulose (% MS)	–	–	–	22,61	12,40
Lignine (% MS)	–	–	–	–	23,36
Matières grasses (%MS)	8–15	8,10	–	4,33	3,47
Matières minérales (%MS)	3–5	3,70	–	2,41	3,01
pH	–	–	5,26	–	–
Source	Nefzaoui (1983 ; 1988)	Chaabane et al 1997	Salhi-Mohand Oussaid (2004)	Djadouf et al (2011)	Chemani (2013)

Selon Amici et al. (1991), le tamisage et le déshuilage peuvent améliorer la qualité du grignon, néanmoins, il reste toujours pauvre en protéines, d'autant plus que selon Nefzaoui (1983), 80 à 90 % des protéines restent non disponibles car liées à la fraction pariétale lignocellulosique.

6- VALORISATION DU GRIGNON D'OLIVE

Les déchets de l'industrie oléicole représentent un problème environnemental important dans les pays du pourtour du bassin méditerranéen où ils sont générés sur une courte période (3 à 5 mois). Leur forte concentration en phénols, en lipides et en acides organiques, en font des matériaux phytotoxiques (Roussos et al, 2009) mais ces déchets contiennent également des éléments non négligeables comme la matière organique et une large gamme de nutriments qui peuvent être recyclés (Ramos-Cormenzana et al, 1995, Roig et al, 2006, Rodríguez et al, 2008).

De nombreux chercheurs (Ramos-Cormenzana et al, 1995, TDC Olive, 2004, Fernández-Bolaños et al, 2006, Roig et al, 2006, Morillo et al, 2009, Duarte et al, 2011, Dermeche et al, 2013, Hamid et al, 2013) ont passé en revue les valorisations possibles des résidus de l'industrie oléicole, synthétisées dans la figure 8.

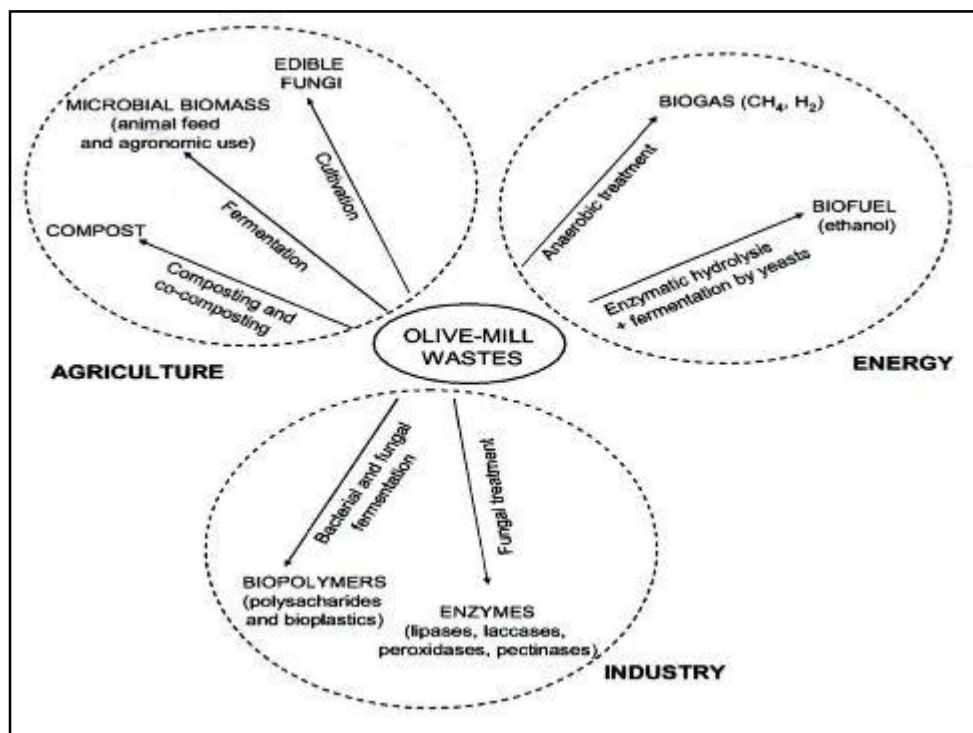


Figure 8: Usages et valorisations potentiels des résidus de l'industrie oléicole

(Source: Morillo et al, 2009)

Les déchets peuvent être convertis en produits commerciaux (Laufenberg et al, 2003). Le grignon d'olive est souvent utilisé comme combustible ou pour extraire l'huile résiduelle. Il est également utilisé, à l'état brut ou sous forme de compost, en épandages dans les oliveraies afin de prévenir l'érosion et améliorer la qualité du sol (Zervakis et al 1996; Zervakis et al. 2001; Roig, 2006; Arvanitoyannis et Kassaveti, 2007; Khatib et al 2010, , Caputo et al, 2013, Killi & Kavdí, 2013, Nasini et al, 2013).

Il a été également testé dans l'alimentation des ovins (Theriez & Boule, 1970; Rouina, 1986 ; Molina & Aguilera, 1991) et dans l'alimentation des lapereaux (Ben Rayana, 1994; Chaabane et al, 1997; Rupić et al, 1999).

Des essais d'incorporation du grignon d'olive dans la fabrication des briques (Djadouf et al, 2011) et de tuiles en terre cuite (Chemani, 2013) dans le but d'améliorer leurs propriétés physico-mécaniques ont été réalisés. Le grignon d'olive a été aussi utilisé dans le ciment mortier de chaux pour améliorer l'isolation thermique (Barreca & Ficher 2013).

Le grignon d'olive a été également testé pour la fabrication du charbon actif destiné au traitement des eaux contaminées par les colorant de textiles (Akar et al, 2009, Boumaza

et al, 2012, Kaouah et al, 2013) et par différents métaux lourds comme par exemple le fer (Nieto et al, 2010, Hodaifa et al, 2014), les ions nitrites (Zyoud et al, 2015).

Il est également utilisé comme source de composés bioactifs (Rodríguez et al, 2008, Esteve et al, 2015) et pour la production de bioéthanol (Cuevas et al, 2015) et de biofuel (Sanchez, 2015).

Le grignon d'olive a été également utilisé comme substrat pour la fermentation solide dans le but de produire des champignons comestibles (Zervakis et al, 1996; Lakhtar, 2009; Mansour-Benamar & Chavant, 2010 ; Mansour-Benamar et al, 2010; 2013).

II. CAFEIER, CAFEICULTURE ET MARC DE CAFE

1- INTRODUCTION

Le café est la deuxième boisson la plus consommée au monde après le thé (Daviron et Lerin, 1990) ; c'est une boisson populaire (Charrier, 1982), conviviale par excellence (Huyghe, 2014), consommée à toute heure de la journée et en toute circonstance. Grâce à l'action stimulante d'un alcaloïde qu'il renferme, la caféine, le café renforce la vigilance du consommateur (Gokulakrishnan et al, 2013) et agit sur le système nerveux central (Ky, 2013).

Le café aurait reçu ce nom de la province de Kaffa en Ethiopie d'où l'arbre (caféier) est originaire (Cramer, 1957; Daviron et Lerin, 1990).

Les grains de café verts négociés sur le marché mondial sont, en fait, les graines du caféier, récupérées à l'issue du traitement des fruits (Mussatto et al, 2011b), des drupes rouges appelées, généralement, cerises de café (Prévot, 1964).

Le café est classé premier produit agricole d'exportation et deuxième, après le pétrole, sur le marché mondial des matières premières exportées (Charrier, 1982 ; Daviron et Lerin, 1990). Cependant la production commerciale du café s'appuie sur deux espèces uniquement, *Coffea arabica* Linné. et *C. canephora* Pierre variété robusta, alors qu'il existe une centaine d'espèces de caféiers (Lashermes & Anthony, 2007; Jha et al, 2011).

Coffea arabica L. est couramment appelé «café arabica» ou « café d'Arabie » ou simplement «l'Arabica» et *C. canephora* var. robusta est lui aussi appelé « café robusta » ou « le Robusta ». Costentin & Delaveau (2010) désignent *C. canephora* par la variété en utilisant l'appellation «*C. robusta*». Le robusta est également appelé « café Congo » en raison de son origine (le bassin du Congo en Afrique).

Contrairement à *C. arabica*, le caféier robusta n'a pas besoin de croître à haute altitude, exige moins de soins car plus rustique (d'où son nom de robusta) ; il est moins sensible aux parasites et aux manipulations brutales (Coste, 1989), de plus, il est plus productif (Tab.6).

L'industrie du café laisse derrière elle de nombreux résidus, la pulpe, la parche, la pellicule argentée et en dernier lieu le marc de café. Au vue des grandes quantités produites, ces résidus méritent, d'être valorisés, de préférence là où ils sont produits.

2- BREF APERÇU SUR L'HISTOIRE DU CAFÉIER ET DE LA CAFÉICULTURE

La première espèce de caféier introduite dans l'agriculture tropicale est *C. arabica* L. qui était le seul type planté pendant plus d'un siècle et demi (Cramer, 1957).

C'est donc en Ethiopie, son pays d'origine que cette culture a commencé, mais des populations sauvages de *C. arabica* L. ont été également signalées au Sud du Soudan et au Nord du Kenya (Anthony et al, 1987).

L'histoire du caféier et de sa dispersion à travers le monde a été rapportée (quoique parfois d'une manière assez confuse, avec des dates pas toujours concordantes) par de nombreux chercheurs, Cramer (1957), Martin (1969/70), Charrier (1982), Jeanguyot et al. (2003), Lecolier (2006), Costentin & Delaveau (2010), Gisaro (2013,) pour ne citer que ceux-là.

L'expansion du caféier Arabica aurait commencé par son transfert de Kaffa en Abyssinie (actuelle Ethiopie) vers la Péninsule Arabique (Actuel Yémen) puis de là vers d'autres pays à travers le monde.

Son introduction au Yémen se situerait au XIVE siècle selon Raoul & Darolles (1897) et le secret de sa culture aurait été gardé pendant longtemps par le monde arabe qui, jusqu'à la fin du XVIIe siècle, avait maintenu le monopole sur le café en interdisant la vente des graines (<http://awedri.com/cafe/>). Son expansion, à partir du Yémen n'aurait débutée qu'au XVIIe siècle.

La plupart des récits disent que les Hollandais auraient introduit le caféier arabica au Ceylan (actuel Sri-Lanka) en 1658, puis à Java (en Indonésie) et de Java au Jardin Botanique d'Amsterdam en Hollande vers le début du XVIIIe siècle pour Martin (1969-1970), en 1706 pour Jeanguyot et al. (2003), en 1710 pour Cramer (1957) ; et, ce serait à partir du Jardin Botanique d'Amsterdam, que le caféier aurait été disséminé à travers le monde.

La France avait reçu en 1713, un pied de caféier dont le botaniste Antoine de Jussieu avait fait la première description botanique. Il l'avait appelé improprement *Jasminum arabicum laurifolia* (le jasmin d'Arabie) à cause de ses fleurs et de leur parfum qui rappellent le jasmin d'Espagne (Costentin & Delaveau, 2010).

En 1715, le caféier était introduit de Moka (Yémen) à l'île de Bourbon (actuelle île de la Réunion) (Martin, 1969-1970).

Le caféier remis à A. de Jussieu a été multiplié puis introduit aux Antilles vers 1723 (Grandjean & Tulet, 2000). La même année, le caféier était introduit de la Guyane vers le Brésil (Grandjean & Tulet, 2000) et de là vers d'autres pays.

L'Arabica a été introduit par les Anglais à la Jamaïque en 1730, et, de là, en Amérique centrale (Martin, 1969-1970).

A la fin du XVIIIe siècle, à l'exception de l'Éthiopie et de quelques régions voisines du lac Victoria, les régions tropicales du continent Africain, ignorait, encore, la caféiculture (Martin, 1969-1970).

Il faut attendre la fin du XIXe siècle pour assister à l'essor de la culture d'espèces de caféiers spontanées sur la côte occidentale de l'Afrique et à Madagascar. Parmi elles, *C. canephora* va connaître une grande extension, non seulement dans des régions chaudes et très humides d'Afrique, qui ne conviennent pas à *C. arabica*, mais également en Indonésie où l'arabica était ravagé par la rouille (Martin, 1969-1970). Aujourd'hui, le Viêtnam est le premier pays producteur et exportateur de ce type de café.

Coffea canephora Pierre var *robusta* a été découverte pour la première fois dans le bassin du Congo, au Zaïre (actuelle République Démocratique du Congo) (Gisaro, 2013) en 1898. Aujourd'hui, la variété *robusta* est la plus cultivée (à 95%) des variétés de *C. canephora* Pierre à travers le monde (Tshilenge et al, 2009).

Son aire de répartition est variable et correspond aux régions climatiques chaudes et humides. Elle se trouve dans les zones d'altitudes faibles et moyennes en Afrique (Côte d'Ivoire, République démocratique du Congo, Cameroun, Ouganda, Angola, Ghana, Togo, Madagascar, Tanzanie, et la République de l'Afrique centrale), en Extrême-Orient (Inde, Indonésie, Philippines, Vietnam etc.) et en Océanie (Nouvelle-Calédonie, etc.) (Tshilenge et al, 2009).

3- IMPORTANCE ECONOMIQUE DU CAFE: PRODUCTIONS, EXPORTATIONS ET IMPORTATIONS

La culture du caféier constitue une source de revenus vitale pour l'économie de nombreux pays tropicaux (plus de 70 pays). Outre le rôle du caféier dans le développement économique de ces pays, sa culture constitue un important facteur de stabilité sociale en raison des emplois qu'elle génère (Montigaud & My, 1994). Le nombre total de personnes vivant de la caféiculture est estimé à 125 millions (<http://www.biacelli.fr/commerceinternational>). Les rendements moyens en arabica sont de 600kg/ha et ceux du robusta 485 kg/ha (<http://www.oecd.org>) les rendements par arbre sont estimés à 2,5kg.

3.1- Production de café

Selon l'OIC (Organisation Internationale du Café) (2014), la production mondiale de café est généralement caractérisée par une forte instabilité avec une alternance entre une récolte abondante et une récolte moins abondante la campagne suivante. La production mondiale de café, en 2012/13, a atteint 145,2 millions de sacs de café, la plus importante jamais enregistrée jusque-là. Par convention, chaque sac renferme 60 kg de café marchand,

La production totale de l'Arabica, au cours de cette campagne caféière (2012/13), est estimée à 89 millions de sacs de café, représentant 61,3% de la production mondiale alors que celle de Robusta est estimée à 56,3 millions de sacs, soit 38,9% de la production mondiale de café. L'augmentation considérable de la production de Robusta par rapport aux années précédentes (25%) a été attribuée à l'essor de la caféiculture au Vietnam.

Pour la campagne caféière 2013/14, le Brésil, avec 45,29% de la production mondiale, est classé premier producteur de l'Arabica, suivi de la Colombie (13,82%) et de l'Ethiopie (7,26%) (USDA, 2014). Quant au Robusta, c'est le Vietnam qui est devenu premier producteur mondial (44,48% de la production mondiale du café Robusta), suivi par le Brésil (24,26%), l'Indonésie (12,19%) et l'Ouganda en 4^e position (4,35%).

Les productions mondiales en café Arabica étaient estimées à 87,388 millions de sacs et celles du café robusta à 64,424 millions de sacs pour 2013/14 (USDA, 2014).

A l'exception de l'Afrique, toutes les régions ont connu une croissance régulière de leur production dans le temps. Les estimations des productions mondiales de café par continent pour la campagne 2012/13, selon l'OIC (2014), sont reprises dans le tableau 6.

C'est l'Amérique latine (avec principalement le Brésil) qui est le plus grand producteur de café.

Tableau 6: Estimation des quantités et pourcentage de café produit à l'échelle mondiale pour l'année caféière 2012/13

Continent	Quantité produite (10 ⁶ sacs de 60 kg de café)	Pourcentage (%)
Afrique	16,7	11,5
Asie et Océanie	42,4	29,2
Amérique	86,1	59,3
- Amérique centrale et Mexique	18,50	12,74
- Amérique du sud	67,60	46,56
Total	145,2	100
Source : OIC (2014)		

La place prépondérante de l'Afrique au début des années 1960 a disparu au profit de l'Asie et de l'Amérique latine (<http://www.oecd.org>)

Sur les 70 pays producteurs de café (USDA, 2014), durant l'année caféière 2013-2014 le Brésil s'est classé 1^{er} producteur de café (toutes espèces confondues) avec 35,74% de la production mondiale (152,512 millions de sacs de café), suivi par le Viêtnam (19,54%). Quant à l'Ethiopie, 1^{er} producteur africain, elle était en 5^e position mondiale avec une production estimée à 4,16%.

3.2- Les exportations de café

Le Brésil est également 1^{er} pays exportateur de café, suivi par le Viêtnam avec, respectivement, 29,19% et 24,59% des exportations mondiales de café estimées à 104,798 millions de sacs.

L'Ouganda est le premier pays africain exportateur de café et est suivi par l'Ethiopie. A l'échelle mondiale des exportations de café, l'Ouganda (3,44% des exportations mondiales) est classé 6^e et l'Ethiopie (3,14%) 8^e.

3.3- Les importations de café

Pour la campagne caféière 2013/14, les importations mondiales de café ont été estimées à 100 146 millions de sacs. Les pays de l'Union Européenne sont classés premiers (44,50% des importations mondiales), suivis par les Etats Unis (24,51%). L'Algérie, quant à elle, est classé 7^{ème} parmi les pays importateurs avec un taux estimé à 2,30% des importations mondiales.

3.4- La consommation de café dans le monde et en Algérie

3.4.1- La consommation de café dans le monde

Le café est produit dans les pays du Sud (pays en voie de développement), mais il est consommé en majorité dans les pays du Nord, pays dits industrialisés qui consomment plus des $\frac{3}{4}$ de la production mondiale du café. Les Etats Unis sont les plus gros importateurs mais c'est en Europe que la consommation par habitants est la plus élevée. Dans le monde, le nombre de tasses de café bues chaque seconde est estimé à 12 000 (<http://www.biacelli.fr/commerceinternational>).

La lecture des consommations internes en café estimées par l'USDA (2014) pour l'année 2013/14, classe l'Union Européenne en tête de liste avec 29,88% de la consommation mondiale, suivie par les Etats Unis (17,12%) puis le Brésil (14,11). L'Ethiopie (2,19%) est classée 8^e et **l'Algérie (1,63%), 11^e**. Le total des consommations internes mondiales est estimé à 142,416 millions de sacs de 60kg de café.

3.4.2- La consommation de café en Algérie.

En Algérie, le café a une place dominante par rapport au thé. Il a été introduit par les Turcs ; un peu d'eau de fleur d'oranger est souvent ajoutée au café boisson (Huetz de Lempis, 2001).

L'Algérie, est considérée comme un pays grand consommateur et importateur de café avec ses 2,30% des importations mondiales, elle est classée première parmi les pays africains et Arabes. En effet selon l'Union Générale des Commerçants et Artisans Algériens (UGCAA), l'Algérie importe en moyenne 125 000 tonnes de café chaque année dont 95% de café robusta et seulement 5% de café arabica. Elle importe principalement du Viêtnam, de l'Indonésie et de la Côte d'Ivoire (Mansour-Benamar et al, 2014). Selon Ennaciri Naami (2014), l'algérien consomme 3,5 kg de café par an, le tunisien 1,5 kg, le marocain moins de 1kg (0,8-0,9kg/an), le français 5 kg, et le scandinave détient le record avec plus de 10 kg.

Le café robusta est coté à la bourse de Londres et l'arabica à la bourse de New York (Rabhi, 2005, <http://www.comptoirs-the-cafe.com>).

4- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DU CAFÉIER

La qualité de la tasse de café, à savoir sa douceur, sa faible teneur en caféine, son arôme et son goût fin, rend *C. arabica* L., de loin, l'espèce la plus importante, représentant environ 60 à 70% de la production mondiale (Lecolier, 2006; Lashermes & Anthony, 2007; Al-Murish et al, 2013).

Les cultivars actuels de *C. arabica* seraient tous des descendants de deux populations initiales, la variété Typica et la variété Bourbon, provenant toutes deux du Yémen (Lashermes & Anthony, 2007).

La variété Typica serait issue du plant rapporté du Yémen et cultivé au Jardin Botanique d'Amsterdam, et la variété Bourbon serait un mutant issu de caféiers introduits à l'île de Bourbon en 1715 et 1718 (Lashermes & Anthony (2007).

C'est la descendance d'un seul caféier de type bourbon qui aurait été transférée en Amérique (Charrier, 1982).

4.1- Les espèces de caféiers

Les caféiers forment un complexe multispécifique dont les nombreuses espèces sont toutes originaires d'Afrique et de la région Malgache (Berthaud, 1986).

A côté des deux espèces qui font l'objet d'un commerce international important, à savoir, *C. arabica* L. et *C. canephora* Pierre var. *robusta*, se trouve une troisième espèce, *C. liberica* Bull. ex. Hiern. (café Liberica ou café libérien ou café du Libéria), d'importance bien moindre (moins de 1% de la production mondiale en café) (Davis et al, 2006).

Les autres espèces de *Coffea* ne sont pas économiquement cultivées, mais l'importance de ces espèces sauvages réside dans la grande variabilité de nombreuses caractéristiques en particulier la résistance aux maladies, aux insectes et aux nématodes (Fazuoli et al, 2000).

4.2- Systématique du caféier

Le caféier appartient au genre *Coffea* qui comporte 103 espèces (Davis et al, 2006), n'offrant pas toutes le même intérêt et dont la systématique a été remaniée plusieurs fois (Lecolier, 2006), soit pour éliminer de faux caféiers soit pour y introduire des espèces nouvellement découvertes (Martin, 1969-1970).

Le genre *Coffea* a été créé par Linné en 1735 mais n'a été confirmé qu'en 1753 (Chevalier, 1942). Il appartient à la famille des Rubiaceae qui est la famille la plus riche en espèces dans les tropiques (Bremer et al, 1995).

Concernant *C. arabica* L., le qualificatif d'arabica a été jugé erroné par de nombreux chercheurs car il s'agissait de l'origine de l'échantillon étudié par Linné et non pas de l'origine géographique de la plante à savoir les hauts plateaux de l'Éthiopie en Afrique (Charrier, 1982, Costentin & Delaveau, 2010). Cependant de nombreux chercheurs ont rapporté que c'est au Yémen que la boisson café a été initiée (Coste, 1989; Costentin & Delaveau, 2010).

La position systématique des caféiers selon quelques travaux consultés (Illy, 1967; Cronquist, 1981; Bremer et al, 1995; Mouly, 2008; Murthy, 2011 et Murthy & Naidu, 2012, est donnée ci-après.

Systématique du caféier

Domaine:	Eukaryota		
Règne:	Plantae		
Sous-règne:	Tracheobionta		
Division:	Magnolophyta		
Classe:	Magnolopsida		
Sous-classe:	Asteridae		
Ordre:	Rubiales	ou	Gentianales
Famille:	Rubiaceae		
Sous-famille:	Coffeoideae	ou	Ixoroideae
Tribu:	Coffeae		
Sous-tribu:	Coffeinae		
Genre:	<i>Coffea</i> L. (1753)		
Section:	Eucoffea Schum.	ou	Coffea
Sous section:	Erhythrocoffea Chev.		
Espèce1:	<i>Coffea arabica</i> L.		
Espèce2:	<i>Coffea canephora</i> Pierre ex Hiern (1898)		

4.3- Description du caféier

4.3.1- Appareil végétatif

A l'état sauvage, le caféier, se présente sous forme d'un arbuste de 4 à 6 m de haut pour l'Arabica, sous forme d'arbuste ou d'arbre pouvant atteindre plus de 12 m de haut pour le Robusta et sous forme d'arbres pouvant atteindre jusqu'à 20 m pour le Liberica. A l'état cultivé, grâce aux tailles, la hauteur du caféier ne dépasse guère les 3 m (Fig.9A) (OIC, 2015). Les caractéristiques morphologiques des caféiers ont été décrites par de nombreux chercheurs, Cramer (1957), Prévot (1964), Martin (1969-1970), Coste (1989), Lecolier (2006), Nyabyenda (2006). L'exemple type de caféier, souvent cité, est *C. arabica* L.

Chez le caféier d'Arabie, le tronc est, normalement, monopodial, orthotrope, la multicaulie est obtenue suite à une taille de formation (fig.9-A) (Nyabyenda, 2006). Par contre le caféier robusta est naturellement multicaule (Coste, 1989)

Les feuilles sont opposées deux à deux (fig.9-B). Elles sont simples, ovales, acuminées et décussées. Elles sont à bords ondulés et à face supérieure luisante, légèrement gaufrées (fig.9-B). Leur longueur varie entre 10 et 15 cm et leur largeur entre 4 et 6 cm chez l'Arabica, Elles sont brièvement pétiolées ; il existe deux petites stipules interpétiolaires (Coste, 1989).

La face inférieure des feuilles portent des domaties ou scrobicules (petites cavités où vivent des acariens...) situées dans les angles formés par la nervure principale et les nervures secondaires (Nyabyenda, 2006).

Aux aisselles des feuilles se forment deux types de bourgeons (fig.10) :

- les bourgeons axillaires ou « bourgeons sériés » des tiges orthotropes qui donnent naissances à des axes orthotropes appelés rejet ou gourmands et
- des bourgeons extra-axillaires ou « bourgeon tête de série » qui évoluent en rameaux plagiotropes (semi-érigés) primaires (Prévot, 1964 ; Nyabyenda, 2006). Les bourgeons sériés sont des bourgeons dormants.

Les rameaux primaires se répartissent régulièrement sur le tronc en alternant de coté à chaque étage (Nyabyenda, 2006).

Chacun des rameaux primaires plagiotrope possède, lui aussi, à chacun de ses nœuds, des méristèmes axillaires de deux natures évoluant soit en rameaux secondaires plagiotropes soit en boutons floraux (Lecolier, 2006).



Figure 9 : Cafeier multicaule (A) ; Feuilles de *Coffea canephora* Pierre var. *robusta* (B)

(Source : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Fruits/cafe.htm>)

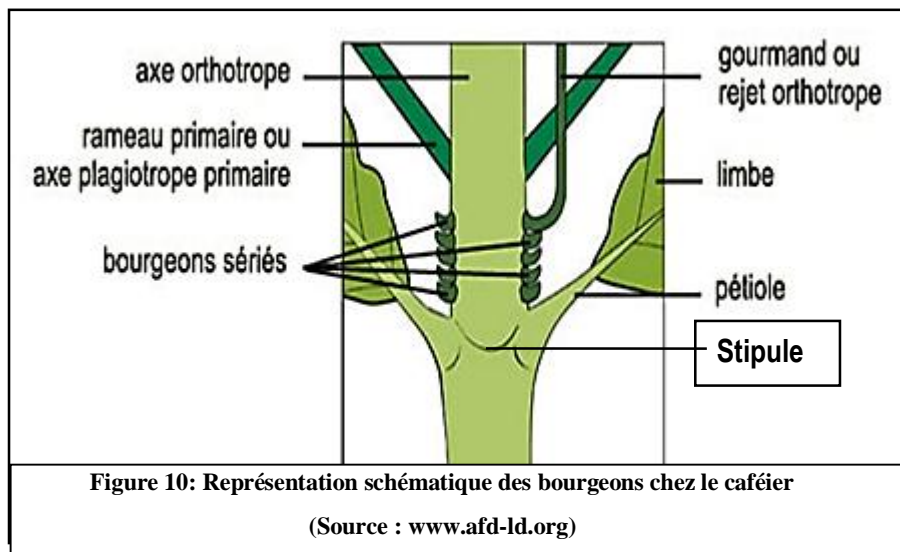


Figure 10: Représentation schématique des bourgeons chez le caféier

(Source : www.afd-ld.org)

Les rameaux ou branches secondaires peuvent à leur tour donner naissance à des rameaux tertiaires et ainsi de suite (Nyabyenda, 2006). Les branches primaires ont la particularité de ne pas se renouveler quand elles se cassent contrairement aux branches secondaires (Huyghe, 2014 ; Lecolier, 2006).

La hauteur du tronc et l'intensité de ramification dépend de l'espèce (Lecolier, 2006).

Le système racinaire est composé d'un pivot souvent multifide, de 0,50 à 0,70 m. Les racines axiales, qui assurent la nutrition en eau de la plante, partent du pivot. Un réseau superficiel de racines latérales explore le sol sur une profondeur de 0,10 à 0,30 et assure la nutrition en minéraux (CIRAD, 2009, Haler, 2013).

4.3.2- Fleur, fruit et graine

Selon Nyabyenda (2006), la destination normale des bourgeons axillaires formés sur les rameaux est de développer des boutons floraux. Les premiers boutons floraux apparaissent à la 3^e ou 4^e année de vie du caféier. Ils restent en attente avant de s'ouvrir.

Dans les climats où alternent saisons sèches et saisons humides, la pluie est le facteur déclenchant de la floraison. Les fleurs initiées en fin de saison des pluies restent en boutons dormants pendant la saison sèche et s'épanouissent au début de la saison de pluie suivante. Les arbres se couvrent alors de guirlandes de fleurs blanches à parfum jasminé, courtement pédicellées (Prévot, 1964).

Les fleurs sont bisexuées (Fig. 11-A) et sont de type 5. Le périanthe est à calice très court, gamosépales et à corolle gamopétale formant un tube s'épanouissant en cinq à six lobes étroits. Chez Robusta il y a six pétales et chez l'Arabica cinq (Haler, 2013). Les cinq étamines adhèrent aux pétales par leurs filets. L'ovaire infère, formé par deux carpelles soudés, est surmonté d'un long style terminé par 2 stigmates.

Les fleurs sont groupées à l'aisselle des paires de feuilles en cyme de 2 à 3, constituant des glomérules de 8 à 15 fleurs chez l'Arabica (Fig. 11B) (Coste, 1989) et 20 à 30 fleurs chez le Robusta (Illy, 1967).

La floraison dure 24 à 48 heures (Nyabyenda, 2006). Elle est basifuge sur l'arbre, centrifuge sur les rameaux et basipète sur chaque inflorescence (Rabechault & Cambrony, 1964).

Le maximum de productivité est atteint à l'âge de 5 ans (Tab.7) et dure en moyenne 25 à 30 ans (Costentin & Delaveau, 2010 ; Gisaro, 2013).

Pendant la phase de productivité, les périodes de croissance et de floraison alternent ou se superposent selon les climats ou les espèces de caféiers (Prévot, 1964).

Une ou plusieurs productions florales peuvent avoir lieu la même année (Costentin & Delaveau, 2010).

Coffea arabica est tétraploïde (Tab.7). Il est auto-compatible et se reproduit principalement par autofécondation qui se produit dans environ 90% des fleurs (Fazuoli et al, 2000).

Coffea canephora et les autres espèces connues du genre *Coffea* sont diploïde (Tab.7) et auto-incompatible et se reproduisent exclusivement par fertilisation croisée (Berthaud, 1980 ; Fazuoli et al, 2000).

Après la fécondation, l'ovaire, bicarpellé et biloculé, avec un ovule par locule, évolue en drupe (Fig.11-C-F), la cerise de café (Prévot, 1967). Cette dernière est de forme ovoïde à subglobuleuse, verte puis rouge à maturité et mesurant (1,01,5) x (1,61,8) cm (Coste, 1989). Les ovules fécondés évoluent quant à eux en graines (fig.11-G et H).

La maturation des drupes nécessite 6 à 12 mois selon l'espèce (Tab.7).

On distingue, successivement, de l'extérieur vers l'intérieur de la cerise de caféier, les couches de tissus suivantes (Houessou, 2007 ; Costentin & Delaveau, 2010 ; Gisaro, 2013) (Fig.11-E et F) :

- l'épicarpe ou peau, lisse, très résistante et rouge,
- le mésocarpe ou pulpe, blanchâtre, riche en glucides et en pectines mais surtout en eau (70 à 85% du poids mésocarpe). Le mésocarpe représente, selon les espèces, entre 40 et 65% du poids du fruit,
- l'endocarpe ou parche ou encore parchemin est la partie interne du fruit, scléreuse et dure
- deux graines, appelées fèves, qui deviendront les grains de café vert. Situées à l'intérieur de l'endocarpe (parche), chaque graine est formée par un albumen corné et l'embryon. La graine est entourée par le tégument séminal qui forme la pellicule argentée.

Les graines, appelées généralement fève de café, présentent un sillon ventral caractéristique, assez rectiligne chez le Robusta et plus sinueux chez l'Arabica (Fig.11- E, G et H). Quand l'un des ovules avorte, le grain qui reste devient arrondi et s'appelle « caracoli.

Les graines ont la faculté de germer immédiatement, sans dormance, mais leur pouvoir germinatif est de courte durée (Prévot, 1964).

La production moyenne par année et par arbre est de 2,5 kg de cerises soit 500 grammes de café vert (www.malongo.com/fr/public/culture.html; www.malongo.com/valeurs/)

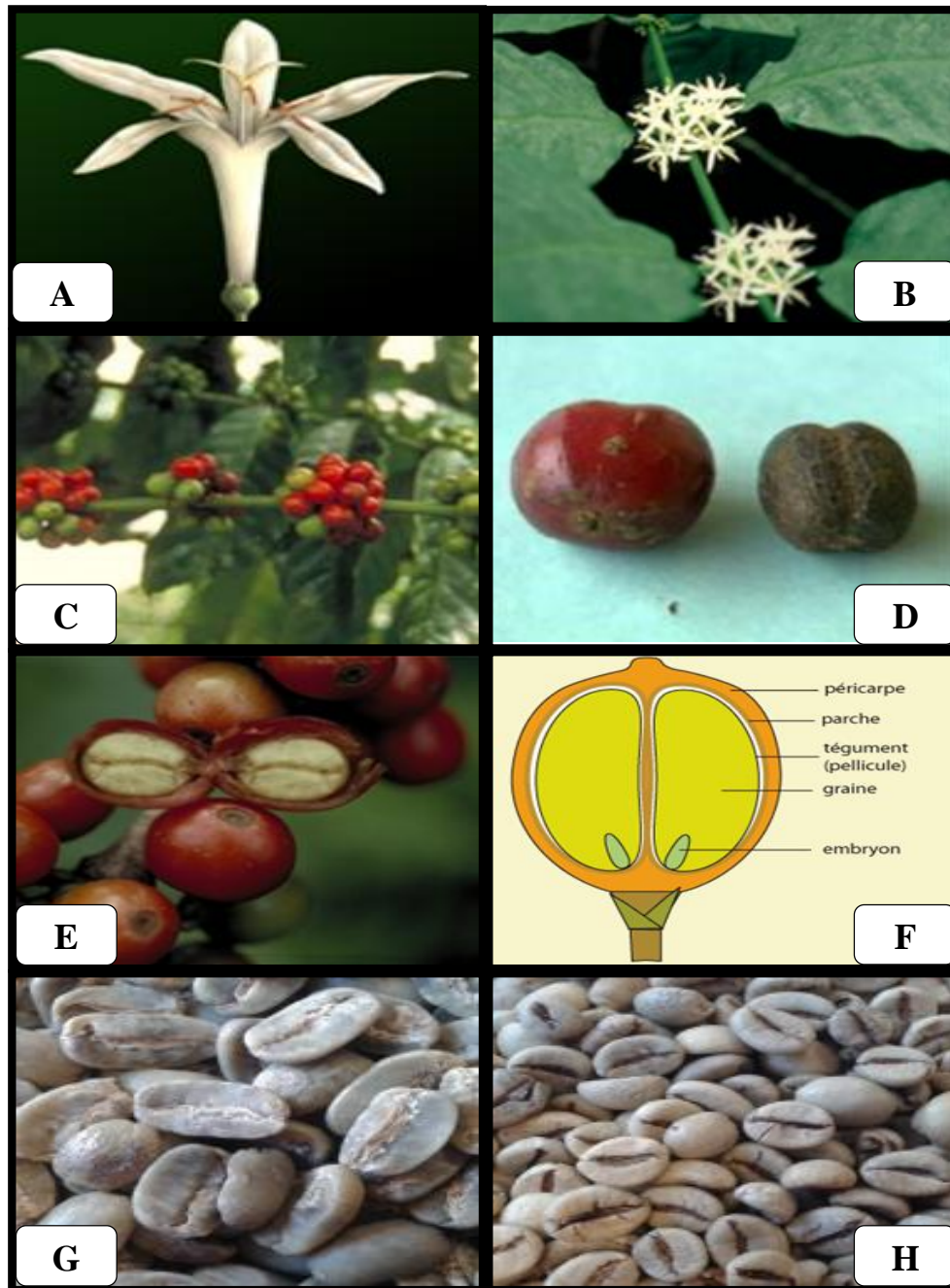


Figure 11: Fleurs, fruits et graines de caféiers :

A : Fleur de *Coffea arabica* L. (A et B, Source : <http://www.afd.be/~plant-ch/cafeier/sexualit/FLecafe.htm>)

B : Glomérules de fleurs de *Coffea arabica* L. (B)

C : Cerises de caféier à différents stades de maturation,

D : Cerise de caféier fraîche (à gauche) et cerise séchée ou café coque (à droite).

E : Glomérules de cerises de caféiers avec cerise ouverte montrant les 2 fèves enveloppées par le péricarpe et la parche

F : Schéma d'une coupe longitudinale d'une cerise de caféier

G : Fèves ou grains de café Arabica

H: Fèves ou grains de café Robusta

(C à H, Source: <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/fruits/café.htm>)

Le caféier peut être obtenu à partir de semences (graines), de boutures ou de greffes (Rabechault & Cambrony, 1964).

Le tableau 7 synthétise quelques caractéristiques de *C. arabica* comparativement à celles de *C. canephora* Pierre var. *robusta*.

Tableau 7: Quelques caractéristiques de *Coffea arabica* L. et *C. canephora* Pierre var. *robusta*

Caractère	caféier Arabica	caféier Robusta	Source
Date de description de l'espèce	1753	1895	CIO, 2015
Génotype (nombre de chromosomes)	44	22	CIO (2015)
Altitude optimale exigée	1000-2000 m	0-700 m	CIO (2015)
Climat	Tropical tempéré	Equatorial	Martin (1969-1970)
Températures moyennes	20-25°C	24 -26 °C**	**Illy (1967), Martin (1969-1970)
Limites géographiques	10° parallèle Nord et Sud	24° parallèle Nord et Sud	Gisaro (2013)
Hauteur à l'état sauvage	5-6m	10-12m	Coste (1989)
Hauteur à l'état cultivé	2-3m		Gisaro (2013)
Racines	Profondes	Superficielles	Nyabyenda (2006)
Nombre de tiges	Unicaule	Multicaule	Coste (1989)
Croissance	Moins vigoureuse	Plus vigoureuse	Nyabyenda (2006)
Taille des feuilles	(10-15) x (4-6) cm	(20-35)x (8-15)* cm	Coste (1989) ; *(Lim, 2013).
Age moyen de début de production	3 ans		Gisaro (2013)
Age de production maximale	5-6 ans		Gisaro (2013)
Durée de vie (B, 2013)	25 à 50 ans		Gisaro (2013)
Reproduction	Autogame	Allogame	Coste (1989)
Floraison	après 1 ^{ère} pluie après la période sèche	Floraison irrégulière	Nyabyenda (2006)
Nombre de fleurs par glomérule	(8-15)	(20-30)**	Coste (1989) ; **(Illy, 1967).
Délai entre floraison et maturité des fruits (cerises)	6-8 mois	9-11 mois	Gisaro, 2013
Les cerises de café	Tombent facilement	Tiennent fermement sur les branches	Nyabyenda (2006)
Forme et taille des fèves de café	Volumineuses et allongées	Courtes et arrondies	Illy (1967)
Couleur des fèves de café	Vert- Bleu	Jaunâtre	Costentin & Delaveau (2010)
Caracoli (%)	5 -10	20-30	Illy (1967)
Rendement (kg grains/ha)	1500-2500	2300-4000	CIO (2015)
Teneur en caféine des grains (% MS)	0,7-2,2	1,5-3,0	Charrier & Berthaud (1975)
Arôme	Doux, parfumé, fruité	Intense, corsé	
Acidité	Acide	Moins acide	
Corps	Moyen	Puissant	CIO (2015)
Tasse (Robe)	Claire	Foncée	
Résistance aux intempéries	Fragile	Robuste	Gisaro (2013)
Sensibilité aux maladies	Plus sensible	Plus résistant	Nyabyenda (2006)

Caractère	caféier Arabica	caféier Robusta	Source
Rouille <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. et Br	Sensible	Résistant	Dadant (1954)
Koleroga (<i>Corticium</i> (<i>Pellicularia</i>) <i>koleroga</i> (Cke) Hoehn)	Sensible	Tolérant	Dadant (1954)
Nématodes	Sensible	Résistant	CIO (2015)
Trachéomycose (<i>Fusarium</i> <i>xylorioides</i>)	Résistant	Sensible	CIO (2015)
Anthracnose des baies (<i>Colletotrichum coffeanum</i> Noack)	Sensible	Résistant	CIO (2015); Muller (1983)

5- MODES DE TRAITEMENT ET DE PRÉPARATION DU CAFÉ

5.1- La récolte des cerises de café

Le moment de la récolte varie selon le continent, le pays, la situation géographique, le climat et l'altitude de la région de culture (Procafé, 2015) :

- Au Brésil, principale région de culture, la cueillette a lieu de Mai à Septembre
- En Amérique centrale, d'Octobre à Mars
- En Afrique, les principales récoltes ont lieu entre Octobre et Avril
- En Asie de Novembre à Avril.

Dans les pays situés sous l'Équateur (Kenya, Ouganda, Colombie, etc.), il y a deux saisons de récolte par année (<http://www.toutsurlecafe.fr/culture/p6.htm>). La cueillette des fruits dure plusieurs mois, et, de manière générale, elle est manuelle et se fait soit par picking ou stripping (<http://www.boitearecettes.com/cafe/recolte.htm>):

- Le **picking** ou "**cueillette sélective**" consiste à ramasser une à une, au fur et à mesure de leur maturité complète, les cerises de café. La fréquence des passages varie d'un pays à l'autre, par exemple au Kenya, 7 par an.
- Le **stripping** (extraction) est appliqué dans des plantations produisant des grains café de qualité moindre. Il faut attendre qu'il y ait une majorité de cerises mûres pour faire toute la récolte en une seule fois. En faisant coulisser la main sur le rameau, de haut en bas ; tout est arraché: feuilles, fleurs, cerises vertes immatures, cerises rouges mûres, cerises noires trop mûres.

Les cerises immatures augmentent l'amertume du café, tandis que celles trop mûres confèrent à celui-ci un goût acre et désagréable (Houessou, 2007).

5.2- Traitement des cerises de café

Les cerise de café récoltées sélectivement (picking) sont généralement traitées selon la technique humide, les grains de café obtenus sont appelé café lavés et sont presque toujours des Arabica de qualité supérieure. Le traitement par voie humide intensifie l'arôme du café en réduisant son amertume. C'est un traitement long et coûteux appliqué exclusivement aux fruits mûrs. Les cerises recueillies par stripping sont traitées par la technique dite sèche. Les grains de café obtenus sont appelés café non lavé. La méthode sèche est plus ancienne et plus simple que la méthode humide, mais ses résultats sont moins performants. Les cerises séchées ne contiennent plus que 12 % d'humidité environ (Houessou, 2007).

Les successions des différentes étapes de chacune des techniques sont schématisée dans la figure 12.

Le café vert est trié de nouveau, calibré puis mis en sac (de jute), généralement de 60kg, prêt à l'exportation. Le café vert peut être torréfié sur place mais il est préférable qu'il le soit dans les pays consommateurs, afin de conserver la qualité des grains. Plus le café est torréfié proche de sa consommation, dans le temps et dans l'espace, meilleure en est sa qualité.

La graine de caféier ou café vert, séchée, privée de téguments, figure dans la pharmacopée française. La drupe est appelée café en cerise, débarrassée de l'épicarpe et du mésocarpe, c'est le café en parche et réduit à l'amande, c'est le café en grain ou café marchand (Roux & Catier, 2007).

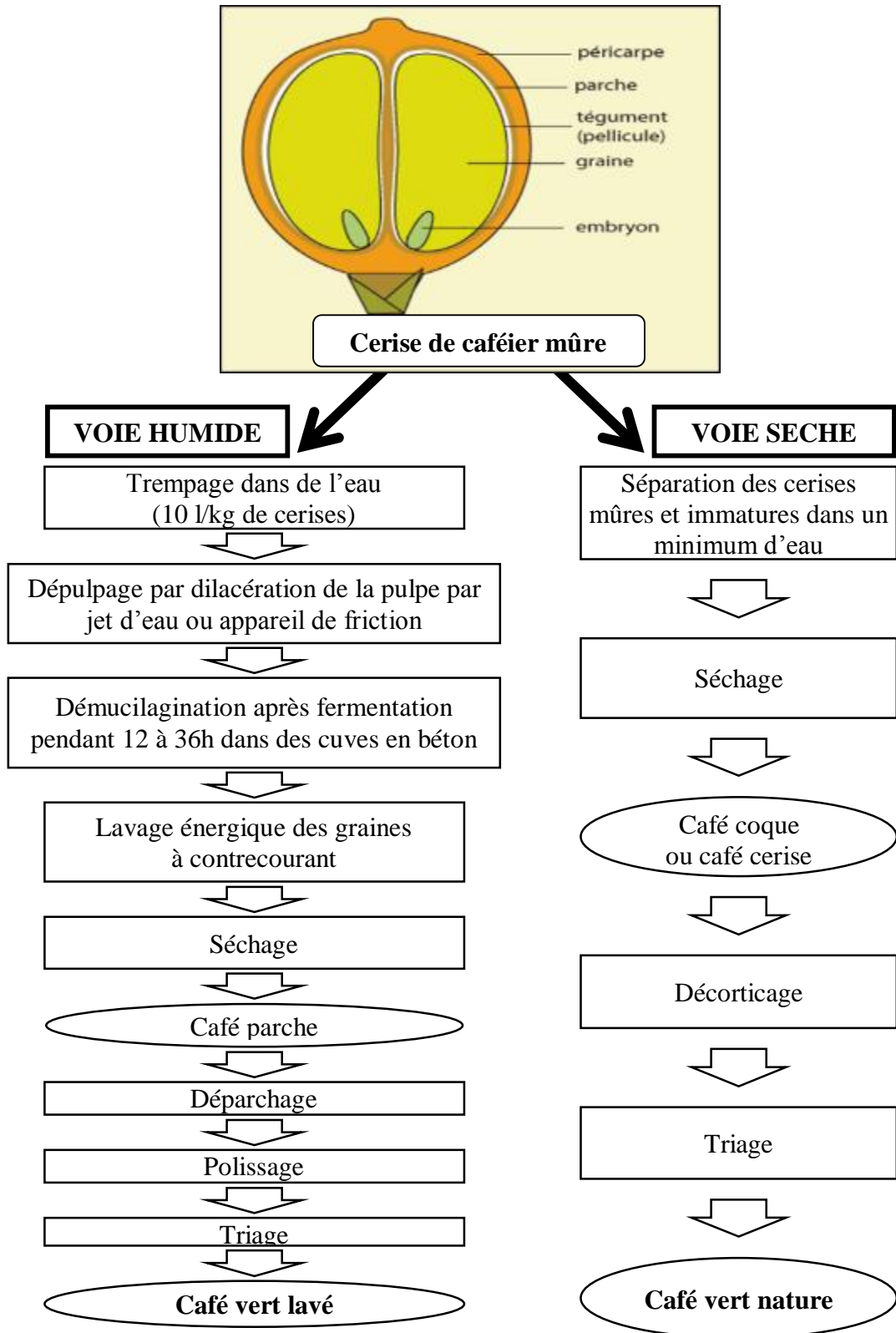


Figure 12: Techniques d'extraction des graines de caféier
(Source : Charrier, 1982 ; Costentin & Delaveau, 2010))

5.3- La torréfaction

Avant de pouvoir utiliser les grains de café pour préparer le café boisson, ceux-ci doivent être torréfiés. Ce sont les arabes qui ont découvert le processus de torréfaction au 14^e siècle (<http://sites.estvideo.net/cafe/preparation.html>).

Les grains de café verts n'ont ni arôme ni saveur. Au cours de la torréfaction ils vont subir des modifications profondes de leur composition chimique (Tab.8) (Contentin et Delaveau, 2010). Parallèlement d'importantes modifications morphologiques (forme, volume, couleur, perte de poids (Fig.13) se produisent (Houessou en 2007).

La torréfaction est un processus de pyrolyse (Illy, 2002). Elle consiste à faire griller les grains de café verts pour obtenir des grains de café torréfiés, de couleur brune (Fig.13) et parfumés, renfermant plus de 950 molécules aromatiques (Farah, 2012).



Figure 13 Grains de café vert (A) et torréfiés (B)

(Source : http://www.pur-cafe.com/torrefaction-du-cafe_info=45.html)

Une torréfaction de courte durée donnera un café acide, alors qu'une torréfaction plus longue permet de gagner en amertume (<http://sites.estvideo.net/cafe/preparation.html>).

La torréfaction peut être légère, moyenne, complète ou poussée. Une torréfaction légère est réservée aux grains de meilleure qualité car elle préserve leur goût original et permet d'obtenir un goût léger. Une torréfaction moyenne permet d'obtenir un corps plus intense et un niveau d'acidité plus faible avec des grains plus foncés. Une torréfaction complète donne un café plus foncée et plus corsé. Elle permet, d'obtenir un arôme bien développé;

Une torréfaction poussée permet d'obtenir des grains caramélisés, noirs et huileux et donne un café presque noir avec une saveur fumé-sucré plus amère.

La torréfaction se fait en trois phases successives : le séchage, la torréfaction et le refroidissement (Houessou, 2007).

5.3.1- Le séchage

Le séchage a lieu à des températures inférieures à 150/160°C. D'abord le grain absorbe de l'énergie, perd de l'eau et gonfle (double de volume) sous l'effet de la pression des gaz produits à l'intérieur du grain (principalement de la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone, mais également des produits de pyrolyse alors que sa masse diminue (perte de gaz et de substances volatiles), ce qui a pour conséquence une diminution de la densité du grain). Les grains de café passent de la couleur verte au jaune.

5.3.2- La torréfaction

La torréfaction est une phase exothermique, avec des températures comprises entre 150°C et 260°C. Elle correspond aux réactions chimiques de dégradation et de polymérisation des précurseurs d'arômes. En général, la torréfaction est menée entre 200 et 250°C pendant 0,75 min à 25 min, selon le degré de torréfaction souhaité.

Au cours de cette phase, le grain subit d'importantes modifications, tant physiques que chimiques. De grandes quantités de dioxyde de carbone, d'eau et de substances volatiles sont éliminées et le grain devient marron (fig.13, tab.8).

5.3.3- Le refroidissement

Le refroidissement est une étape indispensable pour éviter de brûler le grain de café.

Dans certains cas, du sucre peut être ajouté au café avant la torréfaction, afin d'obtenir un café torréfié plus amer et plus foncé.

Tableau 8: Composition chimique des grains de café verts et torréfiés de *Coffea arabica* L. et *C. canephora* Pierre var. *robusta* (en % matière sèche)

Composé	Espèce de caféier			
	Arabica		Robusta	
	Vert	Torréfié	Vert	Torréfié
Humidité (% matière fraîche)	8 – 10	0 – 4	8 – 10	0 – 4
Caféine	0,6 – 1,2	~ 1	1,6 – 2,4	~ 2,0
Trigonelline	0,9 – 1,2	0,5 – 1	0,6 – 0,75	0,3 – 0,6
Acides aminés libres	0,5 – 2,0	0	0,5 – 0,8	0
Protéines	11 – 13	13 – 15	11 – 13	13 – 15
Glucides	55 – 66	24 – 39	40 – 55	–
Lipides	12 – 18	14,5 – 20,0	9 – 13	11 – 16
Acides phénols	5,5 – 8,0	1,2 – 2,3	7,0 – 10,0	3,9 – 4,6
Minéraux	3,0 – 4,2	4,4 – 4,5	4,5	4,7
Mélanoïdines	0	25	0	25
Acides humiques	0	16 – 17	0	16 – 17
Source : Brach & Peter (1999); Costentin & Delaveau (2010); Haler (2013)				

La torréfaction est un processus qui augmente la complexité chimique du café (Illy, 2002). Selon le Comité Français du café, en dehors de la diminution de la teneur en eau, la perte à la torréfaction (12 à 20%) est due à des changements chimiques importants, à savoir la dégradation et la polymérisation de certains composés des fèves de café, protéines, sucres, acides, alcaloïdes, etc.

Selon Houessou (2007), la caféine ainsi que les acides gras et les substances minérales sont peu affectés par la torréfaction, alors que selon le Comité Français du Café, 10% de la caféine est détruite par la torréfaction. Cette perte est d'autant plus importante que la torréfaction est poussée.

La caféine est un métabolite secondaire de grand intérêt dans la production de café en raison de son impact sur la qualité de la boisson (son accumulation dans les grains de café verts augmente l'amertume de la boisson). Il est principalement connu pour influencer le système nerveux central, en particulier à l'égard de l'insomnie. Néanmoins, des études récentes signalent également les propriétés bénéfiques de doses modérées de caféine concernant "l'Alzheimer" et la maladie de Parkinson, le diabète de type 2 et de nombreux cancers (Ky et al, 2013).

Quant à la trigonelline, elle diminue fortement. C'est un alcaloïde qui est fortement dégradée (70% à 100%) et ses produits de dégradation participent au développement de l'arôme du café. Elle serait décomposée en acide nicotinique (vitamine PP ou niacine), en

pyridines et en substances aromatiques (comme les furanes, les pyrazines...). L'acide nicotinique (vitamine PP ou niacine) augmente alors que les vitamines B1 et C sont détruites. L'acidité du café diminue, le pH passe de 5,5 à 6.

Les acides participent de manière active au développement de l'arôme et du goût du café. Leur teneur est variable. Les acides volatiles (acides formique, acétique, etc.) se développent à la torréfaction à des températures comprises entre 160°C et 190°C, par contre les acides non volatiles (acides lactique, oxalique, tartrique, citrique, etc.) sont dégradés en fonction du degré de torréfaction. Les acides chlorogéniques (principale source de polyphénols dans le café) sont partiellement dégradés pour donner divers dérivés du phénol (particulièrement l'acide caféique et l'acide quinique) et participent eux aussi à la formation de l'arôme caractéristique du café, à son goût et à son astringence.

Les protéines contenues dans les fèves de café vert sont dénaturées rapidement par la chaleur et se décomposent en acides aminés. Il y a perte de 20 à 40% des acides aminés. Ils sont soit dégradés (pour les acides aminés thermosensibles), soit participent aux réactions de Maillard avec les sucres pour donner des composés aromatiques.

Il y a diminution de 20 à 37% des glucides présents dans le café vert suite à leur dégradation. La torréfaction va induire des réactions de dépolymérisation, de modification structurale ou de condensation avec des protéines ou des acides aminés pour former des mélanoidines et des substances aromatiques via la réaction de Maillard ; il se forme également des produits de pyrolyse. Les sucres simples (4% à 8%) disparaissent complètement soit par dégradation soit en participant à la réaction de Maillard. Les polysaccharides (45% à 55%) se dégradent pendant la torréfaction en donnant des substances solubles dans l'eau. Par contre les teneurs en cellulose et en hémicellulose (fibres) restent pratiquement inchangées.

La teneur en lipides est plus élevée dans le café torréfié par rapport au café vert, et il y en a beaucoup plus chez l'Arabica que chez le Robusta. La torréfaction n'a aucune action sur les acides gras du café : Dans la fraction insaponifiable, on retrouve la même composition en acides gras que chez le café vert, par contre il y a perte, au cours de la torréfaction, d'environ 15% du cafestol et du kahweol, diterpènes estérifiés spécifiques au café, généralement liés aux triglycérides et faisant partie la fraction insaponifiable (Houessou, 2007).

5.4- La production du café moulu et de sa boisson

5.4.1- La mouture des grains

La mouture consiste à moudre les grains de cafés torréfiés. Au cours de la mouture, le dioxyde de carbone inclus dans le grain de café s'échappe. Bien que réalisée parfois chez le consommateur, elle est plus fréquemment réalisée de manière industrielle. Dans ce cas, le café moulu doit être emballé très rapidement afin d'éviter toute oxydation et perte d'arômes.

Houessou (2007) et Haler (2013) rapportent que les grains de cafés torréfiés doivent être moulus à une granulométrie précise et très homogène, ni trop fine, ni trop grosse, pour que l'eau chaude puisse entraîner le maximum de composés aromatiques et de caféine. Une mouture trop grossière laisse l'eau filtrer trop rapidement et donne un café boisson à saveur fade, sans arômes, et, à l'inverse, avec une mouture trop fine, l'opération est lente, et l'eau entraîne des particules qui se déposent au fond de la tasse, ce qui donne un café boisson boueux et âcre. C'est donc entre ces deux extrêmes de mouture que se situe la gamme de degrés de finesse qui convient le mieux à chaque type d'appareil de préparation du café boisson. En général, une mouture moyenne est employée pour les cafetières à filtre, une mouture fine pour les appareils à dépression, une mouture plus fine et tassée pour les percolateurs (café expresso), et une mouture ultra-fine pour le café à la turque.

5.4.2- La préparation du café boisson

On dénombre six modes de préparation du café (tab.9) chacun conférant à la boisson obtenue des propriétés organoleptiques et des compositions bien distinctes (le café instantané constitue un cas particulier bien spécifique).

Tableau 9: Mouture à choisir en fonction de la méthode de préparation du café boisson

Méthode de préparation	Mouture
Décoction ou café à la turque	Extra fine
Expresso	Très fine
A l'italienne à pression de vapeur	Fine
A filtre	Moyenne
A dépression de type Cona	Moyenne
A piston	Grosse
Source : Haler (2013).	

5.4.3- Fabrication du café instantané

Presque 50% du café produit à l'échelle mondiale est destinée à la préparation du café instantané ou café soluble (Ballesteros et al, 2014). Le café soluble est plus connu sous son nom commercial de Nescafé (Nescafé est commercialisé par le groupe agro-alimentaire suisse Nestlé).

En 2011, Mussatto et ses collaborateurs ont estimé à 6 millions de tonnes de marc de café généré par ce type de café alors que la torréfaction a généré la pellicule argenté en quantité estimée à 4,2% (poids/poids) des grains de café verts. La fabrication du café soluble repose sur le principe de dessiccation du café obtenue par infusion. La poudre obtenue (ou café soluble) permet de reconstituer la boisson par simple dissolution dans l'eau. Une tonne de café vert donne 240kg de café soluble (Martin, 1969-1970).

5.4.4- Les résidus de l'industrie du café

La préparation du café boisson ne met à profit que 5,8% du poids de la cerise de café fraîche ; les 94,2% restants sont constitués par l'eau et les produits des procédés utilisés pour récupérer le café torréfié à savoir la pulpe, le mucilage (les pectines) et la parche, dans le cas d'un traitement par voie humide (Perraud-Gaime, 1995) par contre dans le cas d'un traitement par voie sèche, les résidus obtenus sont la coque des cerises séchées et le marc de café.

Les rendements finaux moyens en café marchands s'élèvent à 20% pour des deux espèces de caféiers, Arabica et Robusta et pour les deux types de traitement des cerises (Bressani, 1978).

6- LE MARC DE CAFE

6.1- Définition

Le marc de café (fig.14) est le résidu de la consommation du café soluble obtenu après torréfaction des grains de café marchands, après mouture et extraction à l'eau bouillante ou à la vapeur d'eau. Il représente selon Barbera (1965) les 3/5 du café vert.

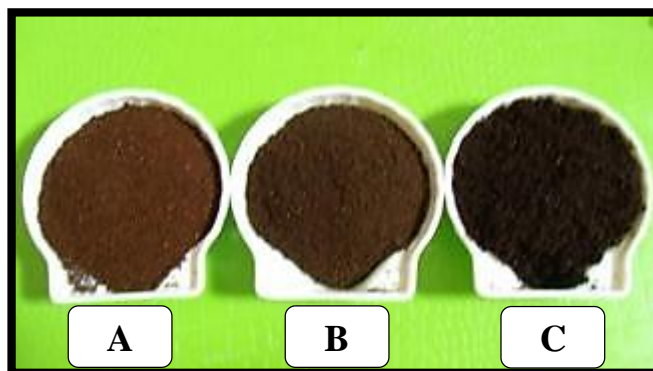


Figure 14: Café en poudre (A), marc de café séché (B), marc de café frais (C)

6.2- Composition chimique

Les polysaccharides sont des éléments les plus abondants dans le marc de café (Mussato et al, 2011a ; Ballesteros et al, 2014). Il s'agit de cellulose, d'hémicellulose et de lignine (Tab.10).

Tableau 10: Composition chimique du marc de café

Composé chimique	Quantité (g/100g de matière sèche)
Cellulose	12,40
Hémicellulose	39,90
Lignine	23,90
Protéines	17,44
Lipides	2,29
Azote (N)	2,79
Carbone (C)	47,18
C/N	16,91
Cendres	1,30
Source : Ballesteros et al (2014)	

Il est relativement riche en protéines mais sa richesse en lignine peut constituer un facteur limitant pour son exploitation.

6.3- Valorisation du marc de café

Au vue des quantités produites chaque année, c'est une nécessité de trouver un moyen de faire du marc de café un produit à valeur ajoutée. Selon Pujol et al (2013), la richesse en acides gras, lignine, cellulose, hémicellulose et autres polysaccharides du marc de café est un atout, et offre de nombreuses possibilités de valorisation du marc de café.

De nombreuses études ont été menées pour donner une valeur commerciale pour le marc de café, comme charbon actif et biosorbant pour l'enlèvement des xénobiotiques (Benrachedi 2001; Abdebaki, 2010 ; Safaric et al, 2012), comme source d'antioxydants (Pujol et al, 2013), comme engrais organique (Cruz, 2012 ; Gomes et al, 2013), pour la production de biodiesel (Ammerlaan et al, 2012 ; Caetano et al, 2012) et la production de champignons comestibles (Wong & Wang, 1991; Mansour-Benamar et al, 2007 ; 2014 ; Ammerlaan et al, 2012).

Sachant que le marc de café représentent 3/5^e des grains de café vert (Barbera, 1965), l'Algérie produit annuellement 75 000 tonnes de marc de café qui sont généralement jetés à la poubelle.

III. PAILLE DE BLE ET GRAINS D'ORGE

1- BREF APERÇU SUR LA BOTANIQUE ET LA BIOLOGIE DES CEREALES

La paille est un coproduit des cultures de céréales (Zeitoun, 2011). Les deux principales céréales sont le blé et le riz ; les autres céréales comme le maïs, l'orge, le sorgho, le seigle, l'avoine et le millet, sont considérées comme des céréales secondaires. Environ 3/5 des céréales secondaires servent à l'alimentation animale (FAO, Agriculture mondiale : horizon 2015-2030).

Les céréales constituent toujours, de loin, la ressource alimentaire la plus importante au monde, à la fois pour la consommation humaine directe et indirecte en tant qu'intrant pour la production animale (FAO, Agriculture mondiale : horizon 2015-2030).

1.1- Systématique du blé et de l'orge (Cronquis, 1981 ; APGIII, 2009)

Règne :	Plantae		
Sous-règne :	Tracheobionta		
Division :	Magnolophyta		
Classe :	Liliopsida		
Sous-classe :	Commelinidae		
Ordre :	Cyperales	ou	Poales ou Glumiflorae
Famille :	Gramineae	ou	Poaceae
Sous-famille :	Pooideae		
Tribu :	Triticeae		
Sous-tribu1 :	Triticinae	Sous-tribu2 :	Hordeinae
Genre:	<i>Triticum</i> L. (1753)	Genre :	<i>Hordeum</i>
Espèce1:	<i>Triticum aestivum</i> L.	Espèce :	<i>Hordeum vulgare</i> L.
Espèce2:	<i>Triticum durum</i> Desf.		

1.2- Description d'une graminée ou Poacée

Le blé et l'orge sont des Monocotylédones de la famille des Gramineae ou Poaceae appartenant au genre *Triticum* pour le blé et *Hordeum* pour l'orge.

Les Graminées ou Poaceae sont généralement des plantes herbacées, annuelles ou vivaces par un rhizome. La tige est creuse et forme un chaume; les feuilles sont rubanées, distiques et ligulées (fig.15). Les inflorescences sont des épillets uniflores (orge) ou multiflores (blé) (fig.16), protégés par 2 glumes et groupés en épis (pour le blé et l'orge) ou en panicules. Chaque fleur est entourée par 2 glumelles et 2 glumellules et comprend 3 étamines médifixes et 3 carpelles formant un ovaire uniloculaire, à 1 ovule anatrophe, surmonté de 2 stigmates plumeux. Le fruit, un caryopse, est sec et indéhiscent. Il renferme

un embryon extraire et un albumen amylicé et une assise protéique (couche d'aleurone)
(Deysson, 1979).

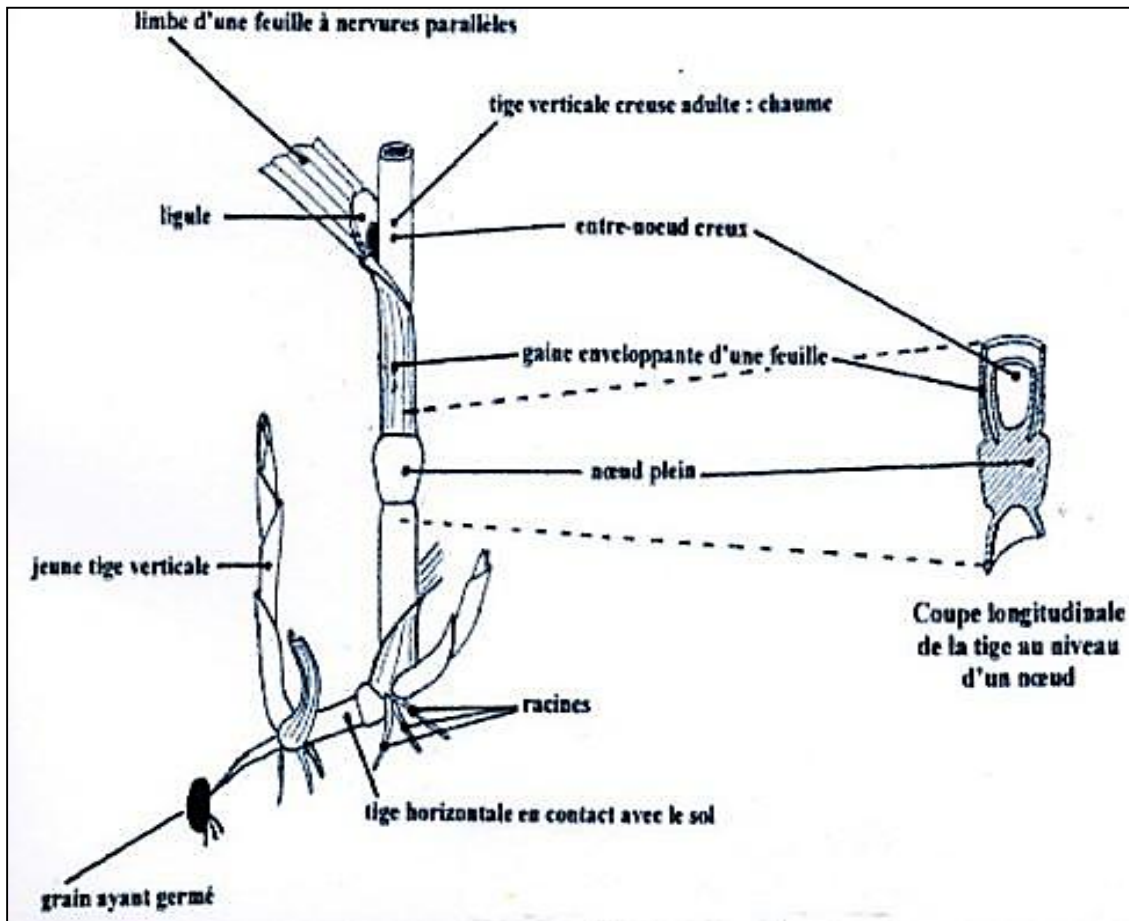


Figure 15: Appareil végétatif d'une céréale, le blé
(Source Clerget, 2011)

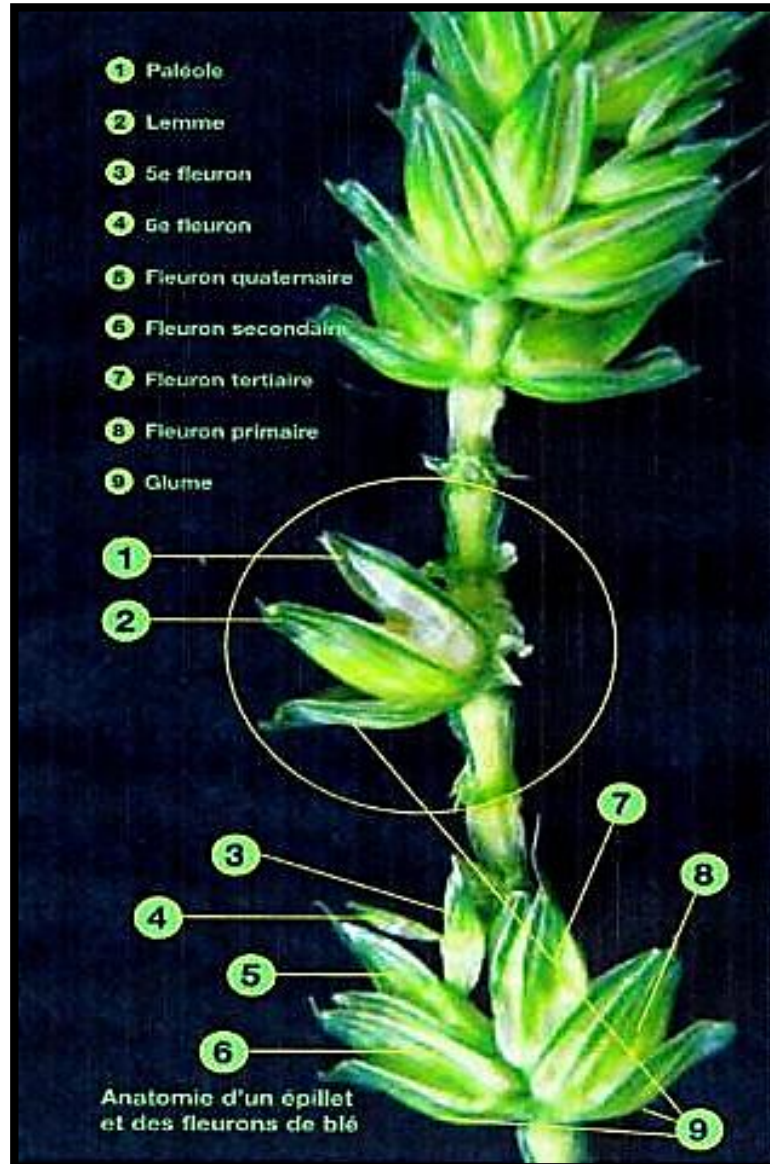


Figure 16: Un épi de blé

(Source: <http://www.cropscience.bayer.ca>)

Les céréales sont autogames sauf le seigle.

La distinction fondamentale entre un blé et une orge est que le blé n'a qu'un épillet (à plusieurs grains) alternativement à chaque étage du rachis de l'épi, alors que l'orge en a trois (à un seul grain) (Chauvet, 2013). Cela confère la morphologie « orge à 6 rangs » ou escourgeon, dit orge d'hiver ou *Hordeum hexastichon* L. (orge hexastique) (Gallais & Bannecot, 1992) ; lorsque les épillets latéraux sont réduits à des vestiges (glumes et glumelles sans grains), c'est la morphologie classique de l'orge à 2 rangs, ou paumelle, ou encore *Hordeum distichon* L. (fig.17 et18) qui prévaut.

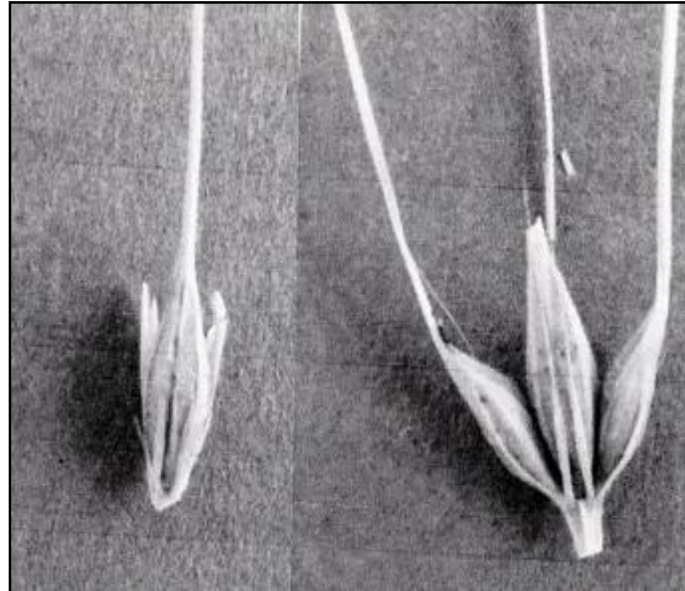


Figure 17: Epillets d'orge à 2 rangs (à gauche) et à 6 rangs (à droite)
(Source; Marc, 2010)



Figure 18: Epis d'orge à 2 rangs (*Hordeum distichum* L.) et à 6 rangs (*Hordeum hexastichum* L.)
(Source : <http://www.wikiwand.com/fr/Escourgeon>)

On distingue par ailleurs des orges de printemps, semés en Février –Mars et les orges d’hivers semés en Octobre-Novembre et qui nécessitent la vernalisation (Runavot, 2011).

2- QUELQUES GENERALITES SUR LE BLE ET L'ORGE

2.1- Origine du blé et de l'orge

2.1.1- Origine du blé

Le mot «Blé» est un terme générique qui désigne, à la fois plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum* et le caryopse produit par ces plantes.

A l'origine même de l'agriculture, le blé est, après des millénaires, la première plante cultivée au monde et l'aliment de base du tiers de la population mondiale (CNRS, 2011).

Originaires du Moyen-Orient, les différentes espèces de blé (*Triticum* et *Aegilops*) ont subi au cours des siècles des transformations qui les ont fait passer de l'état de plantes sauvages à celui d'espèces cultivées. Actuellement, deux espèces de blé sont principalement cultivées (Clerget, 2011) :

- le blé commun ou blé tendre (*Triticum aestivum* L.), riche en amidon, employé pour le pain et cultivé un peu partout dans les régions tempérées,
- le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. durum (Desf.) appelée aussi *Triticum durum* Desf.) utilisé pour les pâtes car riche en amidon et en gluten et cultivé dans des zones plus chaudes et plus sèches

Elles ont été générées par des événements de polyploïdisation intervenus suite à des croisements entre espèces ancestrales:

- Le premier événement, daté d'il y a environ 500 000 ans, implique deux espèces diploïdes présentant 7 paires de chromosomes, *Triticum urtatu* (génomme AA, 7 paires de chromosomes) et une espèce d'*Aegilops* (génomme BB), et a conduit à l'apparition de blés tétraploïdes dont le **blé dur**, *Triticum turgidum* (génomme **AABB**, 14 paires de chromosomes),
- Le second événement a eu lieu au cours de la domestication, il y a environ 9000 ans, entre un blé tétraploïde cultivé et un blé diploïde (*Aegilops tauschii*, génomme DD). Il a donné le **blé tendre**, *Triticum aestivum*, qui est hexaploïde (génomme **AABBDD**, 21 paires de chromosomes) (CNRS, 2011).

C'est au Moyen Orient, au début du Néolithique, que le blé a d'abord été récolté à l'état sauvage comme un produit de la cueillette, dans le « croissant fertile » (actuels Liban, Syrie, Sud de la Turquie) où subsistent à ce jour des blés sauvages (fig.19).

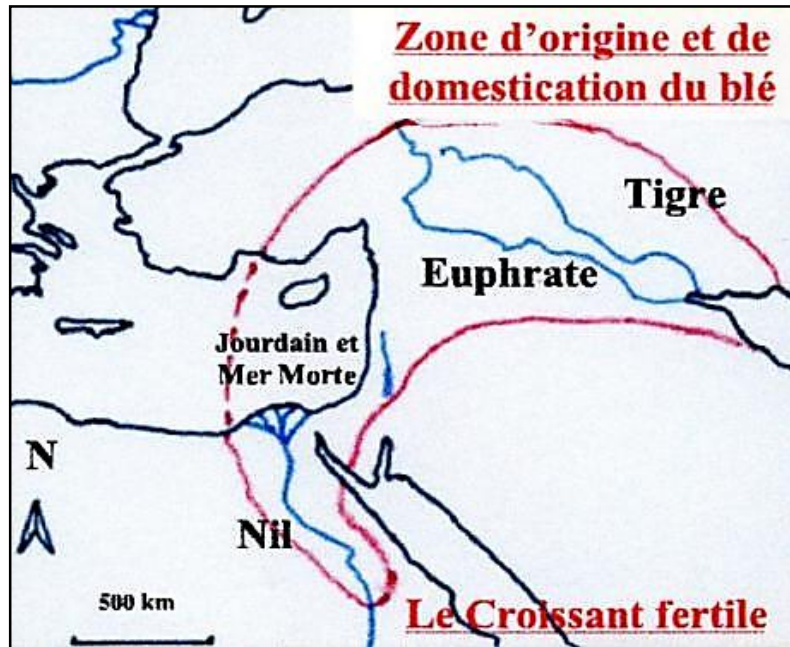


Figure 19: Zone d'origine et de domestication du blé et de l'orge
(Source : Clerget, 2011)

En raison de sa valeur nutritive, le blé s'est imposé, comme une base de l'alimentation en Europe, en Afrique du Nord ainsi que dans une grande partie de l'Asie. Les premières cultures de blé sont apparues en Mésopotamie et dans les vallées du Tigres et de l'Euphrate (www.tiloux.org; Clerget, 2011).

2.1.2- Origine des orges cultivées

Il est presque unanimement reconnu que *Hordeum spontaneum* L., orge sauvage à 2 rang est la forme ancestrale de l'orge cultivée, avec laquelle elle est interfertile. Des restes d'orge à 2 rangs remontant au néolithique (7000 ans av. J.C.) trouvés dans le croissant fertile au Moyen Orient paraissent être les plus anciens vestiges d'orge cultivée (Gallais & Bannecot, 1992).

Avec le blé, l'orge est la plus ancienne céréale cultivée. L'orge (*Hordeum*) est une graminée diploïde ($2n= 14$ chromosomes) (Gallais & Bannecot, 1992).

2.2- Importance économique des céréales

2.2.1- Dans le monde

Le blé est l'une des productions agricoles les plus importantes à l'échelle mondiale avec celle du riz et du maïs. Plus de 600 millions de tonnes de blé sont produites chaque année dans le monde (Zeitoun, 2011).

A la différence, du riz et du maïs dont l'essentiel de la production est assurée dans une seule région du monde (la Chine pour le riz et les Etats-Unis pour le maïs), la culture du blé est présente dans toutes les régions de la planète (Zeitoun, 2011).

La caractéristique de l'orge est son extraordinaire adaptation à des conditions extrêmes, avec une résistance inégalée à la sécheresse et à la salinité, et un cycle de vie court (100 à 120 jours voir moins) (Gallais & Bannecot, 1992, EL Madidi et al, 2004).

Les orges cultivés ont une distribution large: Europe, Afrique du Nord, Ethiopie, Asie jusqu'à la Corée et au Japon (Gallais & Bannecot, 1992).

2.2.2- En Algérie

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole; en effet les produits céréaliers occupent une place stratégique dans l'économie nationale et le système alimentaire algériens (Djermoun., 2009).

Les céréales et leurs dérivés fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009). Les disponibilités en céréales (ou consommation apparente théorique) étaient estimées, en 2009, à 230 kg par habitant en Algérie (dont 87% en blé) (contre 206 en Tunisie et 175 au Maroc) (Rastoin & Benabderrazik, 2014). C'est le blé dur qui constitue la base de l'alimentation (semoule et pâtes). On observe cependant une progression rapide du blé tendre (pain, biscuiterie, pâtisserie). Quant à l'orge et au maïs, ils sont destinés principalement à l'alimentation animale (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

Les céréales sont présentes dans tous les étages bioclimatiques, y compris dans les zones sahariennes (Djermoun, 2009), mais restent majoritairement localisée en zone humide et subhumide, dans le nord du pays (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

Les cultures céréalières occupent plus de 50% des surfaces agricoles utiles (SAU), soit plus de 3 millions d'hectares (Houmani, 2002) équivalants à près de 35% des terres arables. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures (Djermoun, 2009).

Les producteurs de céréales au nombre de 590 000 représentent 58% des exploitants agricoles. Les exploitations agricoles sont majoritairement petites avec 70% des exploitations de moins de 10 ha, 23% ayant des superficies variant entre 10 et 50 ha. Les grandes exploitations qui ne représentent que 2% occupent près du quart de la SAU. (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

Les progrès technico-économiques, ont permis d'augmenter significativement la moyenne décennale de production de blé qui a presque doublé entre 1981-1990 (18,2 Mq (Mq : millions de quintaux) et 2001-2010 (34,9 Mq), avec une progression régulière qui a permis d'accompagner la progression démographique (de 19 à 38 millions d'habitants entre 1980 et 2012) (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

La production moyenne de céréales entre 2008 et 2012 est estimée à 19 Mq pour le blé (60%) et 13 Mq (40%) pour l'orge. Le blé dur représente 70 % de la production de blé et le blé tendre 30% (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

En dépit d'indéniables progrès, les rendements céréaliers demeurent faibles et très irréguliers : 13,5 q/ha pour le blé en moyenne sur 2001-2010 (le blé dur, mieux adapté aux conditions agroclimatiques locales bénéficie de rendements sensiblement supérieurs à ceux du blé tendre) et 13,2 q/ha pour l'orge, ce qui se situe loin derrière la productivité des pays méditerranéens de l'Europe et s'explique à la fois par des causes naturelles (sol et climat), techniques (semences, pratiques culturales) et humaine (organisation et formation des producteurs). On note par ailleurs en Algérie une forte « régionalisation » des conditions de production et donc des niveaux de récolte contrastés d'Est en Ouest la même année (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

Le Ministère de l'Agriculture Algérien, dans le cadre du PRAR, lancé en 2010 a retenu pour le quinquennat 2015-2019 l'ambition d'atteindre 45 millions de quintaux en 2019 pour le blé dur et 19 millions de quintaux pour le blé tendre, ce qui rapprocherait l'Algérie de l'autosuffisance pour le blé dur.

2.3- Relation rendement en grains et paille

Il existe une relation étroite entre la paille totale produite (P) et le rendement en grain (G). Le rapport P/G est d'environ 1 pour les variétés de blé d'hiver mais la fraction récoltable au dessus d'un chaume de 10 à 20 cm ne représente plus qu'environ 60% du rendement en grain de blé. Ainsi, le tonnage de paille récoltable est inférieur à la paille produite par une culture de céréale (FRCA Picardie et COOPERENERGIE, 2008).

Le rendement en paille est évalué en termes de tonnage brut de paille (l'humidité peut varier, elle est généralement voisine de 15% à la moisson) ou bien du tonnage en matière sèche à 0% d'humidité (FRCA Picardie et COOPERENERGIE, 2008).

Cela signifie qu'en 2009, les 29,53 Mq de blé produits en Algérie ont généré 11,81 Mq de paille.

3- LA PAILLE DE BLE

La paille de blé est constituée par la tige avec les feuilles et l'épi ou rachis à son sommet, secs (ZEITOUN, 2011).

3.1- Composition chimique

D'une manière générale, les pailles de céréales sont riches en constituants pariétaux, fort incrustés de lignine, riche également en minéraux dont une partie de silice, mais pauvres en matières azotées et en matières grasses (Février & Willequet, 2009) (Tab. 11).

Tableau 11: Valeurs indicatives des caractéristiques chimiques de la paille de blé

Matière sèche	Protéines brutes	Cellulose brute	Calcium	Phosphore
g/kg	g/kg matière sèche			
850-900	30	43 – 45	2,5-3,1	0,7 – 0,8
Source : Février & Willequet (2009)				

3.2- Valorisation de la paille

Les pailles peuvent servir comme amendement organique ou minéral du sol. Elles constituent une source d'alcalinité. On estime, en effet, la teneur moyenne en CaO de la paille à 12g/kg de matière brute (FRCA Picardie et Cooperenergie, 2008).

L'enfouissement des résidus de culture, y compris les pailles, correspond à un apport d'éléments minéraux P et K pour la culture suivante. La décomposition des pailles libère des

éléments dont l'efficacité est équivalente à celle d'un engrais minéral soluble et la restitution d'une tonne de paille apporte 400 kg de carbone et 6 kg d'azote au sol. Au cours de la décomposition de la paille, la majeure partie du carbone part dans l'atmosphère sous forme de CO₂ alors que tout l'azote est recyclé et reste dans le sol (FRCA Picardie et Cooperenergie, 2008).

La paille de blé peut être utilisée comme litière pour les animaux ou comme source d'énergie thermique (Février & Willequet, 2009). Elle peut servir également de matière première renouvelable et peu coûteuse pour des biocarburants (bioéthanol) (Wierzbicki et al, 2004). Elle peut être aussi utilisée comme substrat de culture du champignon de couche en mélange avec du fumier de cheval (Zeitoun, 2011) ou bien comme substrat de culture aux Pleurotes, seule ou en mélange avec du grignon d'olive ou du marc de café (Mansour-Benamar et al, 2013; 2014).

4- LES GRAINS D'ORGE

4.1- Composition physique et biochimique du grain d'orge

Les grains ou caryopse d'orge (fig.20) restent revêtus de glumelles après égrainage.



Figure 20: Grains d'orge

Le grain d'orge se compose de 3 parties principales (fig.21) (Runavot, 2011) :

- les enveloppes organisées en plusieurs assises (testa ou tégument séminal, péricarpe et glumelle).
- L'embryon
- La couche à aleurone et l'albumen amylicé.

4.1.1- Les enveloppes

Les glumelles constituent l'enveloppe externe du grain d'orge et représente environ 10% de son poids sec. On distingue la glumelle dorsale ou inférieure (lemma) de la glumelle ventrale ou supérieure (palea). Elles sont principalement formées de cellulose (20%), d'hémicellulose (30-45%) et de lignine (10-20%).

Le péricarpe agit comme une membrane semi-perméable permettant les échanges gazeux. Il se situe entre les glumelles et le tégument séminal. Il est formé par l'hypoderme et les cellules croisées qui sont de forme triangulaires. Il est séparé des glumelles par l'épicarpe cutinisé et est soudé à la testa.

La testa est entourées par 2 zones cuticulaires, la plus interne, plus fine, est issue du nucelle et la plus externe issue des cellules de la testa.

4.1.2- l'embryon

L'embryon comprend 2 parties: l'axe embryonnaire (future plantule) et le scutellum ou cotylédon qui jouera un rôle dans la synthèse d'enzymes et le transfert des nutriments de l'albumen vers l'embryon lors du développement de la plantule.

4.1.3- l'albumen

C'est un tissu de réserve. Il est composé de la couche à aleurone et de l'albumen amylicé. Il contient des grains d'amidon (5278%), des protéines de réserve (59%), des lipides, des fibres (1314%) et des polysaccharides pariétaux (68%).

La couche à aleurone est formée de 3 à 4 couches de cellules dans le grain d'orge alors qu'elle n'est formée que d'une seule assise chez le blé. Elle est riche en matières azotées et en réserves lipidiques.

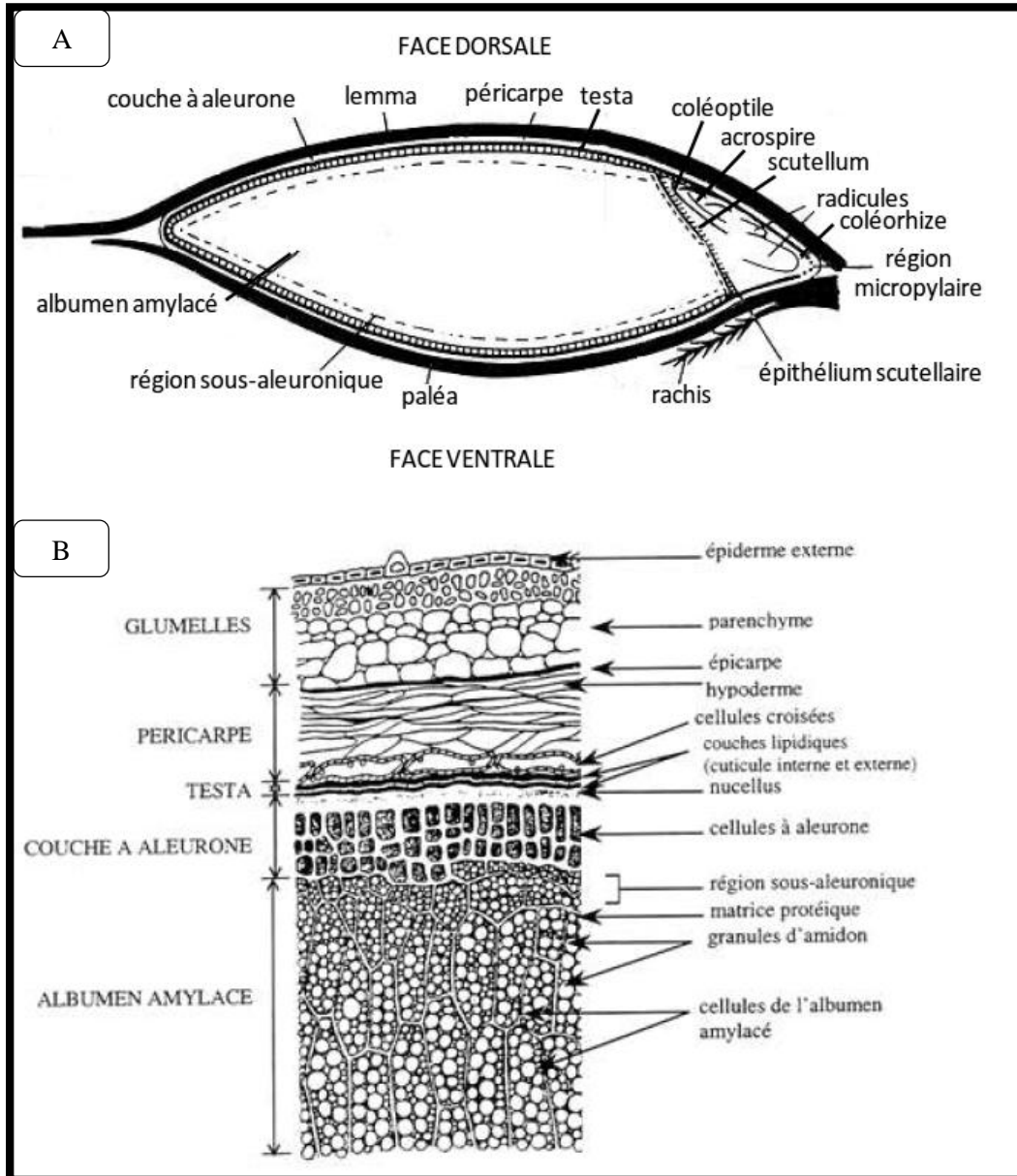


Figure 21: Morphologie du grain d'orge.

Coupe longitudinale d'un grain d'orge (A), coupe transversale des enveloppes, de la couche à aleurone et de l'albumen amylicé d'un grain d'orge (B)

(Source : Runavot, 2011)

4.2- Utilisation de l'orge

Les grains d'orge sont utilisés aussi bien en alimentation humaine qu'en alimentation animale (Bamouh, 1999). Ils sont également utilisés en malterie (Guiga, 2006 ; Runavot, 2011).

DEUXIEME CHAPITRE : LES CHAMPIGNONS

1- GENERALITES:

Les champignons représentent un des groupes d'organismes vivants eucaryotes le plus abondant sur terre et jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes (Thuillier, 2013).

Les champignons que nous présentons ici appartiennent tous à la classe des Basidiomycètes. Ils ont un mode de vie saprophyte. Comme tous les champignons, ils sont caractérisés par leur paroi cellulaire chitineuse. La chitine est un polysaccharide formé de résidus N-acétyl glucosamine, de glucanes et de mannoprotéines variées (Véga, 2012). Ils sont également caractérisés par leur structure cellulaire filamenteuse, les hyphes ou mycelium pluricellulaire.

Les Basidiomycètes sont des champignons qui se reproduisent essentiellement par voie sexuée. La reproduction asexuée est rare.

Le cycle de vie d'un champignon passe par deux phases, une phase végétative et une phase fructifère. A titre d'exemple, nous avons repris dans la figure 22 le biocycle de *Pleurotus ostreatus* schématisé par Delmas en 1989.

Au cours de la phase végétative se produit la croissance de mycéliums primaires monocaryotiques issus de la germination de basidiospores (fig.22-1 et fig.22-2).

La phase fructifère démarre avec la conjugaison (plasmogamie) de deux mycéliums primaires compatibles donnant naissance à un mycélium secondaire dicaryotique (fig.22-3) qui, à son tour, entre en phase de croissance (fig.22-4). Cette phase se caractérise par la formation de boucles d'anastomoses. Lorsque les conditions du milieu changent et deviennent contraignantes, ce mycélium s'agrège et s'organise en primordia. Ces derniers évoluent en carpophores (fig.22-5) au sein desquels, s'individualisent, dans l'hymenium, les basides (fig.22-6). Les basides sont le siège de la reproduction sexuée (caryogamie). Après la méiose, la baside produit quatre basidiospores mononucléées haploïdes (fig.22-7 et fig.22-1) qui se détachent puis germent (fig.22-2) lorsque les conditions sont favorables et le biocycle reprend.

La culture artificielle de champignons comestibles s'intéresse principalement à cette phase dicaryotique, symbolisée dans la figure 22 par les étapes successives (si l'on doit démarrer la culture à partir d'un carpophore) 5, 3, 4 et 5 du cycle de vie du pleurote (les détails des étapes de la culture sont données dans le chapitre relatif aux méthodes d'étude).

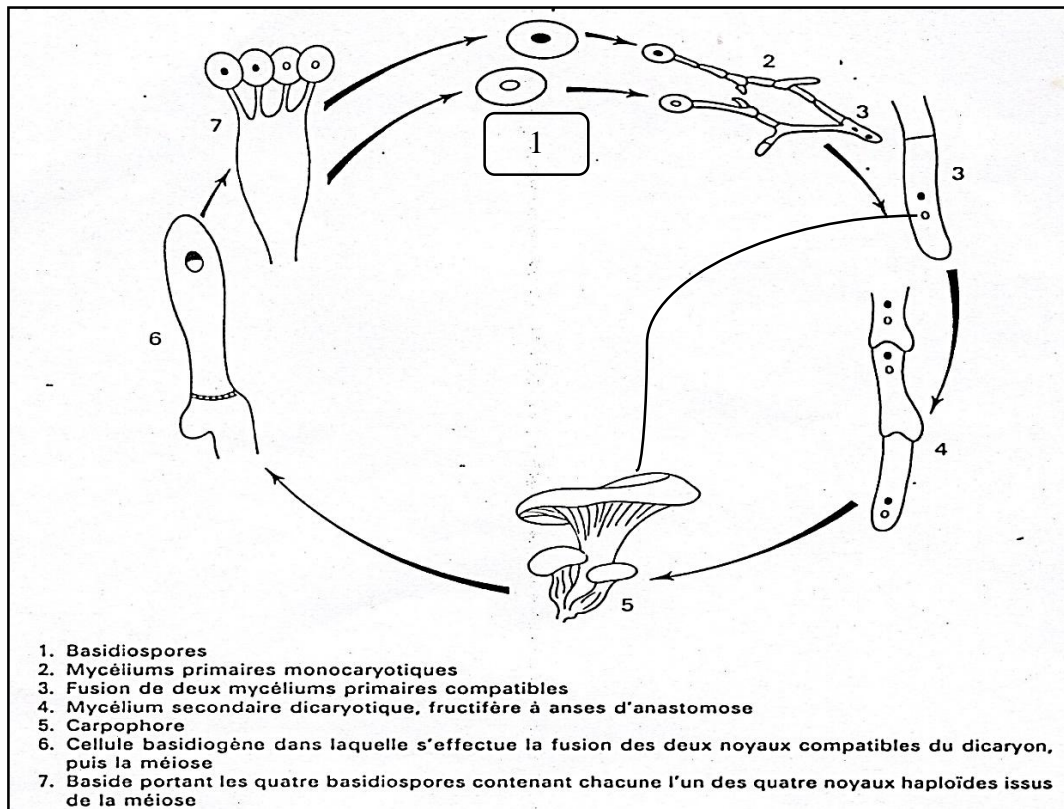


Figure 22: Cycle de reproduction de *Pleurotus ostreatus*
(Source: Delmas, 1989)

2- PRESENTATION DE QUELQUES SOUCHES DE MACROMYCETES QUE NOUS AVONS ESSAYE D'ISOLER

2.1- *Pleurotus ostreatus* (Jacq. :Fr.) Kummer

Nom commun : Oyster Mushroom, Pleurote en huître (fig 22 et 23)

2.1.1- Description

- Le chapeau : légèrement bombé puis s'étalant en éventail, charnu, marron grisâtre, de 4 à 15 cm de diamètre. Les marges du chapeau sont incurvées et lisses.
- Les lamelles : sont blanchâtres, serrées et longuement décurrentes, plus espacées vers le pied.
- Le pied (ou stipe) est excentré, très court, plein, poilu à la base, (1 –10 cm de longueur et 1–3 cm de diamètre selon Delmas, 1989). Pas d'anneau et pas de volve.
- La chair : blanche et épaisse, tendre sauf le pied.
- Les basides avec quelques rares basidiospores (7,5–11 x 3–4 µm)
- Date de récolte et du 1er isolement: Novembre 1993.
- Bon comestible. Pousse en touffes.

2.1.2- Systématique

Systématique du pleurote en huître selon Guimberteau (1995), Matheny et al (2006); Kalamees (2007), Courtecuisse & Duhem (2011), Hibbett et al (2014) et Saar & Parmasto (2014):

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycetes.
Sous classe	: Agaricomycetidae
Ordre	: Agaricales ou Tricholomatales*
Famille	: Pleurotaceae
Genre	: <i>Pleurotus</i> .
Espèce	: <i>P. ostreatus</i> (Jacq. Ex. Fries) Kummer (1871) : <i>P. ostreatus</i> (Jacq. : Fr.) P.Kumm (1871)



Figure 23: Touffes de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. :Fr.) Kummer poussant sur une souche de ricin (*Ricinus communis* L.)



Figure 24: *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer. Face supérieure du chapeau (A) ; face hyménium (B)

2.1.3- Répartition.

Les Pleurotaceae sont répandu dans les zones tempérées et tropicales (Cannon & Kirk, 2007). Le pleurote en huître est un champignon que l'on peut trouver à l'état sauvage sur du bois, particulièrement en Europe et en Afrique du Nord (Givelet, 2011).

2.1.4- Importance économique et écologique

Le pleurote est saprophyte sur des substrats ligneux. Autrefois cultivé sur des billes en bois ensemencées et enterrées. *Pleurotus ostreatus* est actuellement, largement cultivées, sur substrats déchets végétaux et industriels (paille, sciure de bois ou autres produits déchets agro-industriels). Il y a de nombreuses recherches sur l'utilisation des pleurotes dans la bioremédiation des sols contaminés par les PCP (Cannon & Kirk, 2007).

2.1.5- Importance pharmacologique

De nombreuses activités pharmacologiques sont attribuées au pleurote en huître:

Activité anticancéreuse: Selon Givelet (2011) et Blandeau (2012) le pleurote en huître a une activité de protection contre le cancer du sein et le cancer du colon par arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses en G0/G1 et d'induction de l'expression des protéines P53 (protéine suppresseur de tumeur) et de la protéine P21 (agit comme facteur de transcription, active la réparation cellulaire ou l'apoptose). De nombreux cancers sont provoqués par une mutation du gène codant la protéine P53 (Givelet, 2011, Blandeau, 2012).

Activité anti-cholestérol: diminution du VLDL-c (Very-low-density lipoprotein cholesterol), LDL-c (low-density lipoprotein cholesterol), du cholestérol total et des triglycérides, grâce à la lovastatine et à la mévinoline, molécules inhibitrices de l'enzyme HMG CoA réductase (l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase) qui permet la synthèse du cholestérol (Givelet, 2011, Blandeau, 2012, Radha & Lakshmanan, 2013).

Activité anti-oxydante puissante : diminution du malondialdéhyde (MAD) (marqueur du stress oxydant), augmentation du glutathion, de la vitamine C et de la vitamine E, ainsi que la superoxyde dismutase (SOD, enzyme antioxydante) (Jayakumar et al, 2007, Givelet, 2011).

2.2- *Auricularia auricula-Judae* (Bull. : Fr.) Wettstein

Nom commun : Oreille de Judas (fig 25)

2.2.1- Description

- **Carpophores** : les plus jeunes sont en forme de coupe, étalés et irréguliers, en forme d'oreille, pour les plus âgés. Ils sont de dimensions variables (2- 10 cm de diamètre).
- **L'hyménium** : est brun rougeâtre, ridé à veiné. La face externe du carpophore est plus pâle et d'aspect velouté (furfuracé).
- **Pied** : absent.
- **Spores** : 16–22 × 6-7 µm
- **La chair** : est élastique et gélatineuse devenant plus coriace en vieillissant
- Récolté sur bois mort d'amandier (*Amygdalus communis* L.) en Novembre 2003 à Oued-Aissi
- Isolement : les nombreux essais d'isolement à partir de carpophores ont toujours été négatifs

2.2.2- Systématique

Systématique de *Auricularia* selon Cline (2006), Courtecuisse & Duhem (2011), Hibbett et al (2014) :

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycetes
Ordre	: Auriculariales
Famille	: Auriculariaceae
Genre	: <i>Auricularia</i>
Espèce	: <i>A. auricula-Judae</i> (Bull.: Fr.) Wettstein 1885



Figure 25: Carpophores de *Auricularia auricula-Judae* (Bull. : Fr.) Wettstein.

2.2.3- Répartition

C'est un champignon cosmopolite, très présent en Afrique du Nord et en Europe ; il pousse souvent sur bois de conifères (Cline, 2006) mais surtout sur les vieux sureaux morts ou en fin de saison. Il doit son nom à cet arbre, puisque l'histoire dit que Judas s'est pendu à un sureau (Givelet, 2011).

2.2.4- Importance économique et écologique:

C'est un champignon saprophyte sur des substrats ligneux, cultivé sur des buches artificielles de divers résidus agricoles en Chine.

2.2.5- Importance pharmacologique :

Activité antioxydante : Givelet (2011) rapporte que cette activité est liée à des polysaccharides les AAP (AAP = Polysaccharides de *Auricularia auricula*) diminution du niveau de MDA (Malondial-déhyde plasmatique) et augmentation de l'activité de la SOD (superoxyde dismutase) et de la GSH (glutathion= tripeptide G-E-C) (Fan et al, 2007; Zhang et al, 2011; Khamlue et al, 2012).

Activité anticancéreuse : augmentation de la nécrose et de l'infiltration cellulaire par induction de l'apoptose (Ma et al, 2010; Khamlue et al, 2012).

Activité anticoagulante et antiagrégante : présence d'un polysaccharide qui catalyse l'inhibition de la thrombine par l'antithrombine. Yoon (2003) a observé une activité antiagrégante similaire à l'aspirine chez les rats. Mais il y'a un risque d'hémorragie (syndrome de Szechwan) (Khamlue et al, 2012).

Activité anti-cholestérol : diminution du cholestérol total et du LDL-c par formation d'un gel polysaccharidique diminuant la formation de micelles dans l'intestin, et donc d'absorption de cholestérol (Givelet, 2011).

2.3- *Ganoderma lucidum*: (W. Curtis: Fr.) P. Karsten?

Nom commun en français: Ganoderme luisant, polypore livide, reishi (fig.26).

Les différentes appellations attribuées au champignon *Ganoderma lucidum* (Kapoor & Sharma, 2014) sont :

- en anglais: reishi, shiny polyporus,
- en chinois: Ling Chih, Ling Zhi,
- en japonais: reishi, manmentake.

2.3.1- Description

- **Carpophore** à chapeau circulaire, réniforme, ou spatulé, latéral, cylindrique, bosselé, à bourrelets concentriques avec un aspect laqué vernissé brillant, dur, brun-rouge à brun-violacé, de taille très variable. Il a été récolté dans la forêt de Darna en 2003, 2004, 2005 et à Tigzirt à l'automne 2012.
- **Hyménium** : Les tubes, d'abord jaune-brun, puis brun sombre, aboutissent à des pores petits et ronds, en partie recouverts par une pruine blanchâtre, devenant ensuite brun cannelle.
- **Le pied** :(5 à 15 cm de long), latéral, assez tortueux, est recouvert de la même cuirasse que le chapeau.
- **La chair**, blanc crème, se teinte rapidement de brun clair (Blandeau, 2012).

2.3.2- Systématique

Selon Courtecuisse et Duhem (2011) et Kapoor & Sharma (2014):

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycetes
Ordre	: Polyporales
Famille	: Ganodermataceae ou Polyporaceae
Genre	: <i>Ganoderma</i> (Karsten 1881)
Espèce	: <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis: Fr.) P. Karsten?



Figure 26: *Ganoderma lucidum* (Curtis: Fr.) P. Karsten.
Face supérieure du chapeau (A) ; face inférieure du chapeau (B)

2.3.3- Répartition

Ce champignon pousse surtout à l'automne, sur les troncs des pruniers sauvages en décomposition, parfois sur ceux des chênes ou de châtaigniers. Très rare à l'état sauvage, il pousse exclusivement en montagne, dans des forêts profondes. De nos jours, il est cultivé sur des milieux artificiels (Givelet, 2011)

2.3.4- Importance économique et écologique

Les espèces de Ganoderme ne sont pas considérées comme des champignons comestibles car leurs carpophores sont souvent épais, dures avec une chair à consistance de bois. *Ganoderma lucidum* provoque chez ses hôtes une pourriture blanche, donc intervient dans la dégradation de la lignocellulose (Paterson, 2006, Perumal, 2009, Kapoor & Sharma, 2014).

Ganoderma lucidum est cultivé à l'échelle commerciale, sur des bûches de bois. Des essais de cultures artificielles ont commencé en 1937 et ce n'est qu'en 1971 que la culture a pu être réalisée avec le blanc obtenu sur sciure de bois. Il existe 3 techniques de culture (Perumal, 2009):

- la culture sur des buches de bois (méthode la plus populaire) (nécessite 5 à 12 mois de culture pour obtenir les fructifications)
- La culture en bouteille ou en pots

- et la culture en bloc (tank culture)

Selon Perumal (2009), la technique de culture du reishi a été maintenue secrète dans de nombreux pays comme le Japon, la Corée et la Chine, qui ont pu obtenir des fructifications au bout de 3 à 12 mois de culture alors que la méthode utilisée en Inde par le Centre de Recherche de Murugappa Chettiar (MCRC) en utilisant des résidus agricoles (bagasse de canne à sucre, des copeaux de bois, la paille de riz...), la première récolte a été obtenue au bout d'environ 1 mois.

2.3.5- Importance pharmacologique

La médecine traditionnelle chinoise utilise depuis plus de 4000 ans les carpophores du Reishi (Perumal, 2009). Cette médecine considère que la chair du ganoderme est un précieux tonique du Qi, l'énergie vitale qui soutient le corps humain (Givelet, 2011). Il est utilisé sous forme de tisanes, de macérât alcoolique, en décoction ou sous forme de gélules (Welti, 2009). Comme nutraceutique, il est utilisé pour soigner plus de vingt différentes maladies (migraine, mal de tête, hypertension, arthrite, bronchite, asthme, anorexie, gastrite, hémorroïdes, hypercholestérolémie, néphrite, dysménorrhée, constipation, problèmes cardiovasculaires, leucopénie, cancer y compris la leucémie, hépatite A, B et C, la stérilité, le psoriasis et l'épilepsie (Perumal, 2009, Kapoor & Sharma, 2014). Il stimule l'appétit, combat les insomnies, l'asthénie et les vertiges ; il est également utilisé comme antidote dans les intoxications par les champignons. Il serait le plus ancien champignon utilisé en médecine et est utilisé aujourd'hui comme complément alimentaire (Perumal, 2009)

Les propriétés anticancéreuses prêtées au Ganoderme sont partiellement confirmées par des études scientifiques (Min et al, 2000, Blandeau, 2012).

Selon Paterson (2006), Welti (2009) et Givelet (2011), deux classes de molécules se démarquent chez le reishi, les triterpènes et les polysaccharides.

Les activités induites par les triterpènes sont diverses :

Activités antioxydantes : (protection hépatique et rénale par piégeage des radicaux libres).

Activités antivirales : (El-Mekrawy, 1998, Min et al, 2000, et le HSV (Herpes Simplex Virus) (Givelet , 2011).

Activité anticancer: induction de l'apoptose, inhibition de la prolifération cellulaire (Min et al, 2000).

Les activités induites par les polysaccharides sont surtout des **activités anticancer** par stimulation du système immunitaire (Induction de la sécrétion des TNF- α et les INF- γ par les lymphocytes T qui jouent un rôle important dans la suppression des cellules tumorales) (Lin & Zhang, 2004).

2.4- *Lentinus edodes* (Berk.) Singer

Synonymes :

- *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler,
- *Cortinellis edodes* P. Henn. ;
- *Tricholomopsis edodes* (Piot, 1983).

Nom commun français: Lentin des chênes (nom commerciale qui, selon Fourré (1990), n'a pas de signification mycologique, nom impropre selon Delpech et Olivier, (1990), Shiitake, champignon parfumé du japon, (Delpech et Olivier, 1990) , ou simplement champignon parfumé, champignon noir, (à ne pas confondre avec le champignon noir chinois qui est en fait *Auricularia auricula* Judae (Piot, 1983)) (fig.27).

Nom japonais : Shiitake

Nom chinois : Xianggu (En Chine xianggu signifie champignon parfumé (xian : parfum, gu : champignon) ou Xianggu.

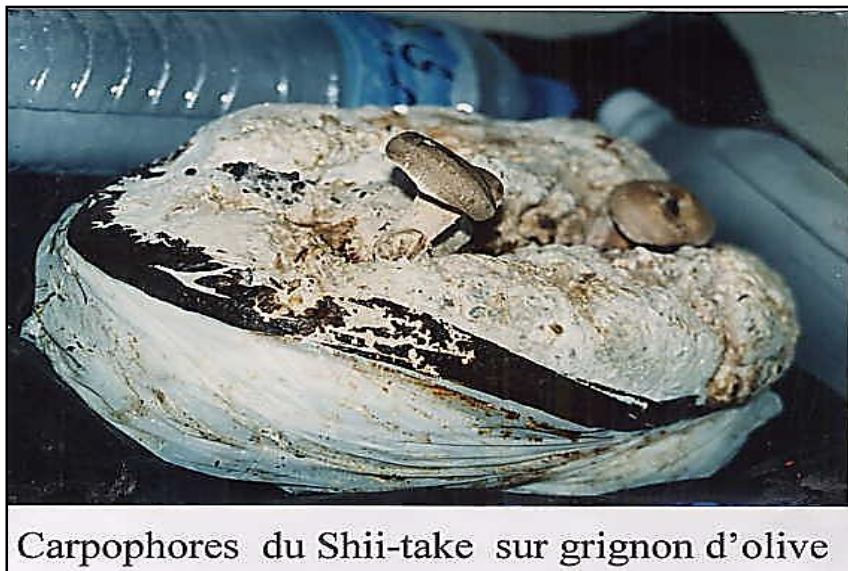
2.4.1- Description

Selon Lelley (1984), Delmas (1989), Fourré (1990) et Laurent (2004) :

- **Chapeau** arrondi, pouvant atteindre 15 cm de diamètre, sa surface est sèche, couverte de fibrilles, il est aplati surtout sur le dessus, de couleur brun foncé à noire, puis la teinte devient de plus en plus claire vers le bord; les lames sont serrées, blanchâtres à beige, brunissant un peu avec l'âge, arrondies à l'insertion avec le pied. Leur arête (partie libre des lames) est légèrement denticulée.
- **Stipe** charnu, court, cylindrique, blanchâtre, prend progressivement la couleur du chapeau, ferme, souvent courbé à la base, un peu pelucheux,
- **La chair** à odeur très particulière, qui s'amplifie avec la cuisson, est blanche, ferme, et même dure dans le pied,
- **Sporée** blanchâtre avec basidiospores lisses, à paroi fine, subcylindriques et non amyloïdes, (5,5–6,5) x (3–3,5) µm.
- **Souche commerciale utilisée** : (S610) de la Société Royal Champignon de France en 1993 sous forme de mycélium dicaryotique développé sur grains de seigle.

2.4.2- Systématique

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycetes
Sous-classe	: Agaricomycetidae
Ordre	: Tricholomatales
Famille	: Omphalotaceae (Courtecuisse & Duhem, 2011, Givelet, 2011, Chaboud, 2013) : Tricholomataceae (Pegler, 1983) : Agaricaceae (Bisen et al, 2010)
Genre	: <i>Lentinula</i> sensu Pegler (1975) (Buchanan, 1993) : <i>Lentinus</i> sensu Singer (1986) (Buchanan, 1993)
Espèce	: <i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler : <i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Singer



Carpophores du Shii-take sur grignon d'olive

Figure 27: Deux carpophores de *Lentinus edodes* (Berk.) Singer développés sur grignon d'olive

2.4.3- Répartition

Le shiitake est un champignon parfumé comestible qui pousse à l'état naturel en Extrême Orient (Japon, Chine, Corée), sur le bois mort de divers feuillus (hêtre, châtaignier...), tout particulièrement sur le tronc d'un arbre de la famille des Fagacées nommé «shii» (*Castanopsis cuspidata* Schottky), le faux châtaignier. En japonais, «také» signifie champignons. Le shiitake est, par conséquent, le champignon qui pousse sur l'arbre «shii». Il existerait également en Australie et en Nouvelle Zélande (Bisen et al, 2010). De nos jours, il est cultivé un peu partout dans le monde (Givelet, 2011).

2.4.4- Importance économique et écologique:

Selon les recherches effectuées par Blandeau en 2012, les Chinois connaissaient le shiitake depuis 7000 ans; il est également très utilisé par les Japonais qui le cultivent depuis le moyen âge (entre le Vème et XVème siècle), il était alors, réservé à l'empereur et à sa cour. Les Etats Unis l'ont cultivé à partir de 1970, puis l'Europe (Blandeau, 2012). En 1980, le Japon était le principal producteur de shiitake, mais en 1997, il a été supplanté par la Chine qui a produit presque 1400 000 tonnes de Shiitake, quantité estimée représenter 89% de la récolte mondiale (Givelet, 2011). Durant la dynastie des Ming, (1368 à 1644), un célèbre médecin chinois (Wu Ri) qualifia le champignon d'« élixir de vie ». Sa réputation auprès de ceux qui recherchaient la longévité n'a cessé de croître (Givelet, 2011).

Aujourd'hui, ce champignon comestible, agent de la pourriture blanche, est l'espèce la plus cultivée après le champignon de Paris. Sa production traditionnelle se fait sur des bûches. Selon Piot (1983), le bois utilisé sur l'île de Kyushu (Japon), par ordre décroissant d'importance, est le bois de chêne rouge (*Quercus acutissima* Carr. (50%), suivi du chêne blanc (*Quercus serrata* Thunb.) (40%) puis les charmes (*Carpinus* sp) et les chênes verts (*Cyclobalanopsis* sp); c'est *Q. acutissima* qui semble donner de meilleures résultats aussi bien du point de vue rendements par bûches que du point de vue qualité de champignon (shiitake) obtenu.

Sa culture, au Japon, se fait également dans des pots contenant un substrat organique composé de chanvre ou de paille de blé, additionné de son (de blé, de riz, de millet, de maïs ou de seigle), de carbonate de calcium, de gypse et de sucre ; la méthode chinoise, quant à elle, utilise des substrats à base de sciure de bois (Givelet, 2011).

2.4.5- Importance pharmacologique

De nombreuses activités pharmacologiques sont attribuées au shiitaké.

Une activité hypolipémiante : Givelet (2011) rapporte que l'activité hypolipémiante de ce champignon pourrait être expliquée par à deux mécanismes d'action. Le premier mécanisme est dû à la présence de l'éritadénine, molécule induisant une diminution du LDL-c et du HDL-c, par modification du métabolisme hépatique des phospholipides (Jong & Birmingham, 1993) et le deuxième mécanisme par la présence de polysaccharides qui empêcheraient l'expression de l'ARN de VCAM-1 des cellules endothéliales de l'aorte

thoracique (Vascular cell adhesion protein 1 aussi connue sous le nom de vascular cell adhesion molecule 1, responsable de l'inflammation des plaques d'athérome), augmentation de l'activité des enzymes anti-oxydantes, diminution du cholestérol total, des triglycérides et du LDL-c et de l'oxydation provoquée par le stress oxydatif d'une nourriture grasse.

Une activité anticancéreuse : Grace à la présence du lentinane (Piot, 1983). le lentinane inhibe la croissance des cellules cancéreuses (amélioration du nombre de guérisons chez les patients avec chimiothérapie + lentinane comparé à chimiothérapie seule), stimulation du système immunitaire contre le cancer (Givelet, 2011).

Des activités antibiotique et antifongique: le shiitaké est actif contre *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ainsi que sur *Mycobacterium tuberculosis*, par augmentation de la quantité de macrophages (Chen & Seviour, 2007)

2.5- *Flammulina velutipes* (Curt. : Fr.) P. Karsten

Synonymes :

Flammulina velutipes (Curt. Fr.) Sing.
Collybia velutipes (Curtis) P. Kumm., 1871.
Agaricus velutipes Curtis, 1782.

Nom commun : Collybie à pied velouté; champignon japonais (fig.28)

Nom japonais : enokitake, enoki (Champignons en aiguilles dorées)

2.5.1- Description

- **Chapeau** pouvant atteindre 10 cm; bombé à convexe étalé, visqueux à lubrifié, lisse ou ridulé, orangé à brun orangé, plus pâle à la marge ;
- **Lames** larges, peu serrées, échancrées, jaunâtres ;
- **Stipe** souvent courbé, velouté, jaunâtre au sommet et brun à noir en bas
- **La chair** est pâle, inodore,
- **Les spores** mesurent 8 x 5 µm,
- **La texture** est un peu coriace et la microscopie est particulière (cystides) (Givelet, 2011, Blandeau, 2012).

2.5.2- Systématique

Flammulina velutipes appartient :

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycetes
Sous-classe	: Agaricomycetidae
Ordre	: Tricholomatales (Courtecuisse et Duhem, 2011) : Agaricales (Ishikawa et al, 2013)
Famille	: Physalacriaceae (Courtecuisse et Duhem, 2011, Ishikawa et al, 2013) ou Xerulaceae (Courtecuisse & Duhem, 2011) (issue des anciennes Dermolomataceae). : Trichomomataceae (Karaman et al, 2005)
Genre	: <i>Flammulina</i>
Espèce	: <i>Flammulina velutipes</i> (Curt.: Fr.) P. Karsten (Karaman et al, 2005) : <i>Flammulina velutipes</i> (Curt. Fr.) Sing. (Buchanan, 1993, Ishikawa et al, 2013).

2.5.3- Répartition

Il est assez commun. Il s'agit d'un champignon qui pousse en touffe (10 à 20 spécimens) sur les souches et branches mortes de feuillus. Il apparaît en hiver (Blandeau,

2012). Le champignon se trouve principalement en Asie où il est cultivé, mais également en Amérique et en Europe (Givelet, 2011).



Figure 28: *Flammulina velutipes* (Curt.: Fr.) P. Karsten développé sur grignon d'olive

2.5.4- Importance économique et écologique

C'est un bon comestible (Courtecuisse et Duhem, 2011). Il est très populaire au Japon (Ishikawa et al, 2013) où il est cultivé (Givelet, 2011).

2.5.5- Importance pharmacologique

En usage traditionnel, l'enokitake est connu comme champignon possédant des propriétés antitumorales et immunostimulantes.

Activité anticancer : On retrouve, dans les composés actifs isolés soit à partir des carpophores soit à partir de cultures mycéliennes, des sesquiterpènes, des polysaccharides (EA3, EA5, EA501, EA6 et SFA1), des glycoprotéines (proflamine : activité anticancéreuse) et une protéine immunomodulatrice (FIP-fve : Fungal Immunomodulatory Protein of *Flammulina velutipes*), une protéine antitumorale, la flammuline (Blandeau, 2012). FVA-L, une lectine qui possède une activité d'hémagglutination.

Activité antioxydante : présence de l'ergothionéine, puissant antioxydant contre l'oxydation lipidique et l'auto oxydation de l'oxymyoglobine (Bao et al, 2010).

Activités antibiotiques : les sesquiterpènes (énokipodine A, B, C et D) ont des propriétés antibiotiques (contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) (Ishikawa et al, 2013).

Activité anti-cholesterol : diminution du LDL-c grâce à la présence des fibres: augmentation de la quantité d'ARNm codant pour le récepteur au LDL et augmentation de la sécrétion fécale de LDL-c (Fukushima et al, 2001).

PARTIE B : PARTIE EXPERIMENTALE.

PREMIER CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL UTILISE

1- MATERIEL MYCOLOGIQUE

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé deux souches de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex.Fries) Kummer :

-La souche POL, *Pleurotus ostreatus* Locale isolée à Oued Aissi (Tizi-Ouzou, Algérie) et entretenue depuis au Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université de M. Mammeri de Tizi-Ouzou ;

-La souche POC *Pleurotus ostreatus* commerciale provenant du Laboratoire de Cryptogamie de l'Université Paul Sabatier de Toulouse (France) et originaire de la Société Royal Champignon de France.

2- MILIEUX DE CULTURE GELOSES UTILISES

La composition et le mode de préparation des milieux de culture sont présentés dans les tableaux 12 et 13.

2.1- Milieu de culture semi synthétique : Milieu PDA (Pomme de Terre – Dextrose- Agar)

La composition et le mode de préparation des milieux de culture gélosés utilisés sont présentés dans le tableau 12 (Rapilly, 1968) et le tableau13 (Raper et al, 1972).

Tableau 12: Composition chimique et mode de préparation du milieu PDA (Rapilly, 1968)

Composition chimique	Mode de préparation
200g de pomme de terre lavée et épluchée puis coupée en petits cubes 20g de glucose 20g de gélose	Cuire 15 à 20 min la pomme de terre dans 200ml d'eau distillée pendant 20mn ; récupérer le filtrat, ajouter au glucose et à la gélose, ajuster à 1 litre d'eau distillée. Homogénéiser et stériliser à 120°C pendant 20mn.

2.2- Milieux de culture synthétiques : milieux ODDOUX et RC

Tableau 13: Composition et mode de préparation du milieu Oddoux

Milieu de culture	Composition chimique	Mode de préparation
Oddoux (Oddoux, 1957)	10g de gélose 16,5g de glucose 3,5g d'extrait de malt 0,50g d'hydrolysate de caséine 0,35g de KH_2PO_4 0,25g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,35g de tartrate d'ammonium	Mélanger tous les composés, ajouter une quantité d'eau distillée suffisante pour 1litre, homogénéiser et stériliser à 120°C pendant 20mn
Raper Complet (RC) (Raper et al, 1972)	20g de gélose 20g de glucose 0,50g d'hydrolysate de caséine 1g de K_2HPO_4 0,5g de KH_2PO_4 0,5g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2g de peptone de viande 2g d'extrait de levure	

3- MATERIEL VEGETAL UTILISE: GRIGNON D'OLIVE, MARC DE CAFE, GRAINS D'ORGE ET PAILLE DE BLE

Le matériel végétal utilisé a été collecté ou acheté dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Algérie).

3.1- L'orge

L'orge a été achetée dans un commerce, à Boghni. Elle est de la récolte de l'année et provient d'une ferme de Ain-Zaouia (Draa El Mizan). Elle était de très bonne qualité: les graines étaient assez grosses avec des glumelles d'un jaune doré et en très bon état sanitaire. C'est une orge destinée à l'alimentation humaine.

3.2- Le grignon d'olive

Nous avons pour habitude de récupérer le grignon d'olive de deux huileries, une huilerie située sur la route de Boghni et une huilerie situé à Oued-Aissi. Il s'agit d'huileries relativement récentes, de type décanter trois phases.

Le grignon utilisé doit provenir de la trituration du jour. Il est ramassé à la sortie du système d'évacuation du grignon d'olive, encore chaud et fumant.

Dans le cas où le grignon d'olive n'est pas utilisé immédiatement après sa récolte, pour éviter tout développement de moisissures, il est étalé et mis à sécher en plein air, soumis aux intempéries ou au laboratoire à l'abri des intempéries (selon la disponibilité du laboratoire).

3.3- Le marc de café

Le marc de café provient d'une collecte effectuée quotidiennement dans les cafés publiques à Tizi-Ouzou, à proximité du Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux (UMMTO), à la Nouvelle Ville, et aussi de consommations familiales quotidiennes.

Etant plus sujet que le grignon d'olive à un développement rapide de moisissures vertes, le marc de café a été séché immédiatement après sa collecte, soit au soleil en été, soit à l'étuve à 60°C par temps humide.

Les quantités collectées sont généralement petites ne dépassant guère les 3 à 4 kg/jour à l'état humide.

3.4- La paille de blé

La paille de blé a été achetée par botte de 25 kg, au marché à paille de Oued-Aissi et proviendrait, selon l'un des vendeurs, de la région de M'Sila.

Tout comme l'orge, la paille de blé doit être de bonne qualité, d'un jaune doré, exempte de toute moisissure et doit être en bon état de conservation. Il s'agissait de paille issue des récoltes de blé de l'année.

La paille, quand elle est de bonne qualité, peut être conservée, sans aucun risque de contamination microbienne, pendant assez longtemps (2 à 3 années et plus) dans un endroit sec et aéré.

II - METHODES D'ETUDE

1- PRODUCTION D'INOCULUMS SUR MILIEUX DE CULTURE GELOSES

1.1- Préparation des milieux de culture solides

Après stérilisation, les milieux de cultures (PDA, Oddoux et RC) ont été coulés aseptiquement dans des boîtes de Pétri à raison de 20-25 ml de milieu par boîte, puis laissés à température ambiante pour solidification.

1.2- Récolte de carpophores et bouturage

1.2.1- Récolte de carpophores

Les carpophores des divers champignons ont été récoltés à différents endroits, au cours de sorties dans la forêt de Darna (Commune de Iboudrarene) pour le ganoderme et à Oued-Aissi pour l'oreille de Judas et le pleurote en forme d'huitre local (POL).

1.2.2- Bouturage des carpophores

Le bouturage des carpophores nécessite des conditions d'asepsie rigoureuses.

Quelque soit le macromycète (fig.29-A) à isoler, la technique utilisée reste la même. Il s'agit du bouturage du mycélium dicaryotique qui compose le carpophore. Nous avons repris quelques illustrations publiées en 2010 (Mansour-Benamar & Chavant, 2010) et en 2013 (Mansour-Benamar et al, 2013) :

Il faut d'abord stériliser une pince et un scalpel à la flamme sous hôte à flux laminaire (fig.29-B) puis les laisser refroidir.

Il faut ensuite choisir un carpophore en très bon état, l'ouvrir ou le déchirer à la main dans le sens de la longueur et découper à l'aide du scalpel stérile des morceaux de mycélium du carpophores (fig.29-C) dans les parties mises à nu (fig.29-D), car les plus stériles. Ensuite, à l'aide de la pince stérile, il faut prélever, chaque fragment de mycélium et le déposer au centre d'une des boîtes de Pétri contenant un des milieux de culture (fig.29-E), refermer la boîte et la sceller à l'aide d'un ruban adhésif ou d'un film étirable.

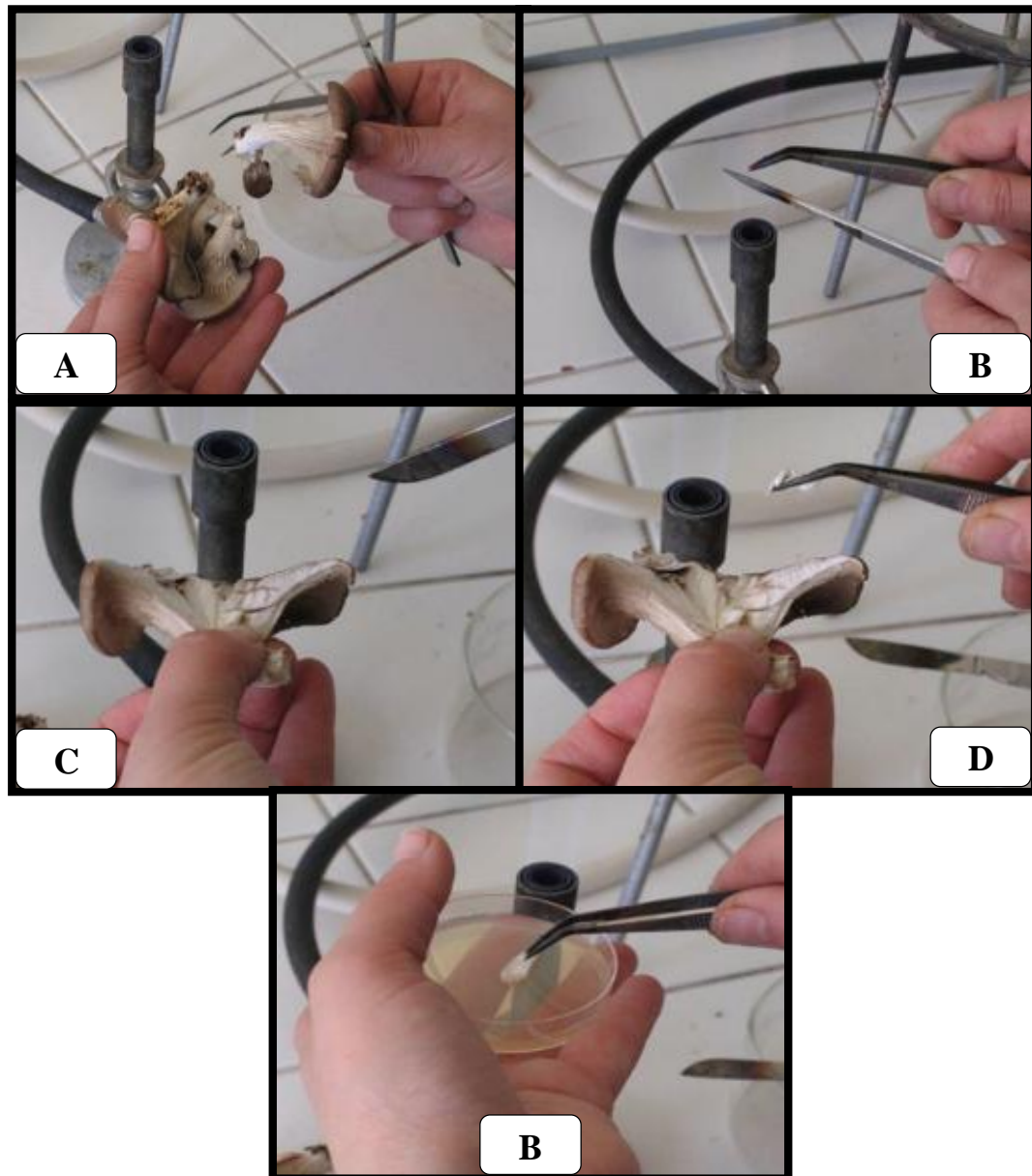


Figure 29: Bouturage d'un carpophore

Choix d'un carpophore de POL (A) ; Stérilisation d'une pince et d'un scalpel (B), Découpage d'un fragment de mycélium (C), Prélèvement du fragment de mycélium (D), Mise en culture du fragment de mycélium (E).

1.2.3- Repiquage du mycélium à partir de cultures mycéliennes issues du bouturage de carpophore ou d'une pré-culture en boîte de Pétri

Afin de renouveler ou multiplier des cultures mycéliennes déjà existantes, il faut procéder à des repiquages successifs. Des rondelles d'inoculum sont découpées dans une pré-culture mycélienne en boîte de Pétri (fig.30-A) ; ensuite, à l'aide d'une spatule stérile, chaque inoculum est prélevé (fig.30-B) puis déposé au milieu d'une boîte de Pétri contenant un milieu nutritif neuf, la face mycélium contre le milieu de culture (fig.30-C). Le repiquage peut se faire également à partir de culture sur gélose inclinée.

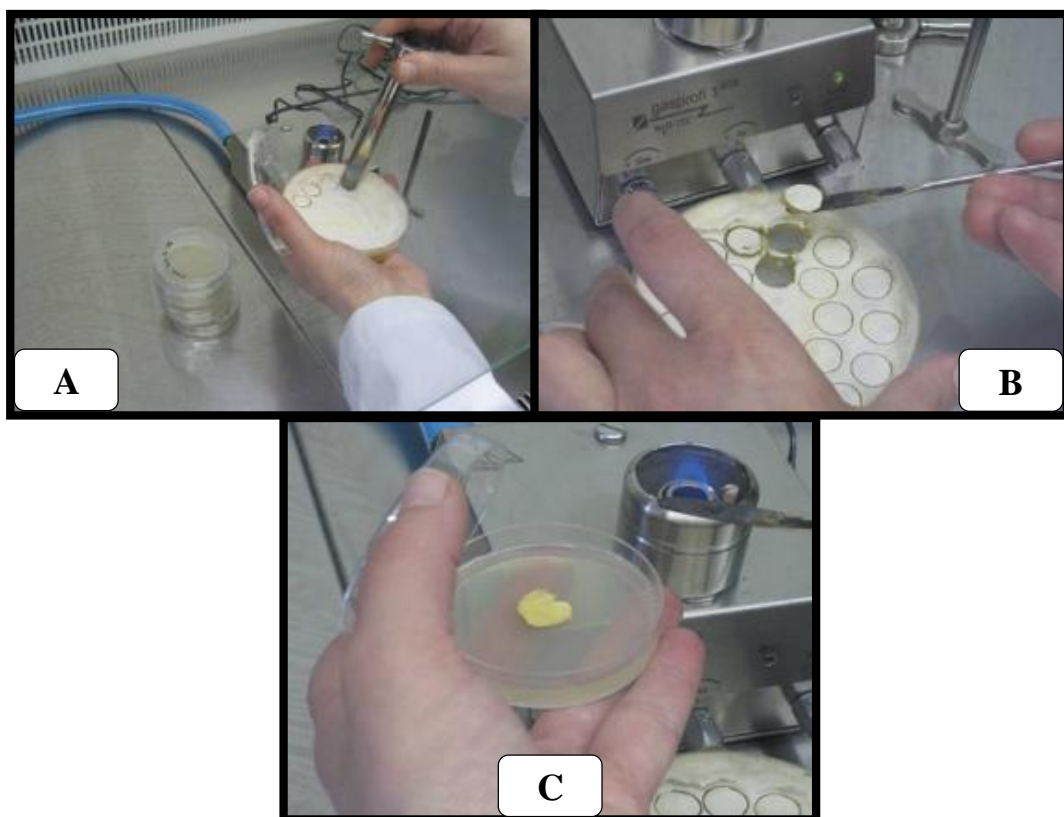


Figure 30: Repiquage et multiplication du mycélium

**Découpage du mycélium en rondelles d'inoculum (A),
Prélèvement d'une rondelle d'inoculum (B),
Dépôt de la rondelle d'inoculum, face mycélium contre le milieu nutritif neuf (C)**

1.3- Incubation

Une fois les boites de Pétri refermées et scellées avec du ruban adhésif, elles sont mises à incuber à la température programmée, généralement 25°C.

1.4- Sélection de milieux de culture favorables par l'estimation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne est estimée par la mesure du diamètre moyen $((D1+D2)/2)$ (en cm) des colonies développées à partir des implants d'inoculum selon deux axes perpendiculaires tracés sur le couvercle de chacune des boites de Pétri et passant par le centre de l'implant (fig.31) après 8 jours d'incubation. Pour chaque milieu testé 10 répétitions ont été utilisés.

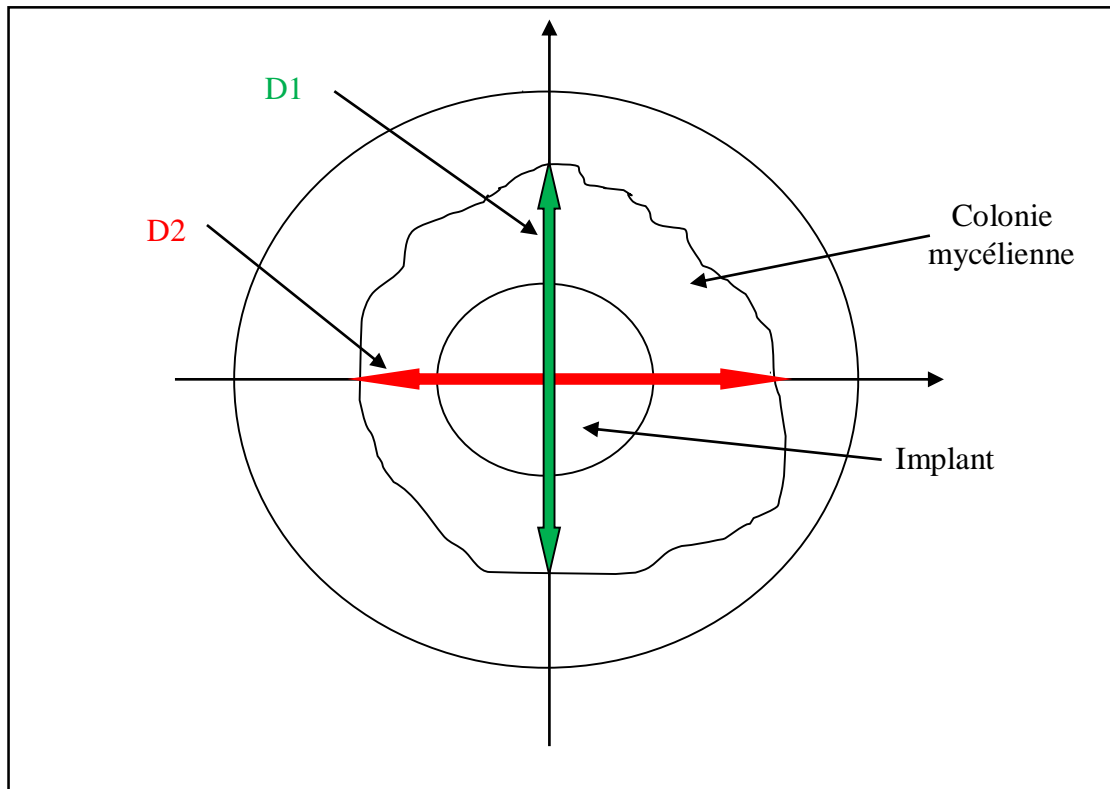


Figure 31: Schéma explicatif de la mesure des diamètres D1 et D2 d'une colonie mycélienne

2- FABRICATION DU BLANC DE CHAMPIGNON

Le blanc forme le matériau ou unités de propagation du champignon à cultiver (Oei & Nieuwenhuijzen, 2005). Pour la fabrication du blanc de pleurote, appelé en anglais spawn, après de nombreux essais de différentes céréales, nous avons fini par utiliser comme substrat de base des grains d'orge humidifiés auxquels sont ajoutés du carbonate de calcium et du sulfate de calcium (quand il est disponible pour ce dernier) pour optimiser le pH. Cette orge est ensuite stérilisée.

Cette fabrication se fait en deux étapes, la 1^{ère} consiste à fabriquer du blanc ou inoculum primaire (culture mère), appelé en anglais « master » par transfert du mycélium obtenu sur milieu de culture gélosé sur des grains d'orge humidifiés et stérilisés.

La deuxième étape consiste à transférer le blanc primaire sur de nouveaux grains d'orge stérilisés, préparés comme pour la fabrication du master.

Pour fabriquer le blanc de champignon, nous nous sommes inspirés de la méthode utilisée par Pacioni (1987) que nous avons adaptées à nos conditions et moyens.

2.1- Préparation et stérilisation de l'orge

L'orge a été d'abord tamisée à l'aide d'un tamis à mailles de 2,5 mm de côté et nettoyé de tout débris, puis répartis en lots de 50g ou 100g d'orge, selon les besoins de l'expérience (fig.32-A). Elle a été lavée abondamment à l'eau courante afin d'éliminer toutes les poussières qui sont à la surface des grains d'orge (fig.32B). A la fin, l'orge a été lavée à l'eau bouillante puis mise à égoutter. Les grains d'orge ont été finalement placés dans des sachets thermorésistants (fig.32C) avec un certain volume d'eau distillée (fig.31-D).

Pour chaque sac un goulot a été fabriqué à l'aide d'un anneau en plastique (fig.32E), bouchés avec du coton (fig.32-F) puis recouvert avec du papier aluminium ou du papier pelure (fig.32-G). Cette phase est facultative. Les sachets peuvent être simplement fermés à l'aide d'agrafes ou de trombones.

Ces sacs sont ensuite mis à stériliser à 120°C pendant 1 heure.

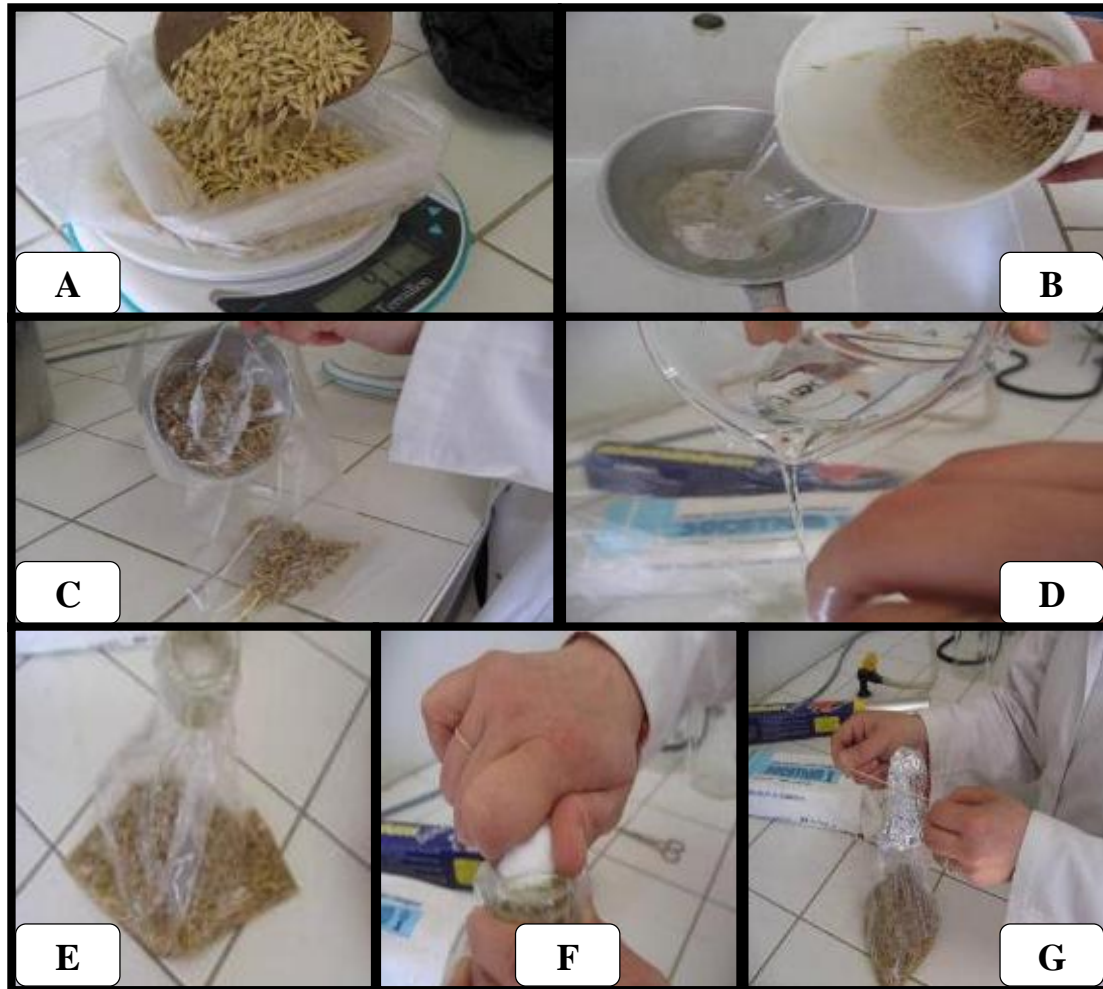


Figure 32: Préparation de l'orge pour la fabrication du blanc de Pleurote.

Pesée de l'orge tamisé et nettoyé (A) ; lavage et égouttage de l'orge (B) ; Transfert de l'orge égoutté dans des sachets en polyéthylène neufs stérilisables (C) ; Addition d'eau distillée (D) ; Confection d'un goulot pour chaque sachet (E) ; Confection d'un bouchon avec du coton (F) ; Couverture du coton avec du papier aluminium et maintien à l'aide d'une ficelle (G).

2.2- Inoculation de l'orge

2.2.1- La première inoculation ou blanc primaire

Cette opération consiste à prélever aseptiquement des rondelles d'inoculum de 1 cm de diamètre découpées dans les cultures mycéliennes âgées d'au moins une semaine et à les déposer face mycélienne contre les grains d'orge stériles (fig.33A-C). Il est possible d'utiliser des cultures entières ou des demi- cultures.

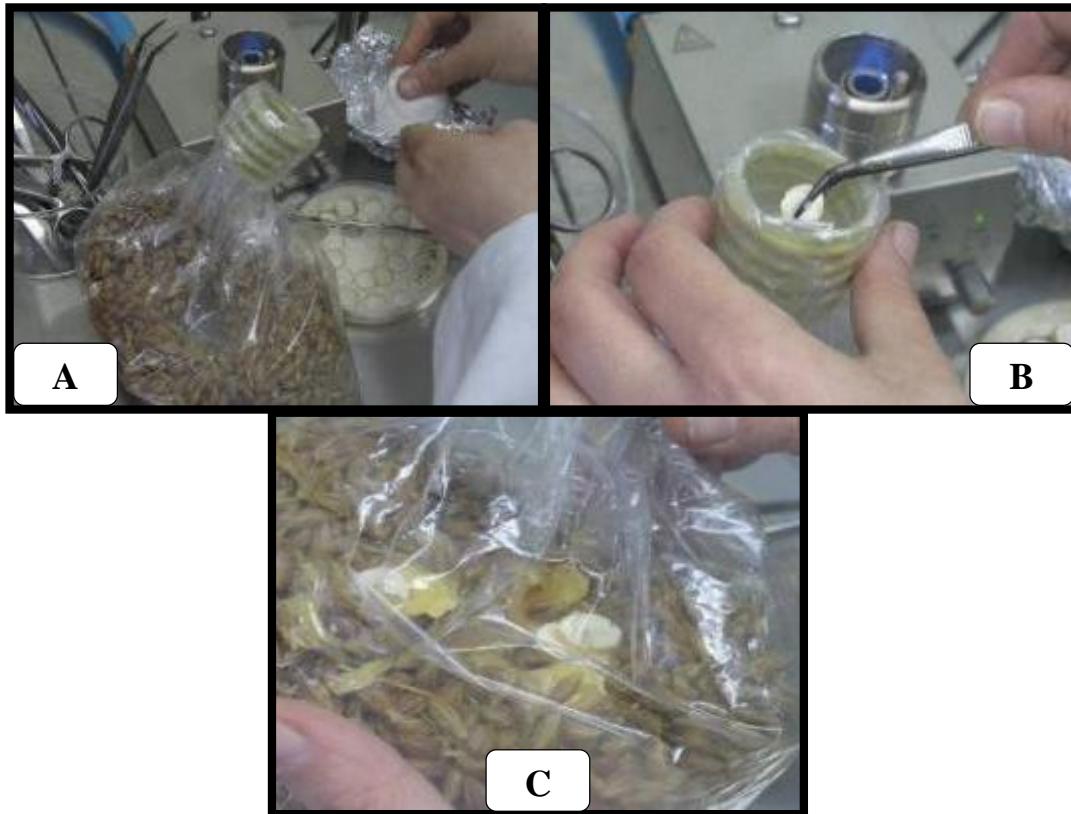


Figure 33: Première inoculation de l'orge et fabrication du blanc primaire ou master

A : Préparation à l'inoculation de l'orge

B : Inoculation de l'orge

C : Orge avec les rondelles d'inoculum implantées.

2.2.2- La deuxième inoculation ou blanc secondaire

Lorsque les grains d'orge sont bien enrobés par le mycélium, généralement après une à deux semaines d'incubation, il faut procéder à la deuxième inoculation.

Cette dernière consiste à prélever des grains d'orge enrobés du mycélium issus de la première inoculation pour inoculer de nouveaux grains d'orge (fig. 34-A-C) préparés et stérilisés comme pour la fabrication du master.



Figure 34: Deuxième inoculation et fabrication du blanc secondaire.

Blanc primaire ou master (A) ; Prélèvement de l'inoculum (blanc primaire) (B); Orge inoculé avec le blanc primaire (Futur blanc secondaire) (C)

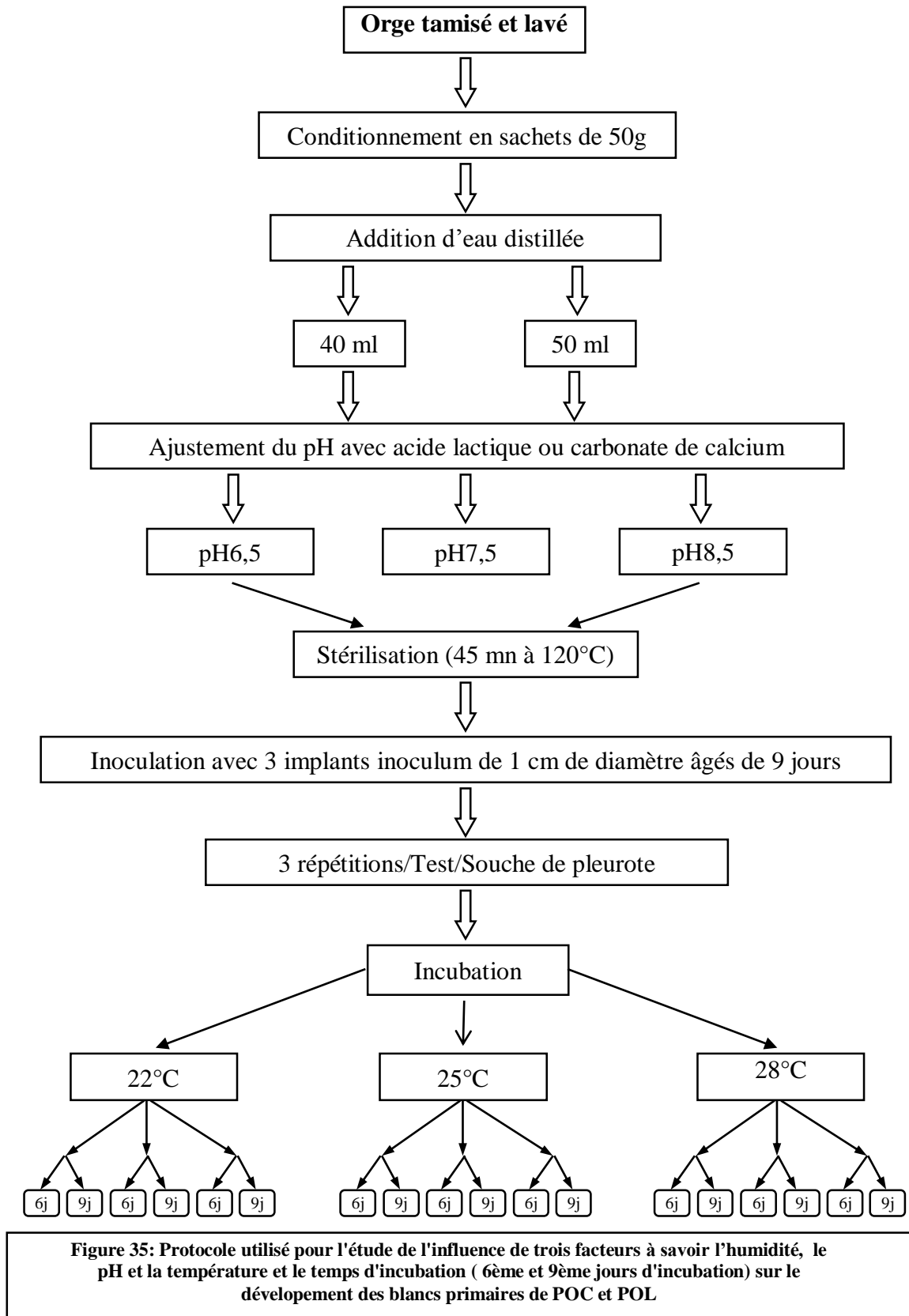
2.3- Incubation

Après inoculation, les sachets d'orge sont classés par souches et conditions de culture et mis à incuber à température fixée.

Au cours de cette période, des contrôles quotidiens sont effectués pour éliminer d'éventuels sacs contaminés. Tous les cinq à six jours, les sacs sont agités délicatement afin de séparer les grains d'orge enrobés par le mycélium.

2.4- Influence de l'humidité, du pH, de la température et du temps d'incubation sur la fabrication du blanc primaire de POL et POC.

Le protocole utilisé pour étudier l'influence du pH et de l'humidité dans le substrat ainsi que celle du temps d'incubation pour la fabrication du blanc des deux souches de pleurote est schématisée dans la figure 35.



3- ETUDE DU COMPORTEMENT DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE SUR SUBSTRAT EN BOITE DE PETRI.

3.1- Fractionnement du grignon d'olive

Sachant que la partie la plus lignifiée du grignon est la paroi du noyau de l'olive, nous avons voulu vérifier la capacité des deux souches de Pleurote POC et POL à coloniser et à se développer sur les fractions ligneuse, riches en noyaux d'olive et la fraction riche en pulpe d'olives.

Deux tamis ont été utilisés, un tamis à maille de 5 mm de côté et un tamis à mailles de 2,5mm de côté. Le premier a permis d'éliminer les noyaux entiers qui ont échappés au broyage lors de la trituration des olives et le deuxième a permis de séparer la fraction retenue par ce tamis et qui a constitué la fraction riche en lignine formée principalement par des morceaux de noyaux et un peu de pulpe et que nous avons appelée GOS (grignon d'olive à granulométrie supérieur à 2,5mm) et la fraction qui a traversé les mailles du 2^{ème} tamis est appelée GOI (grignon d'olive à granulométrie inférieure à 2,5mm).

GOB (grignon d'olive brut) correspond à du grignon tel qu'il a été récupéré de l'huilerie.

3.2- Le marc de café

Les grains de café dont est issu le marc de café (MC) sont toujours moulus finement pour le café vendu sur le marché algérien. Le marc est donc utilisé tel quel.

3.3- Supplémentation des substrats par la paille

Afin d'améliorer la croissance mycélienne et les rendements de POC et POL, les substrats testés (GOB, GOI et GOS) ont été supplémentés par de la paille de blé à raison de 10% et 20% de paille. Le marc de café, quant à lui, a été supplémenté par 10 et 50 % de paille (Mansour-Benamar et al, 2014). Pour optimiser le pH, 2% de carbonate de calcium sont ajoutés dans les substrats.

3.4- Préparation des boîtes de Pétri

La préparation des boîtes de pétri pour l'estimation de la croissance mycélienne d'un champignon nécessite plusieurs étapes représentées dans la figure36.

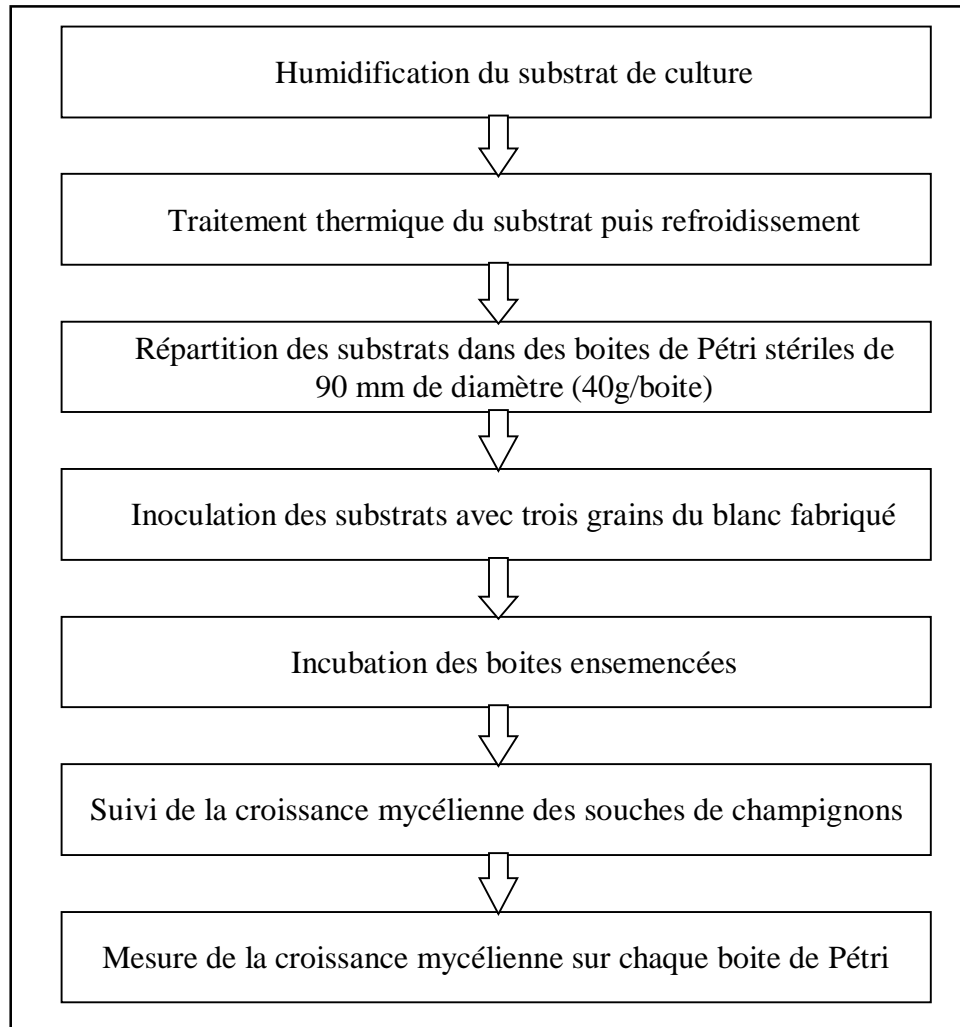


Figure 36: Protocole utilisé pour l'évaluation de la croissance mycélienne en boîte de Pétri

3.4.1- Humidification du substrat de culture

Humidification du substrat de culture a été faite par additon d'eau à raison de :

- 350ml d'eau distillée/kg GOB
- 450 ml d'eau distillée/kg GOI
- 250ml d'eau distillée/kg GOS
- 400ml d'eau distillée/kg MC

Dans les cas de supplémentation par la paille, cette dernière est trempée dans de l'eau courante, la veille en fin de journée puis mise à égoutter pendant une heure à deux heures, le lendemain, avant d'être mélangée au substrat, au taux fixé.

3.4.2- Traitement thermique et répartition des substrats dans des boîtes de Pétri

Après humidification de chaque substrat et incorporation de la paille égouttée au taux désiré pour les substrats supplémentés par la paille sont introduits dans des sachets en polyéthylène (stérilisables) à raison de 1kg de substrat chacun puis fermés. Les sacs sont soumis à pasteurisation au four Pasteur à 60°C pendant 24 heures réparties en deux fois douze heures espacées de 12 heures.

La deuxième méthode consiste à faire subir aux différents substrats un traitement thermique à la vapeur d'eau dans un couscoussier pendant 1 à 2 heures.

Après refroidissement, les substrats sont répartis aseptiquement dans des boîtes de Pétri à raison de 40g de substrat par boîte.

3.4.3- Inoculation des substrats

Chaque boîte de Pétri est inoculée par trois grains d'orge bien enrobés de mycélium (blanc secondaire) et sont disposés à équidistance (autant que possible) les uns des autres (fig.37), avec 10 répétitions par souche et par substrat. Cinq trous d'aération (un au centre et 4 répartis régulièrement sur la périphérie) sont pratiqués sur les couvercles des boîtes à l'aide d'une aiguille chauffée.



Figure 37: Boîtes avec substrat seul (A) et substrat inoculé par 3 grains de blanc (B)

3.4.4- Mesure de la croissance mycélienne

Nous avons suivie et délimité la surface des substrats colonisée par le mycélium en croissance. A l'aide d'un papier transparent, les contours de chaque colonie mycélienne développée à partir des grains de blancsensemencé sont relevés au 3^{ème} jour d'incubation puis au 6^{ème} jour d'incubation puis reportés sur du papier millimétré. Les carreaux comptés donnent la surface occupée par le mycélium en mm².

3.4.5- Analyses physico-chimiques

Les mesures de pH, des taux d'humidité, des quantités de matière sèche, de cendres et de matière organique dans les substrats de culture des deux souches de pleurote ont été réalisées selon les techniques utilisées par Mathieu & Pieltain (2003). Les résultats présentés sont des moyennes de trois répétitions.

3.4.5.1- Mesure du pH dans les substrats de culture :

Dans un bécher, à 20g de substrat de culture sont ajoutées 50 ml d'eau distillée. Pour chaque bécher, trois mesures de pH sont relevées à 10 min d'intervalle

3.4.5.2- Mesure de l'humidité et des matières sèche, minérale et organique

La matière fraîche (MF) est formée par l'eau (H) et la matière sèche (MS)

$$MF = H + MS$$

La matière sèche est obtenue par séchage à 60°C des échantillons jusqu'à stabilisation de leurs poids. Elle est estimée en pourcentage de matière fraîche :

$$MS (\% MF) = (PS/PF) \times 100.$$

Elle est formée par la matière organique (MO) et la matière minérale (MM)

$$MS = MO + MM.$$

L'humidité est également estimée en pourcentage de MF

$$H (\%) = [(PF-PS)/PF] \times 100$$

avec H% : taux d'humidité en pourcentage ; **PF**: poids frais de substrat; **PS** : poids sec de substrat.

La matière minérale ou cendres est le résidu obtenu après incinération de la matière sèche à 550°C pendant 4h30min jusqu'à combustion complète de la matière organique. Elle est estimée en pourcentage de matière sèche.

La matière organique est estimée par soustraction de la MM de la MS :

$MO (\% MS) = MS (\%) - MM (\%)$. Elle est estimée en pourcentage de matière sèche

3.4.6- Dosage de l'azote total après fractionnement chimique des substrats

3.4.6.1- Fractionnement chimique des substrats

Le fractionnement chimique des substrats de culture permet de suivre l'évolution de la matière organique au cours de sa transformation par les microorganismes. Il permet d'évaluer la masse de matière présente dans trois compartiments (fraction hydrosoluble, fraction soluble dans l'acide à chaud et fraction résiduaire ou récalcitrante) correspondants à des niveaux de dégradabilité décroissants (Savoie et al, 1996a). Le protocole est présenté dans la figure 38.

Sont concernées par ce fractionnement, des cultures en boîte de Pétri de POC et POL âgées de 10 jours et 24 jours.

Les résultats sont exprimés en gramme de poudre extraite par gramme de poudre initiale.

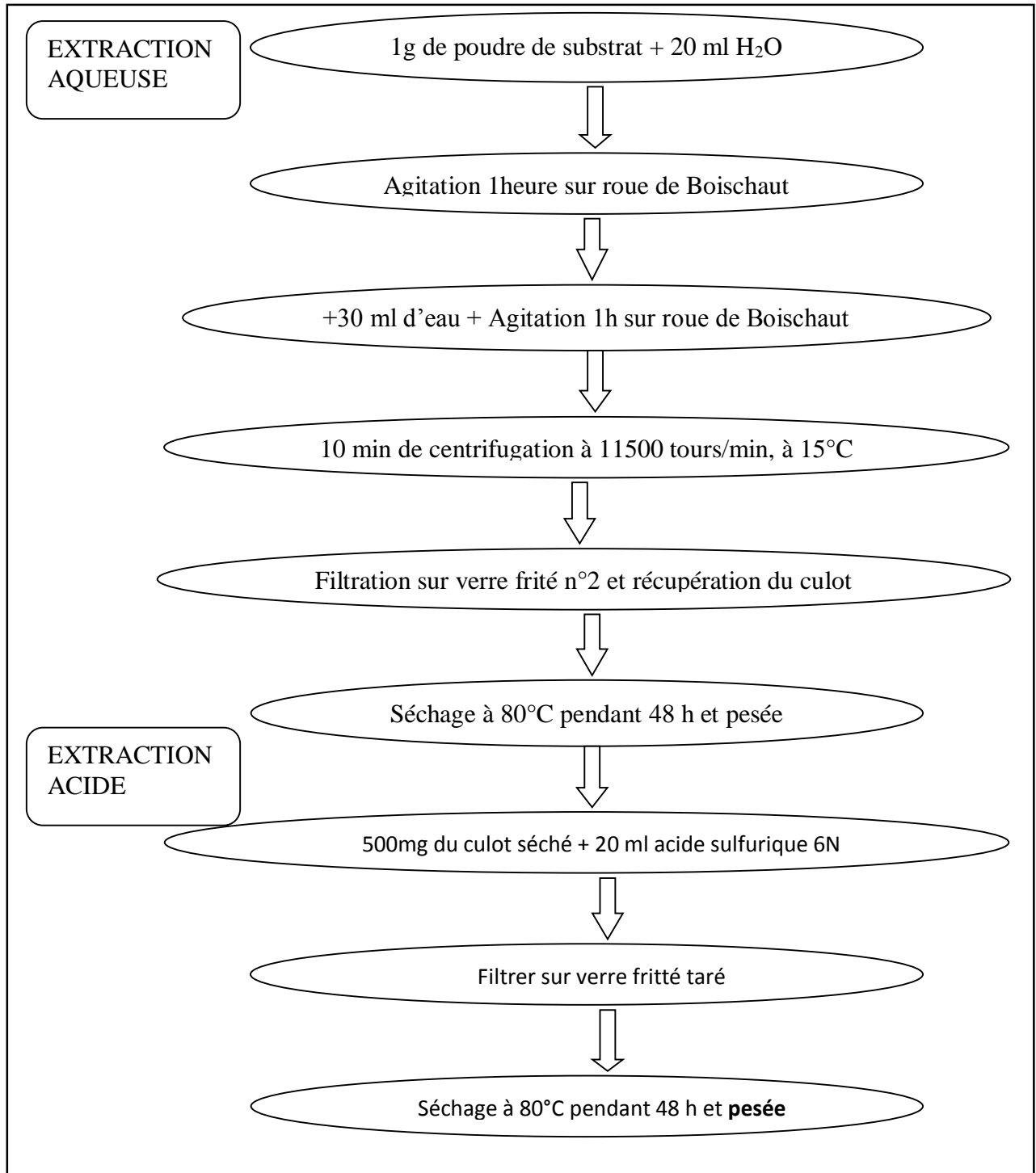


Figure 38: Protocole du fractionnement chimique des substrats: l'extraction aqueuse et extraction acide

3.4.6.2- Dosage de l'azote total

Le dosage de l'azote a été réalisé sur les fractions chimiques obtenues précédemment selon Dorich et Nelson (1983). Le protocole est résumé dans la figure 39. La méthode consiste en une minéralisation de l'azote organique par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur puis le dosage de l'azote ammoniacal total.

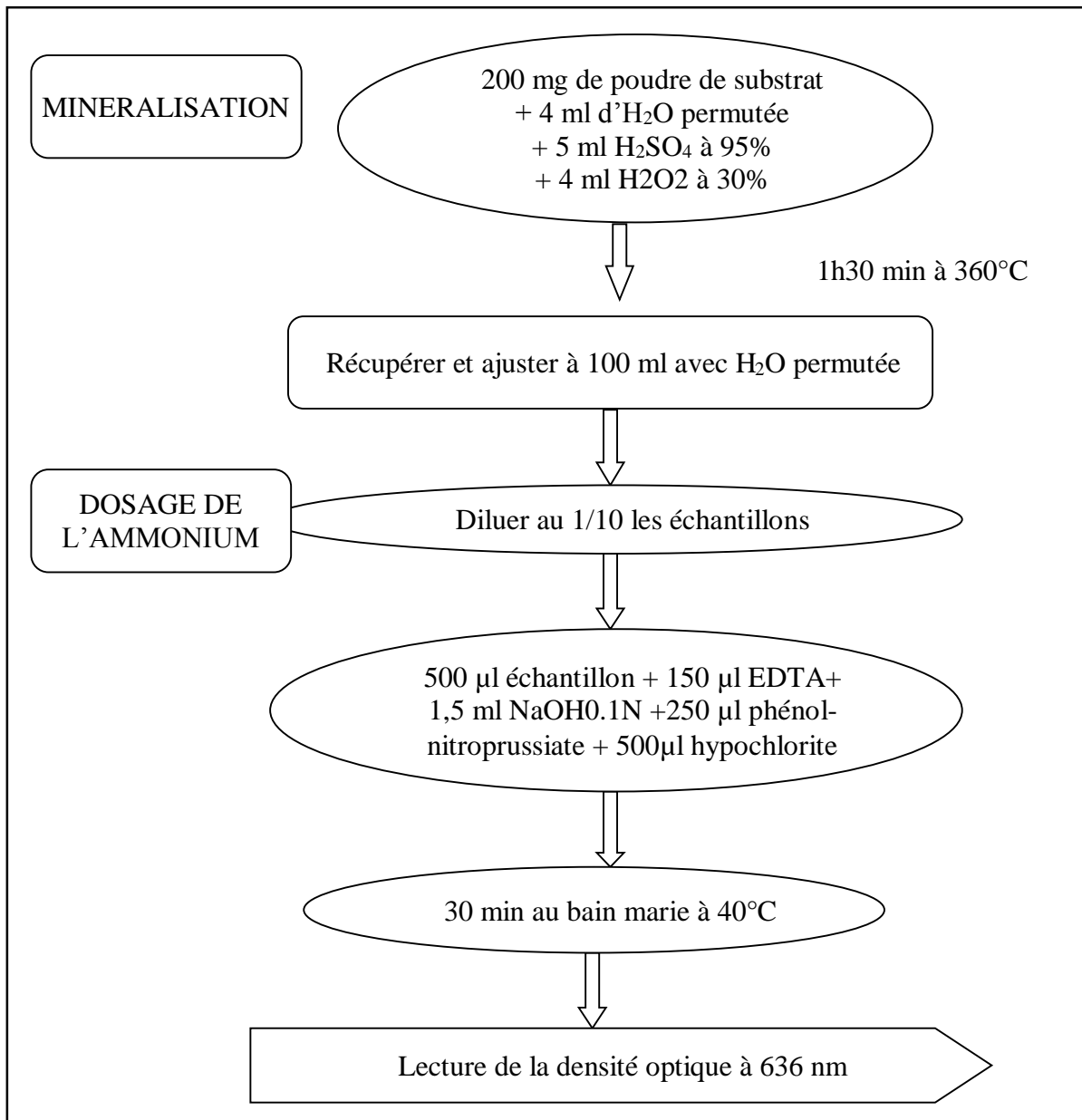


Figure 39: Protocole du dosage de l'azote total

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère, elle-même préparée à partir d'une solution stock (0,7076 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dans 100 ml d'eau milliQ). A 0,5 ml de la solution stock sont ajoutées 50 ml d' H_2SO_4 dilué à 0,5% (volume/volume).

3.4.7- Dosage de la cellulose brute.

Le dosage de la cellulose brute a été réalisé par l'Office National de l'Aliment du Bétail (ONAB).

La méthode utilisée est celle de Weende qui se résume en deux hydrolyses, l'une acide et l'autre alcaline, séparées par une filtration et un rinçage à l'eau chaude. Le résidu sec constitue les fibres brutes qui comprennent la cellulose, l'hémicellulose et la lignine.

3.4.8- Dosage des enzymes extracellulaires produites dans les substrats

Les protocoles ont été adaptés à partir de travaux de Mata et Savoie (1998) et Savoie et al. (1996b).

3.4.8.1- Préparation des extraits enzymatiques

Les substratsensemencés avec le blanc ont été prélevés à différents moments de la croissance végétative de POL et POC.

Certains échantillons ont été congelés à -80°C puis lyophilisés.

Pour l'obtention de l'extrait enzymatique, 20g de substrat frais sont placés dans des piluliers de 80 ml auxquels sont ajoutés 20 ml d'eau permutée. Les piluliers sont ensuite fixés sur la roue de Boischaux qui tourne à une vitesse de 50 tr/min, pendant 20 min. Après filtration sur une toile à bluter (porosité 0,37mm), le filtrat est récupéré puis centrifugé pendant 10 min à 12000 tr/min à 4°C. Le surnageant (l'extrait enzymatique) est récupéré dans des tubes en plastique et placé dans la glace pour une utilisation immédiate.

3.4.8.2- Dosage de l'activité hydrolase

Le dosage de l'hydrolyse du Diacétate de fluorescéine (FDA) peut être réalisé directement dans les substrats. Presque tous les microorganismes libèrent la fluorescéine à partir du FDA grâce à des estérases liées au métabolisme primaire. La mesure de cette activité *in situ* permet d'estimer les variations de la biomasse microbienne totale présente dans un milieu naturel. On estime en fait une activité métabolique associée à une biomasse (Leštan et al, 1991).

La solution de FDA (Di acétate de fluorescéine) est préparée à partir d'une solution mère de FDA (2mg FDA/ml acétone) diluée dans du tampon phosphate 60 mM pH 7.6 (TP) à raison de 2 μ l de solution mère de FDA par ml de TP (fig. 40).

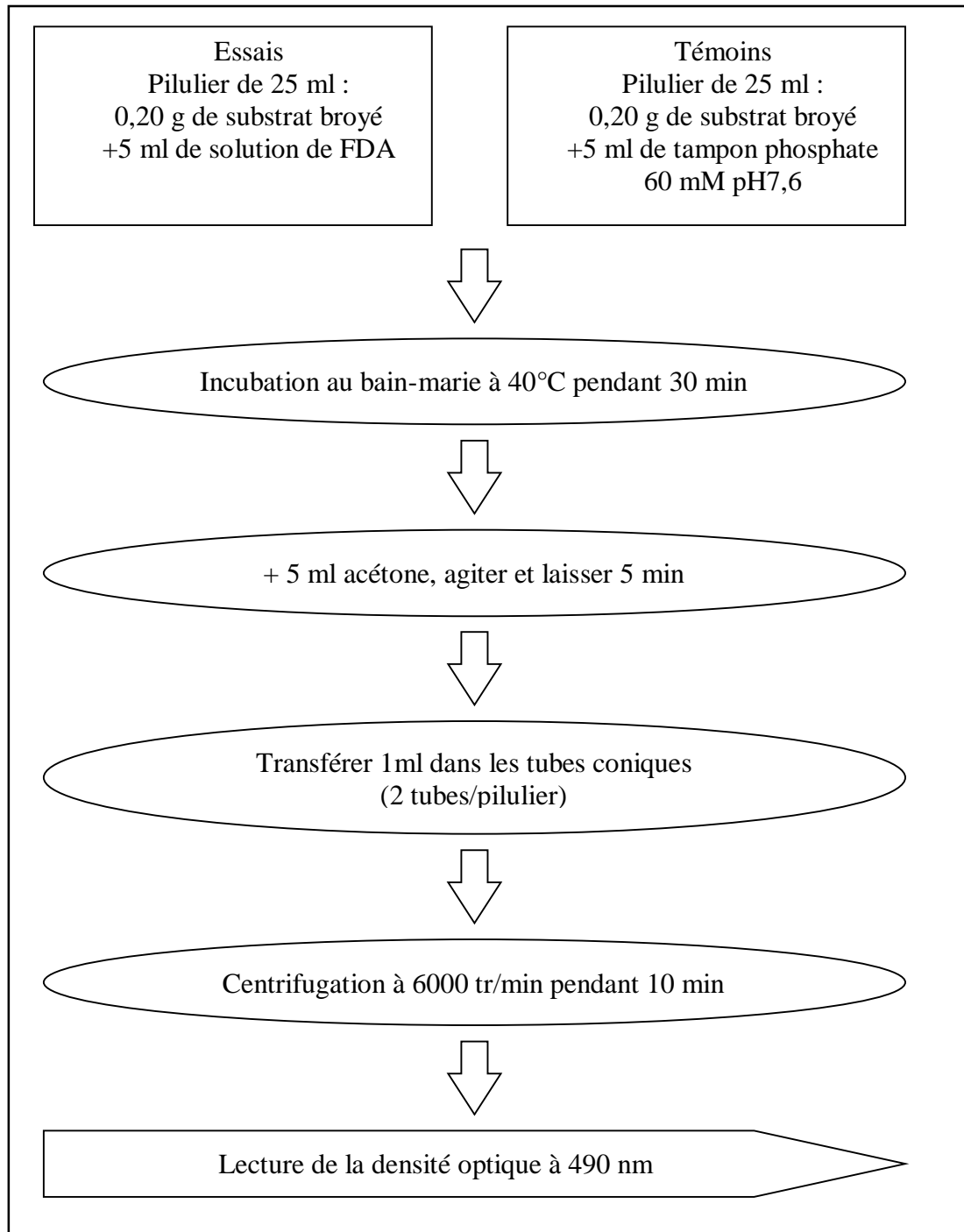


Figure 40: Protocole du dosage de l'activité hydrolase par hydrolyse du FDA

3.4.8.3- Dosage des activités enzymatiques glycosidases

Les activités enzymatiques glycosidases ont été mesurées en utilisant leurs substrats appropriés et une incubation faite à 30°C selon Wood & Goodenough (1977). Les activités testées sont les activités xylosidase (Xyl), mannosidase (MAN), β -glucosidase (β -GLU), β -galactosidase (β -GAL), β -N-Acétyl-glucosaminidase (NAG) (fig. 41).

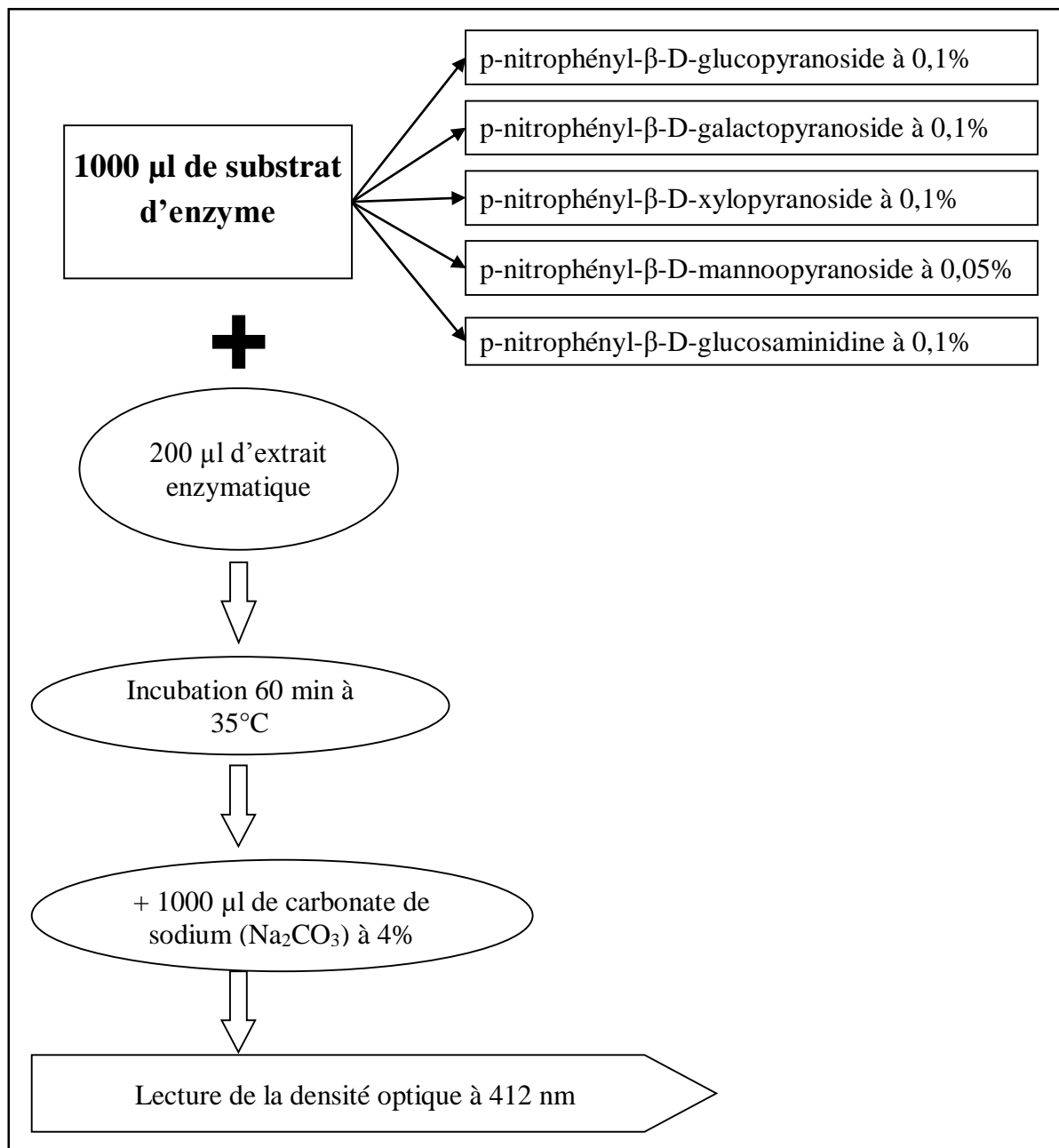


Figure 41: Protocole du dosage des activités enzymatiques par la libération de phospho-nitrophénol: β -galactosidase (β -GAL), β -glucosidase (β -GLU), β -mannosidase (β -MAN), β -xylosidase (β -XYL), β -N-Acétyl-glucosaminidase (NAG)

3.4.8.4- Dosage de l'activité enzymatique protéase (PRO)

L'activité PRO a été dosée dans du tampon phosphate de sodium (0,05M pH7) en utilisant de l'azocoll, selon le protocole de Jones & Grainger (1983) présenté dans la fig.42

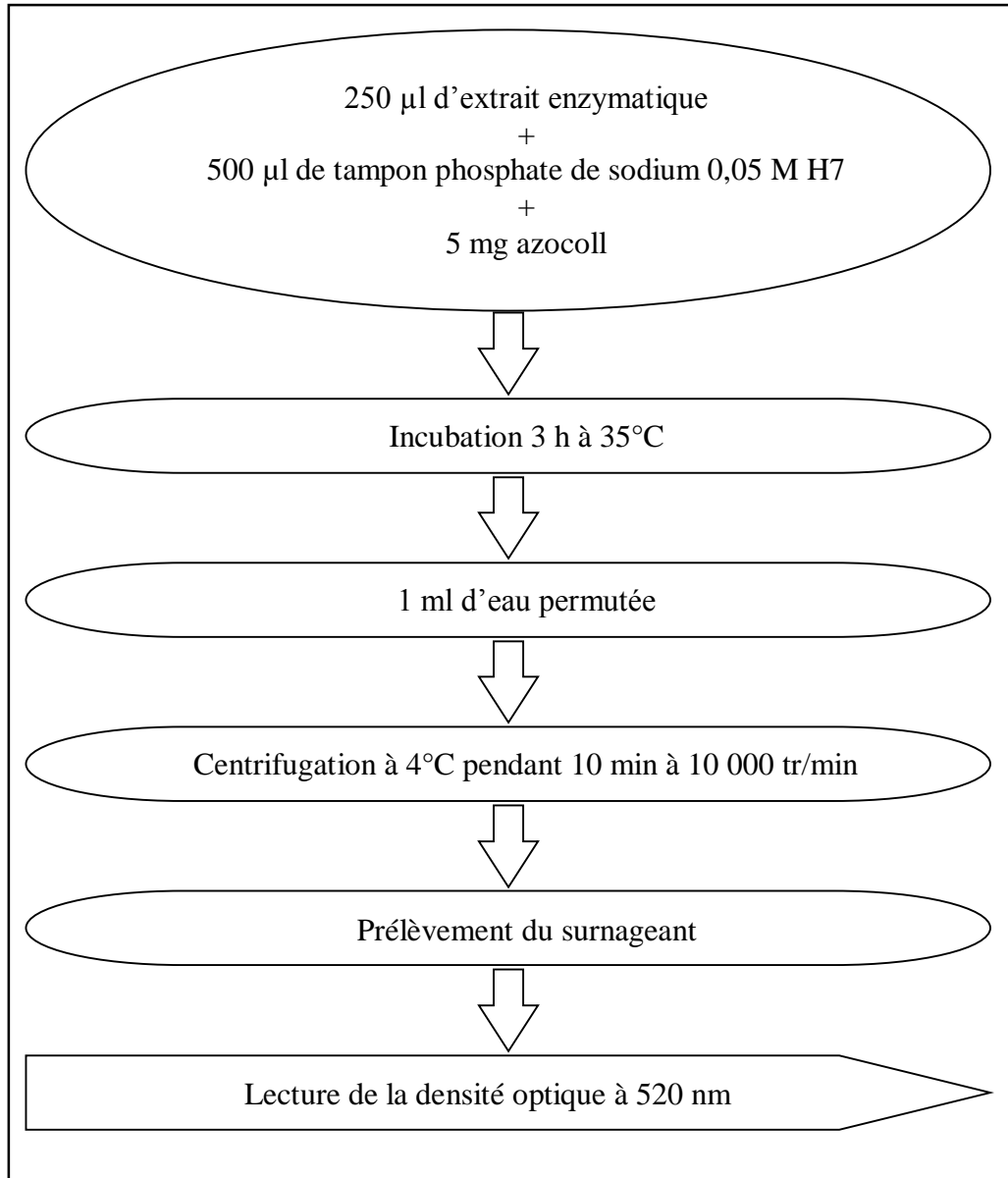


Figure 42: Protocole pour le dosage de l'activité protéase (PRO) par la solubilisation de l'azocoll

3.4.8.5- Dosage des activités enzymatiques laccase (LAC)

Les activités LAC ont été mesurée dans du tampon citrate 0,1 M pH3. Les activités ont été déterminées en suivant l'augmentation de la densité optique à 436 nm, par l'oxydation de l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenzothiazolinz-6-sulphonique) (fig.43).

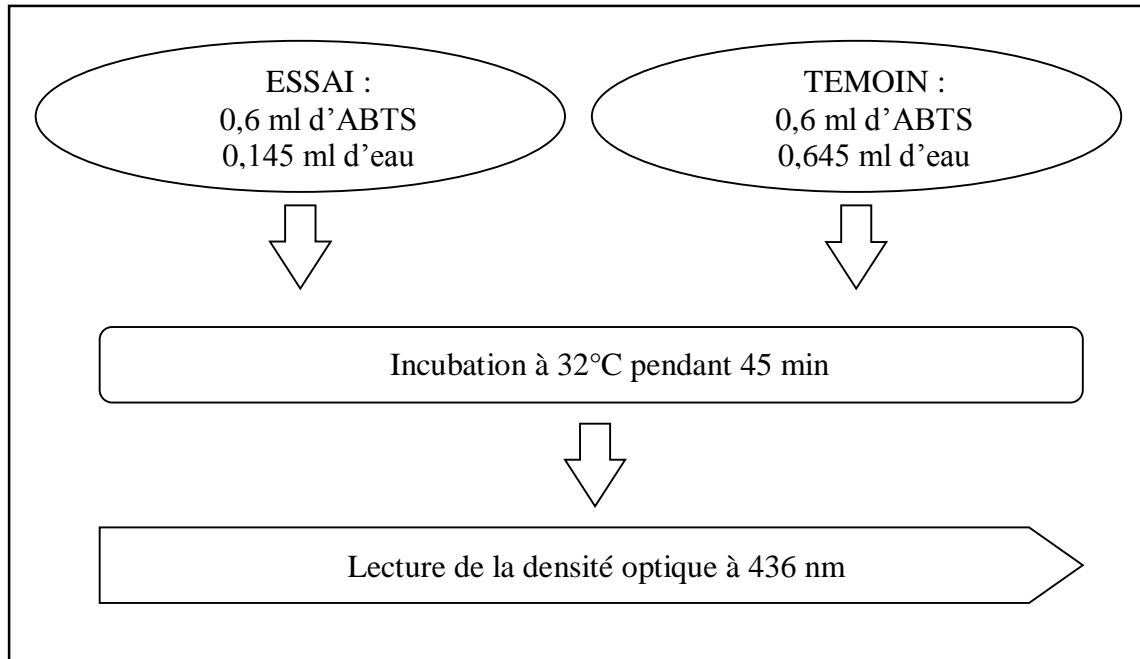


Figure 43: Protocole du dosage de l'activité laccase de POC et POL à 24 jours d'incubation

4- CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTES : POC ET POL

4.1- Phase végétative des deux souches de pleurote: Préparation, inoculation et incubation des substrats

Les substrats utilisés sont le marc de café et le grignon d'olive, supplémentés ou non par de la paille de blé, fractionné ou non pour le grignon d'olive. Pour améliorer le pH, 2% (poids/poids) de carbonate de calcium sont ajoutés, sauf dans l'essai sur le marc de café et le grignon d'olive bruts.

La préparation des substrats a été réalisée de la même manière que pour les cultures en boîtes de Pétri sauf pour le traitement thermique qui, par commodité, a été fait à la vapeur d'eau, dans un couscoussier (fig.44).

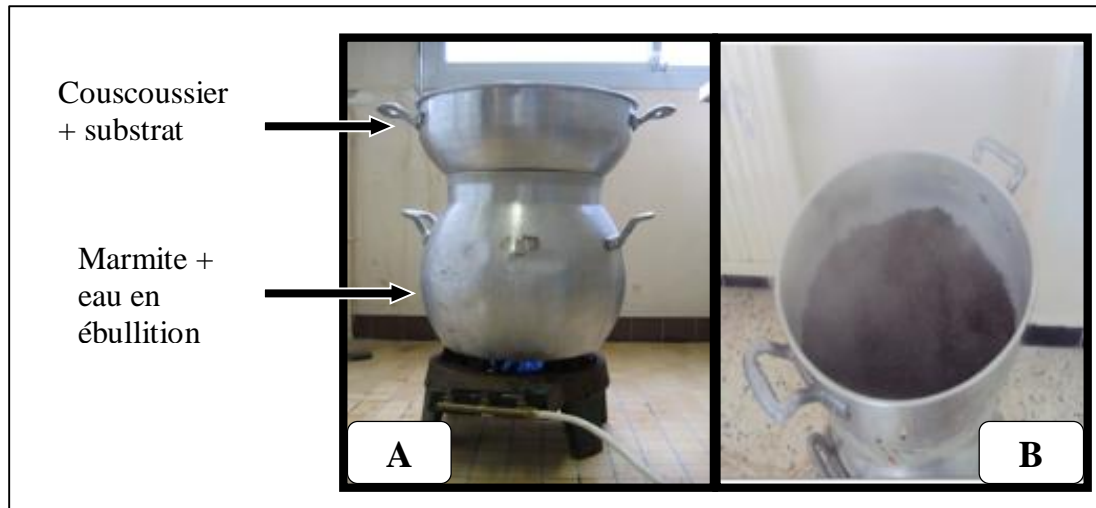


Figure 44: Traitement thermique du substrat à l'aide d'un couscoussier

A : Couscoussier (marmite + couscoussier proprement dit) placé sur un réchaud allumé
B : substrat traversé par la vapeur d'eau.

Après refroidissement des substrats, chacun d'eux a été inoculé par du blanc au taux de 7% (poids/poids). Les substrats lardés sont répartis dans des sachets de congélation neufs. Deux formes ont été données aux blocs de culture : lors des premiers essais, une forme en pâton en faisant simplement un nœud au sachet contenant le substrat (fig.46-A) et par la suite une forme parallépipède rectangle à l'aide d'une corbeille (fig.45).



Figure 45: Mise en forme des blocs de culture des souches POC et POL en parallépipède rectangle

L'incubation a été faite à une température d'environ 25°C, sur des étagères métalliques achetées ou récupérées et dans des enceintes de réfrigérateurs réformés (fig.46).

Au début et à la fin de cette phase végétative des deux souches de pleurote, certains paramètres comme le pH, la matière sèche et les cendres ont été mesurés (voir § 3.4.5.).

Après un certain temps d'incubation (1 à 2 semaines) les sacs de culture sont perforés aseptiquement à l'aide d'une aiguille très fine chauffée au rouge.

Suite à ces perforations, les sacs sont régulièrement alimentés en humidité, à l'aide d'un brumisateurs et au besoin par pulvérisation d'eau.



Figure 46: Dispositifs utilisés pour la culture de POC et POL.

(A) : Etagère avec les cultures de pleurote en forme de patons, (B) : Etagère avec les cultures de pleurote, recouverte par un sac gris avec brumisateurs pour assurer l'humidification, (C) : Blocs de cultures disposés sur deux étagères (bleue pour POL, rose pour POC) recouvertes par du cellophane, avec un brumisateurs entre les deux pour maintenir l'humidité. L'obscurité est maintenue par des rideaux épais tirés, (D) : Utilisation d'un réfrigérateur réformé comme chambre de culture

4.2- Phase de la fructification

4.2.1- Choc thermique

Généralement, l'apparition des premiers primordia a marqué la fin de la période d'incubation. Les blocs de culture ont alors subis un choc thermique : ils ont été plongés dans de l'eau froide (15°C) pendant 15 à 20 min, afin de stopper la croissance mycélienne et favoriser l'apparition des primordia (fig.47). Ensuite les blocs de culture ont été transférés dans une petite salle où une humidité de 80 à 90% a été maintenue grâce à l'utilisation du brumisateur et l'arrosage des blocs de culture avec de l'eau froide (4°C). La température relativement basse (20°C) a été maintenue grâce à l'utilisation, au besoin de la glace disposée à proximité des blocs de culture. Une photopériode jour/nuit a été appliquée.



Figure 47: le choc thermique : Les blocs de culture sont plongés dans une froide. Des bouteilles d'eau gelée maintiennent la fraîcheur de l'eau des bacs.

4.2.2- Récolte des carpophores et évaluation des rendements

Une fois les champignons ou carpophores bien développés, nous avons procédé à leur récolte manuellement. Les champignons cueillis étaient comptés et pesés. Leur poids a été exprimé en grammes. Les mesures du diamètre moyen des chapeaux ainsi que la largeur et la longueur des pieds ont été réalisées à l'aide d'un mètre ruban et exprimées en centimètres (fig. 48).



Figure 48: Pesée et mensuration des carpophores

Pesée de la récolte de champignons (A); Mesure du diamètre du chapeau (B) ; Mesure et de la largeur du pied du carpophore (C) ; Mesure de la longueur du pied du carpophore (D)

Les rendements en champignons ont été exprimés par l'efficacité ou l'efficacité biologique de POC et POL (en pourcentage). L'efficacité biologique est donnée par le poids frais de la récolte totale en carpophores rapporté au poids sec initial du substrat, le tout multiplié par cent.

5- ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les principaux résultats obtenus sont soumis à une analyse statistique. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel "R" "version 3.2.0".

L'analyse statistique de la variance (ANOVA) est utilisée lorsqu'il y a normalité des résidus et égalité de variances ; lorsque cette analyse montre une différence significative, elle est complétée par le test de Newman Keuls (NK) au seuil de 5%. Le test NK permet de constituer des groupes homogènes de traitement par comparaison de moyennes.

Dans le cas contraire, quand les conditions de réalisation de l'ANOVA, à savoir la normalité des résidus et l'égalité des variances, n'étaient pas remplies, le test non paramétrique de Kruskal et Wallis (ou l'ANOVA de Kruskal et Wallis) a été utilisée pour comparer les échantillons selon les facteurs étudiés.

La normalité des résidus a été vérifiée par le "test de Shapiro" alors que l'égalité des variances a été vérifiée par le "test de Bartlett"

Pour une visualisation graphique des résultats, les boites de dispersion (boites à moustache) ont été utilisées sur les différences observées statistiquement.

Un autre type de graphique qui met en évidence l'erreur standard de la moyenne (intervalle de confiance de la moyenne) a été également utilisé.

Les analyses sont à deux, trois, quatre ou cinq facteurs.

Si la probabilité (P) est :

- $\geq 0,05$ les variables montrent une différence non significative ()
- $\leq 0,05$ les variables montrent une différence significative (*)
- $\leq 0,01$ les variables montrent une différence hautement significative (**).
- $\leq 0,001$ les variables montrent une différence très hautement significative (***)

DEUXIEME CHAPITRE : RESULTATS ET DISCUSSION

I – RESULTATS.

1- PRODUCTION D'INOCULUMS SUR MILIEUX DE CULTURE GELOSES

1.1- Isolement du mycélium dicaryotique de la souche locale de Pleurote et repiquage du mycelium de la souche commerciale.

Le mycélium dicaryotique de POL a été isolé sans grandes difficultés (fig. 49) sur le milieu de culture Pomme de terre – Dextrose – Agar. Il est de couleur blanche et d'aspect cotonneux.



Figure 49: Mycélium dicaryotique de la souche locale de pleurote sur milieu PDA

Dans la figure 50 sont présentées les deux formes de culture de POC (D) et de POL (C), les cultures sur gélose inclinée que nous avons l'habitude d'utiliser pour la conservation des souches et les cultures en boîte de Pétri, plus faciles à découper en implants, que nous avons couramment utilisé au laboratoire pour la multiplication de mycéliums.

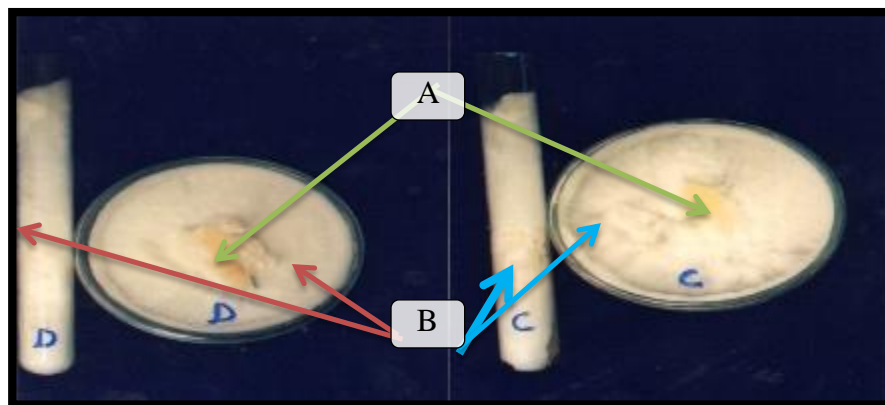


Figure 50: Mycéliums dicaryotiques de POC (D) et de POL (C) repiqués sur milieu PDA, en boîte de Pétri et sur gélose inclinée dans les tubes à essai ; (A): Inoculum ; (B) : Mycélium

1.2- Sélection de milieux de culture favorables par l'estimation de la croissance mycélienne

Les résultats concernant la croissance mycélienne en boîte de Pétri de POC et POL sont regroupés dans le tableau 14. L'analyse statistique de Kruskal & Walis a révélé que les deux souches de pleurote n'ont pas présenté de différence significative entre elles (tab.15) concernant leur croissance mycélienne sur les trois milieux gélosés testés, à savoir les milieux ODD, PDA et RC. Par contre, leurs vitesses de croissance sur les trois milieux présentent des différences hautement significatives (tab15). C'est sur le milieu RC que la meilleure croissance a été obtenue (Tab.14 ; fig.51). Sur RC la vitesse de croissance des deux souches de Pleurote est identique avec 9,75 mm/jour. C'est la première fois que nous avons obtenu une égalité de croissance mycélienne entre les deux souches de pleurote.

Le milieu Oddoux est le moins favorable au développement du mycélium de POC et POL

Tableau 14: Estimation de la croissance mycélienne et de la vitesse de la croissance mycélienne de POC et POL sur milieux ODD, PDA et RC, après 8 jours d'incubation

Milieu de culture	Unité de mesure			
	cm		cm/jour	
	POC	POL	POC	POL
ODD	5,69 ± 1,48	6,76 ± 0,42	0,7113	0,8453
PDA	7,30 ± 0,73	6,60 ± 0,71	0,9125	0,8254
RC	7,8 ± 1,03	7,8 ± 1,03	0,9750	0,9750

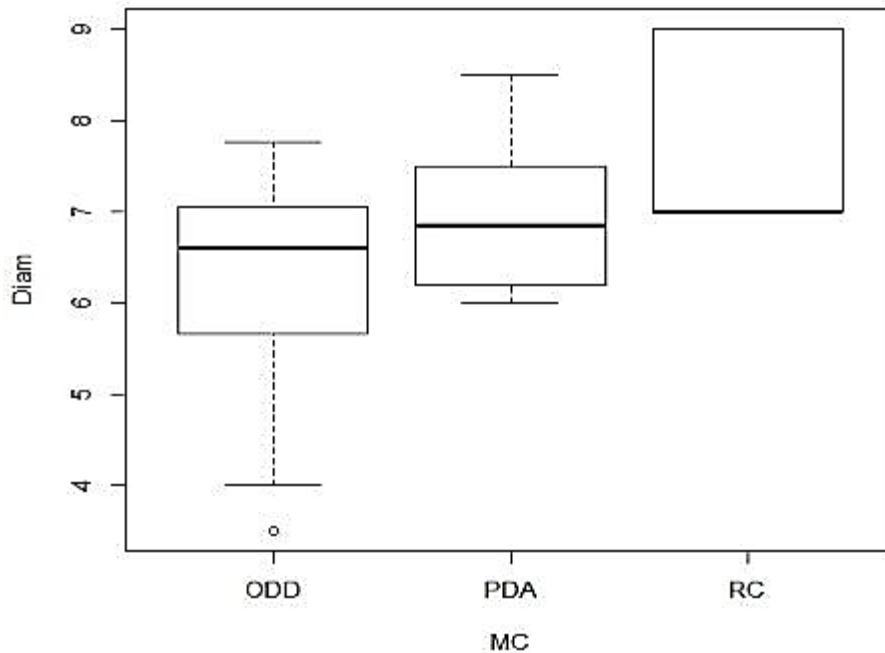


Figure 51: Boîte de dispersion de la variable croissance mycélienne de POC et POL sur milieux Oddoux, PDA et RC

Tableau 15: Résultats du test de Kruskal et Wallis appliqué aux diamètres moyens des colonies mycéliennes des souches de pleurote POC et POL sur les trois milieux de culture, Oddoux (ODD), Pomme de terre-Dextrose-Agar (PDA) et Raper Complet (RC) après 8 jours d'incubation

Factor	ddl	Chi-squared	P-value	Result
Souche	1	0,9816	0,3218	
Milieu de culture	2	13,2254	0,001343	**
* :Significatif, ** : hautement significatif, *** : très hautement significatif				

2- FABRICATION DU BLANC DE CHAMPIGNON

2.1- Blanc primaire et blanc secondaire

Dans la figure 52, sont présentés les blancs primaires et les blancs secondaires des deux souches de pleurote en huitre POC et POL. Les sacs de culture sont soit fermés à l'aide d'agrafes (fig.52-A) soit à l'aide de trombones (fig.52- B et D), soit à l'aide d'un goulot bouché avec du coton recouvert par du papier bleu pour POL et du papier aluminium pour POC (Fig.52-C).

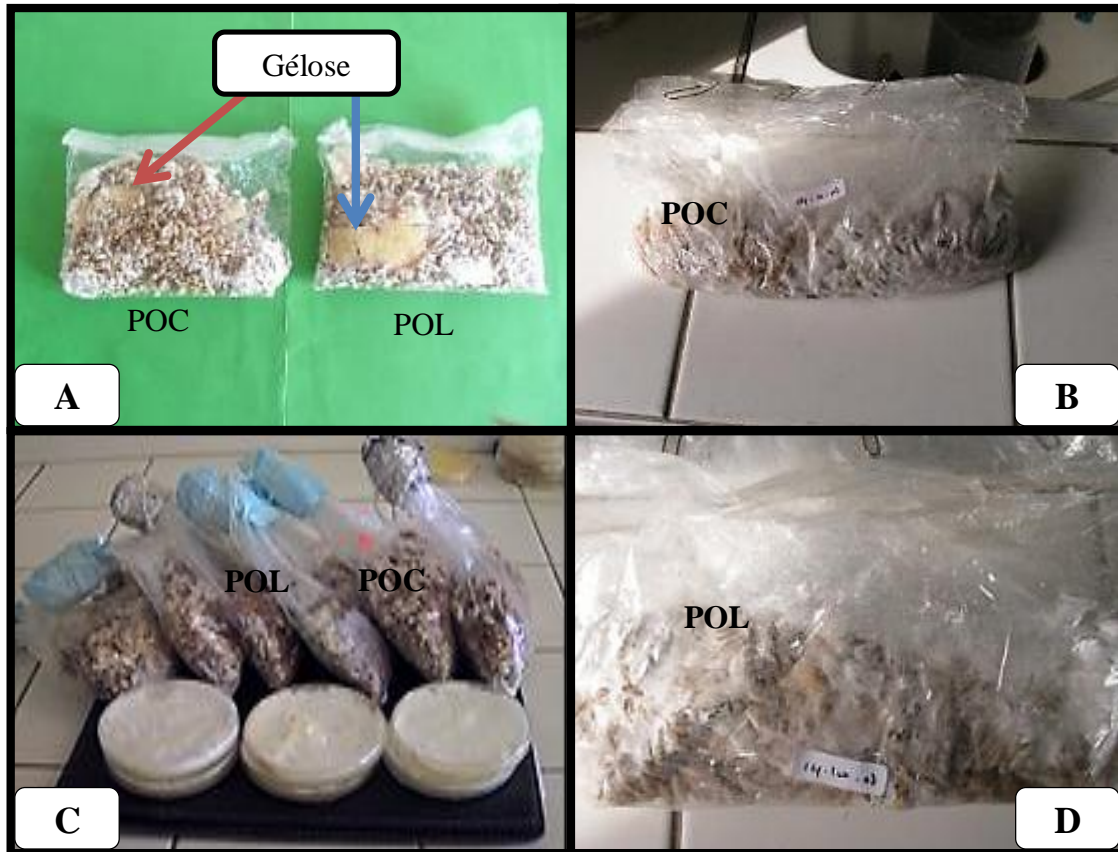


Figure 52: Le blanc de pleurote en sac agrafé ou en sacs avec goulot.

Blancs primaires de POC et POL âgé de 18 jours (A) ; Blancs secondaires de POC et POL âgés de 11 jours (B) et (D) ; Blancs secondaires de POC et POL âgés de 4 semaines (au premier plan se trouvent des cultures mycéliennes en boîte de Pétrie de POC et POL âgées d'un mois) (C).

2.2- Influence de l'humidité, du pH, de la température et du temps d'incubation sur l'envahissement des grains d'orge par les mycelia des deux souches de pleurote

Les résultats relatifs aux tests réalisés sur l'influence des quatre facteurs, souche de pleurote (POC et POL), température d'incubation (22°C, 25°C ou 28°C), la quantité d'eau à ajouter à l'orge (40 ou 50 ml d'eau distillée) et le pH (6,5, 7,5 ou 8,5) sur la fabrication du blanc primaire, sont présentés dans les figures 53 à 55 et les tableaux 16 et 17.

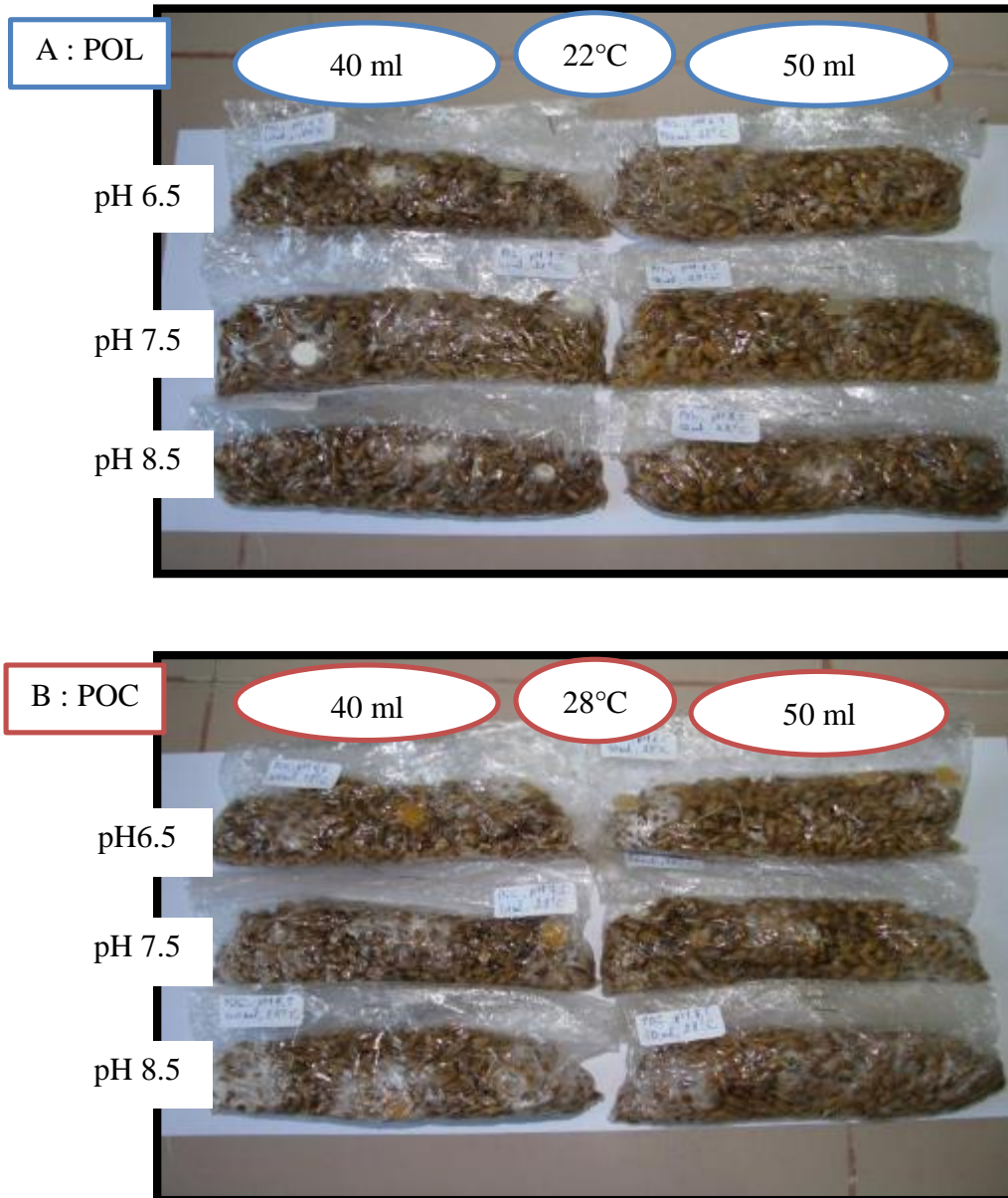


Figure 53: Deux illustrations sur l'influence des facteurs, souche de pleurote, température, humidité et pH sur le blanc primaire au 6^e jour d'incubatio.

Tableau 16: Taux de colonisation de l'orge (\pm écart-type) par le mycelium de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité et de la température et du temps d'incubation

pH	Température	Humidité	temps	POC	POL
pH6,5	T22	H40	J6	16,67 \pm 2,89	10 \pm 0,00
			J9	36,67 \pm 2,89	26,67 \pm 2,89
		H50	J6	23,33 \pm 2,89	10 \pm 0,00
			J9	36,67 \pm 11,55	21,67 \pm 2,89
	T25	H40	J6	17,33 \pm 4,62	10 \pm 0,00
			J9	21,67 \pm 2,89	20 \pm 0,00
		H50	J6	30 \pm 0,00	10, 0,00
			J9	60 \pm 0,00	26,67 \pm 2,89
	T28	H40	J6	16,67 \pm 2,89	11,33 \pm 1,15
			J9	28,33 \pm 2,89	28,33 \pm 2,89
		H50	J6	16,67 \pm 2,89	20,67 \pm 7,51
			J9	46,67 \pm 2,89	48,33 \pm 2,89
pH7,5	T22	H40	J6	21,67 \pm 5,77	10 \pm 0,00
			J9	31,67 \pm 2,89	30 \pm 0,00
		H50	J6	19 \pm 9,64	10 \pm 0,00
			J9	31,67 \pm 24,66	20 \pm 0,00
	T25	H40	J6	26,67 \pm 5,77	18,33 \pm 10,41
			J9	43,33 \pm 11,55	33,33 \pm 15,28
		H50	J6	10 \pm 0,00	14 \pm 5,29
			J9	15 \pm 0,00	20 \pm 0,00
	T28	H40	J6	18,33 \pm 5,77	11,33 \pm 1,15
			J9	38,33 \pm 18,93	23,33 \pm 2,89
		H50	J6	12,33 \pm 2,52	10 \pm 0,00
			J9	16,67 \pm 2,89	18,33 \pm 2,89
pH8,5	T22	H40	J6	25 \pm 0,00	10 \pm 0,00
			J9	38,33 \pm 2,89	26,67 \pm 2,89
		H50	J6	15,67 \pm 8,14	10 \pm 0,00
			J9	20 \pm 8,66	21,67 \pm 2,89
	T25	H40	J6	18,33 \pm 2,89	13,33 \pm 5,77
			J9	28,33 \pm 2,89	28,33 \pm 2,89
		H50	J6	16,67 \pm 2,89	10 \pm 0,00
			J9	25 \pm 0,00	25 \pm 0,00
	T28	H40	J6	18,33 \pm 2,89	15 \pm 0,00
			J9	41,67 \pm 5,77	25 \pm 0,00
		H50	J6	26,67 \pm 5,77	11,67 \pm 2,89
			J9	48,33 \pm 2,89	48,33 \pm 2,89

Le test de Kruskal & Wallis (tab.17) a révélé une différence très hautement significative dans la colonisation des grains d'orge par les mycelia des deux souches de pleurote en huître POC et POL et entre les deux temps d'incubation (6^e et 9^e jours).

La surface visible colonisée par POC est nettement plus grande que celle envahie par POL.

Comme cela était attendu, la croissance mycélienne des deux souches de pleurote est plus importante au 9^e jour d'incubation.

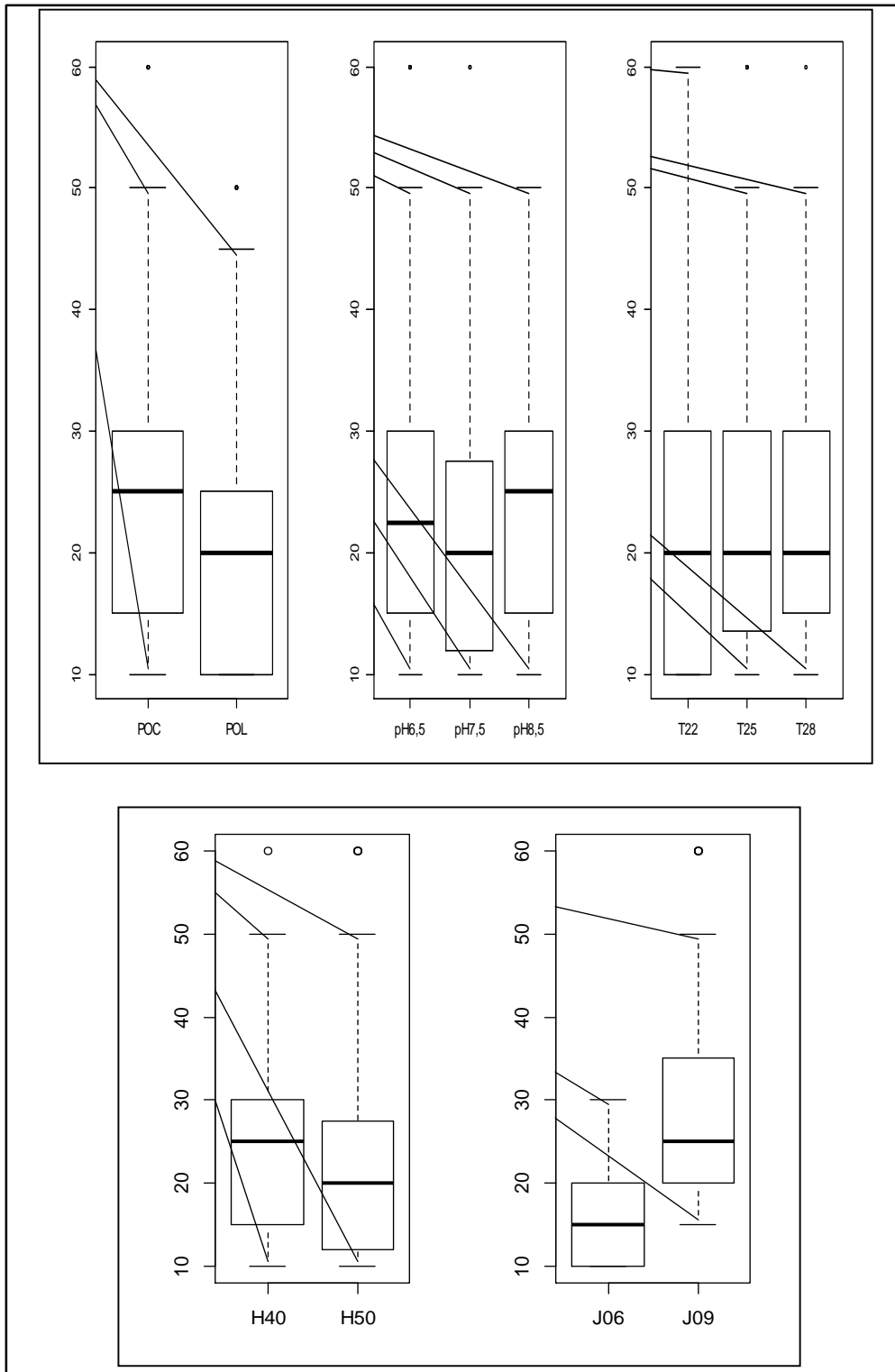


Figure 54: Boite de dispersion de la variable taux (%) de surface d'orge colonisée par le mycélium de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité, de la température et du temps d'incubation

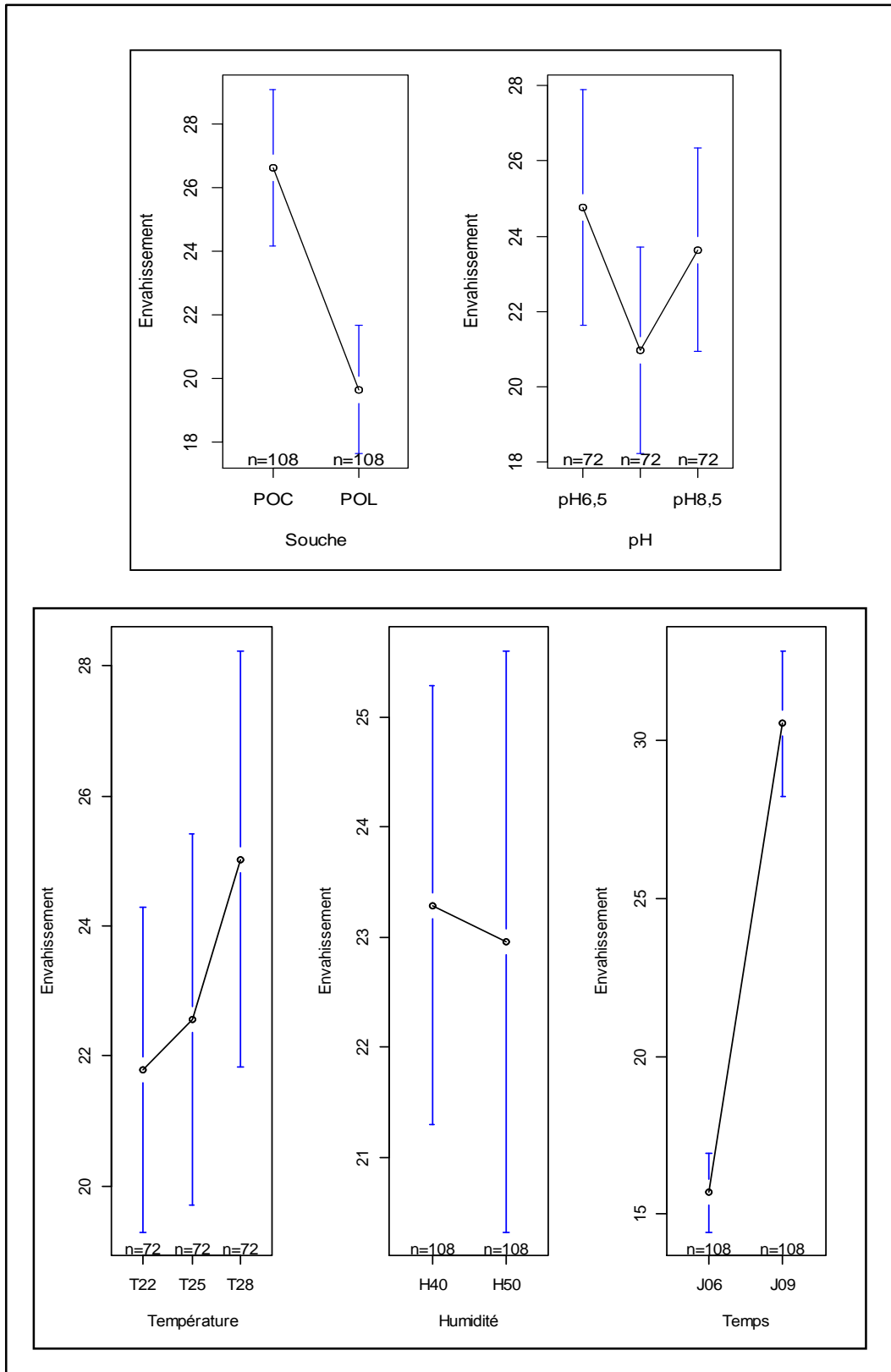


Figure 55: Valeurs moyennes (\pm erreurs standards) des taux d'envahissement (%) de l'orge par les mycelia de POC et POL en fonction du pH, de l'humidité et de la température et du temps d'incubation

Les trois températures d'incubation testées (22, 25 et 28°C) sont favorables à la croissance de POC et POL ; l'analyse statistique n'a pas révélé de différence significative même si la boîte de dispersion a révélé une meilleure homogénéité des résultats à 28°C; cette analyse a, également, révélé que c'est à 22°C que les valeurs de la variable « température d'incubation » sont le plus dispersées et que l'on retrouve des taux d'envahissement les plus bas (Fig 54 et 55).

Il n'y a pas de différences significatives liées aux trois pH et aux deux volumes d'eau utilisés (tab.17; fig. 54et 55).

Les surfaces moyennes envahies par les mycelia de POC et POL accompagnées des erreurs standards présentées dans la figure 55 mettent bien en reliefs les différences réelles (entre les deux souches de pleurote en huître et entre les deux temps d'incubation) ou apparentes (respectivement entre les autres facteurs étudiés: pH, température et humidité).

Tableau 17: ANOVA de Kruskal & Wallis sur l'influence du pH, du taux d'humidité et de la température et du temps d'incubation sur le développement du blanc primaire

Facteur	ddl	chi-squared	P-value	Résultats
Souche	1	20,9801	0,000004641	***
pH	2	3,8628	0,1449	
Température	2	1,3436	0,5108	
Humidité	1	2,1747	0,1403	
Durée d'incubation	1	93,4162	< 2,2e-16	***

* Significative, ** Hautement significative, *** Très Hautement significative.

3- ETUDE DU COMPORTEMENT DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE SUR SUBSTRAT EN BOITE DE PETRI

3.1- Fractionnement du GOB en GOI et GOS

Le tamisage du grignon d'olive (GOB) a permis de diviser le grignon d'olive brut en deux fractions, l'une riche en pulpe (GOI) et l'autre riche en noyau (GOS) (fig.56). GOI et GOS représentent, respectivement, 63,17% et 36,83% du GOB.



Figure 56: Le grignon d'olive brut (GOB) et ses deux fractions GOI et GOS

3.2- Culture de POC et POL sur substrats en boîte de Pétri

3.2.1- Mesure de la croissance mycélienne des souches de pleurote sur substrats en boîte de Pétri

Dans la figure 57 sont présentés quelques substrats utilisés



Figure 57: Quelques-uns des substrats utilisés: Marc de café (MC), Paille coupée (P), mélange grignon d'olive-CaCO₃- Paille (GOBP10) et GOBP10-blanc de pleurote

Malgré une apparente différence entre les surfaces des substrats colonisées par POC et POL (fig. 58 à 61), l'analyse statistique de Kruskal & Wallis (tab.18) n'a pas révélé de différence significative dans le comportement des deux souches de pleurote POC et POL. Par contre, Il existe une différence très hautement significative entre les deux temps

d'incubation fixés, 3^e jour et 6^e jour de culture, ce qui signifie que POC et POL ont bien poussé.

Entre les substrats, la différence est significative (tab.18) mais c'est surtout entre GOBP10 et GOB et entre GOBP10 et MC que les différences sont les plus importantes (tab.19). On peut dire que les croissances optimales de POC et POL a été obtenu sur le grignon d'olive additionné de 10% de paille et que la plus mauvaise croissance mycélienne a été obtenue sur le grignon d'olive et le marc de café non supplémentés par la paille.

Quelques illustrations des résultats de l'expérience sont regroupées dans les figures 58 et 59.

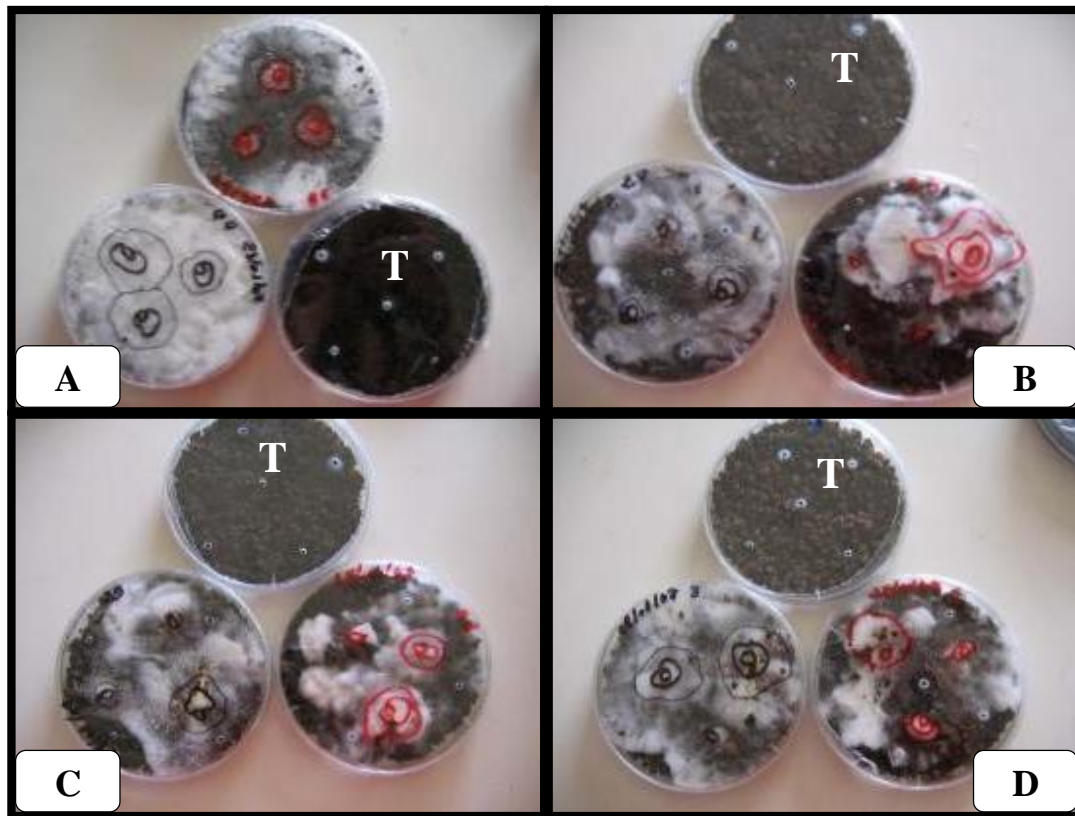


Figure 58: Cultures mycéliennes en boîte de pétri des deux souches de pleurote POC (en rouge) et POL (en noir) âgées de 24 jours.

Trois courbes délimitent chaque grain de blanc : le cercle central délimite le grain de blanc, le cercle médian correspond à la limite du mycélium au 3^e jour d'incubation et la courbe externe correspond à la limite du mycélium au 6^e jour d'incubation

[T : Témoin (substrat non inoculé) ; A : Marc de café ; B : Grignon d'olive ; C : Grignon d'olive inférieur ; D : Grignon d'olive supérieur]

Les boîtes de Pétri qui contiennent 10% de son de blé ont présentées une grande sensibilité aux moisissures. Le développement de ces dernières, dans certaines boîtes a été explosif. L'expérience avec le son de blé n'a pas été poursuivie ; ces cultures ont été éliminées de la suite des analyses. Ce sont surtout les substrats inoculés par la souche POL qui ont présenté une forte sensibilité aux contaminations (Fig.59).



Figure 59: Culture en boîte de Pétri des souches de pleurote POC et POL sur grignon d'olive +10% paille et grignon d'olive +10% paille de blé +10% son de blé .

POC en rouge, POL en bleu et les boîtes d'aspect sombres sont contaminées

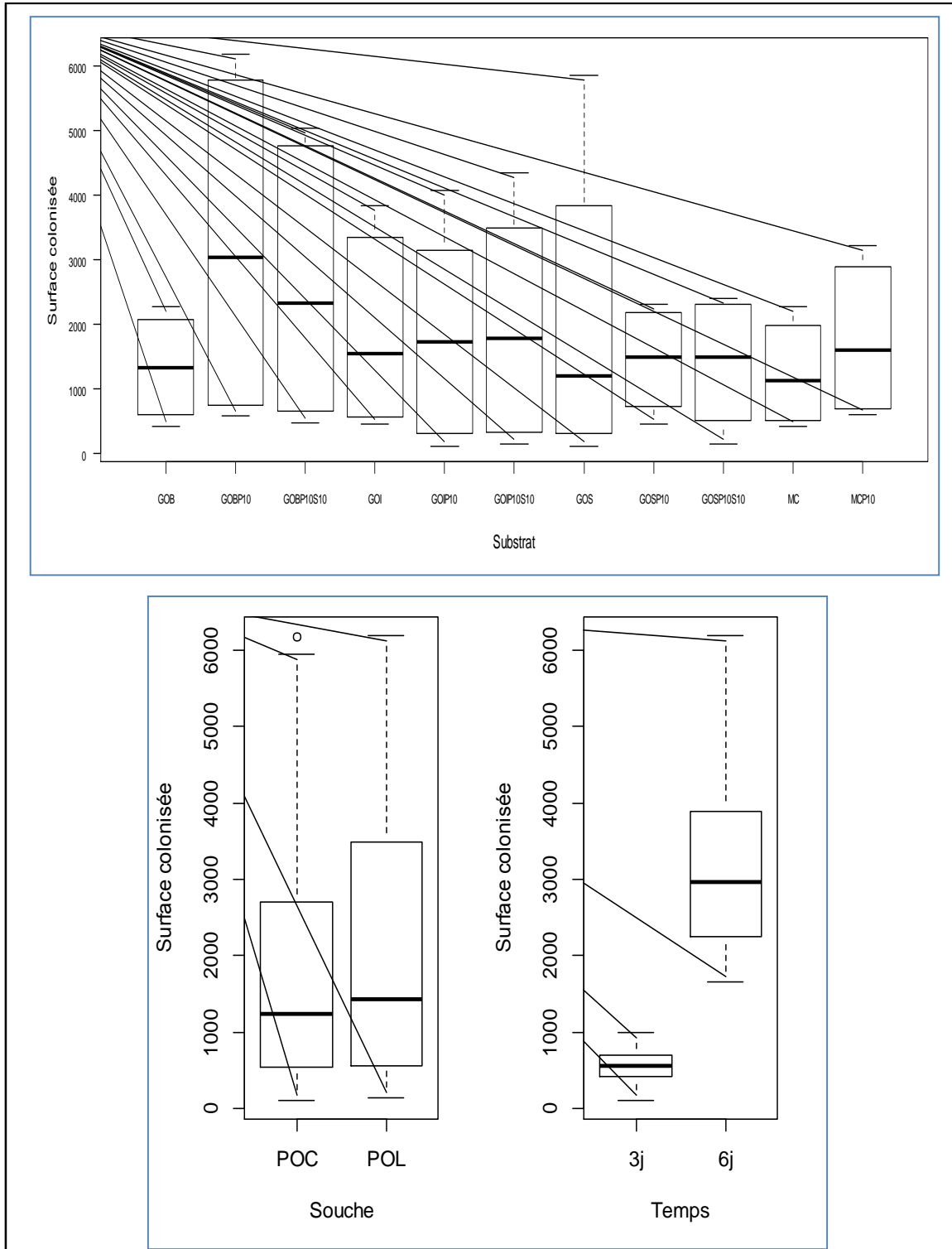


Figure 60: Boîte de dispersion des surfaces colonisées par le mycélium en fonction des souches de pleurote (POC et POL) et des substrats testés et du temps d'incubation

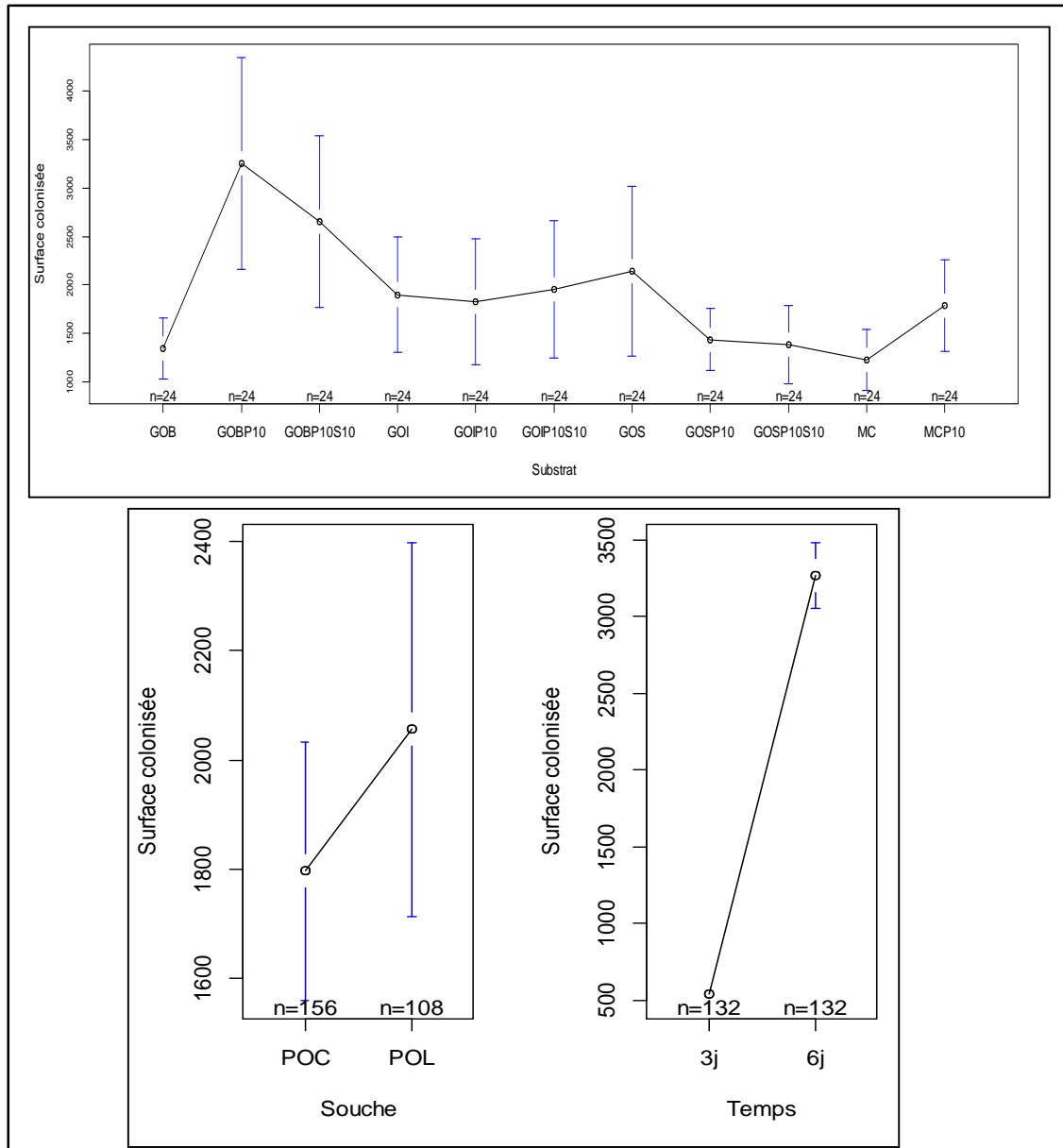


Figure 61: Valeurs moyennes (\pm écarts standards) des surfaces colonisées par les souches de pleurote POC et POL sur les substrats testés

Tableau 18: Résultats du test de Kruskal & Wallis appliqué au taux de colonisation des substrats par POC et POL aux deux temps d'incubation (3 et 6 jours)

	ddl	chi-squared	P-value	Résultat
Souche	1	0,5109	0,4747	
Substrat	10	22,2533	0,01386	*
Temps	1	197,2593	2,20E-16	***
*Significative, ** Hautement significative, *** Très Hautement significative.				

Tableau 19: Test de Dunn appliqué la colonisation des substrats testés par POC et POL aux deux temps d'incubation (3j et 6jours)

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis							
Comparisons	obs.dif	critical.dif	difference	Comparisons	obs.dif	critical.dif	difference
GOB-GOBP10	65,17	73,12	TRUE	GOI-GOIP10S10	11,90	73,12	FALSE
GOB-GOBP10S10	43,81	73,12	FALSE	GOI-GOS	15,56	73,12	FALSE
GOB-GOI	21,06	73,12	FALSE	GOI-GOSP10	12,08	73,12	FALSE
GOB-GOIP10	6,15	73,12	FALSE	GOI-GOSP10S10	22,19	73,12	FALSE
GOB-GOIP10S10	9,17	73,12	FALSE	GOI-MC	37,44	73,12	FALSE
GOB-GOS	5,50	73,12	FALSE	GOI-MCP10	11,92	73,12	FALSE
GOB-GOSP10	8,98	73,12	FALSE	GOIP10-GOIP10S10	3,02	73,12	FALSE
GOB-GOSP10S10	1,13	73,12	FALSE	GOIP10-GOS	0,65	73,12	FALSE
GOB-MC	16,38	73,12	FALSE	GOIP10-GOSP10	2,83	73,12	FALSE
GOB-MCP10	32,98	73,12	FALSE	GOIP10-GOSP10S10	7,27	73,12	FALSE
GOBP10-GOBP10S10	21,35	73,12	FALSE	GOIP10-MC	22,52	73,12	FALSE
GOBP10-GOI	44,10	73,12	FALSE	GOIP10-MCP10	26,83	73,12	FALSE
GOBP10-GOIP10	59,02	73,12	FALSE	GOIP10S10-GOS	3,67	73,12	FALSE
GOBP10-GOIP10S10	56,00	73,12	FALSE	GOIP10S10-GOSP10	0,19	73,12	FALSE
GOBP10-GOS	59,67	73,12	FALSE	GOIP10S10-GOSP10S10	10,29	73,12	FALSE
GOBP10-GOSP10	56,19	73,12	FALSE	GOIP10S10-MC	25,54	73,12	FALSE
GOBP10-GOSP10S10	66,29	73,12	FALSE	GOIP10S10-MCP10	23,81	73,12	FALSE
GOBP10-MC	81,54	73,12	TRUE	GOS-GOSP10	3,48	73,12	FALSE
GOBP10-MCP10	32,19	73,12	FALSE	GOS-GOSP10S10	6,63	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOI	22,75	73,12	FALSE	GOS-MC	21,88	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOIP10	37,67	73,12	FALSE	GOS-MCP10	27,48	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOIP10S10	34,65	73,12	FALSE	GOSP10-GOSP10S10	10,10	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOS	38,31	73,12	FALSE	GOSP10-MC	25,35	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOSP10	34,83	73,12	FALSE	GOSP10-MCP10	24,00	73,12	FALSE
GOBP10S10-GOSP10S10	44,94	73,12	FALSE	GOSP10S10-MC	15,25	73,12	FALSE
GOBP10S10-MC	60,19	73,12	FALSE	GOSP10S10-MCP10	34,10	73,12	FALSE
GOBP10S10-MCP10	10,83	73,12	FALSE	MC-MCP10	49,35	73,12	FALSE
GOI-GOIP10	14,92	73,12	FALSE				

3.2.2- Mesure de la matière sèche dans les substrats de culture des deux souches de pleurote

La matière sèche des substrats avant et après culture des souches de pleurote POC et POL sont regroupées dans le tableau 20. Il ne semble pas y avoir de différences importantes entre le grignon d'olive avant inoculation et après inoculation par les souches de Pleurote POC et POL, après 10 jours et 24 jours d'incubation.

Tableau 20: Estimation de la matière sèche dans le grignon d'olive (GOB) avant et après inoculation, aux 10^{ème} et 24^{ème} jours d'incubation (en pourcentage de matière fraîche)

Substrat-Souche de pleurote	Temps d'incubation	
	10jours	24jours
GOB (Témoin)	51,80	
GOBPOC	54,26	53,57
GOBPOL	52,75	53,53

3.2.3- Mesure des activités hydrolases dans le grignon d'olive et le marc de café inoculés par les deux souches de pleurote après 10 et 24 jours d'incubation.

La mesure des activités hydrolases des deux souches de Pleurotes POC et POL sont représenté dans l'histogramme de la figure 62. Les activités hydrolases sont différentes selon le substrat, le grignon d'olive et le marc de café.

Sur grignon d'olive, l'activité hydrolase est très importante au 8^e jour d'incubation pour les deux souches de pleurote avec une activité plus importante pour POC estimée à 1,02 μg équivalent FDA libéré/g substrat sec /min *versus* 0,84 μg équivalent FDA libéré/g substrat sec/min pour la souche POL.

Aux 13^e, 18^e et 24^e jours d'incubation les activités hydrolases sont très faibles.

Une reprise d'activité de même niveau (0,23 μg équivalent FDA libérés/g substrat sec /min) a été observée au 35^e jour d'incubation pour les deux souches de pleurote.

Sur la fraction de grignon d'olive riche en pulpe (GOI) et la fraction riche en lignine (GOS), les activités hydrolases ont été mesurées uniquement aux 24^e et 35^e jours d'incubation.

Sur GOI, ces activités sont semblables à celles présentées par les deux souches de pleurote sur le GOB au 35^e jour d'incubation avec respectivement 0,25 μg équivalent FDA libéré/g substrat sec/min pour la souche POC et 0,24 μg équivalent FDA libéré/g substrat sec /min pour la souche POL.

Sur la fraction riche en lignine (GOS), les activités sont faibles mais c'est la souche locale (POL) qui a présenté une meilleure activité hydrolase avec 0,14 μg équivalent FDA libéré/g substrat sec /min.

Sur le marc de café, les activités hydrolases sont relativement faibles entre le 7^e et le 18^e jour d'incubation. Elles sont de même niveau que les activités observées sur GOB au 35^e jour d'incubation.

C'est au 24^e jour d'incubation que l'activité hydrolase est la plus importante, avec une activité meilleure pour la souche POC dans le marc de café avec une valeur de 0,63 μg équivalent FDA libéré /g MS/min contre 0,47 μg équivalent FDA libéré /g MS/min pour la souche POL. Ces valeurs ont diminuées au 35^e jour d'incubation et cette chute d'activité est plus importante pour POC (38%) que pour POL (34%); en effet les activités hydrolases respectives de POC et POL sont estimées à 0,39 et 0,31 μg équivalent FDA libéré /g MS/min).

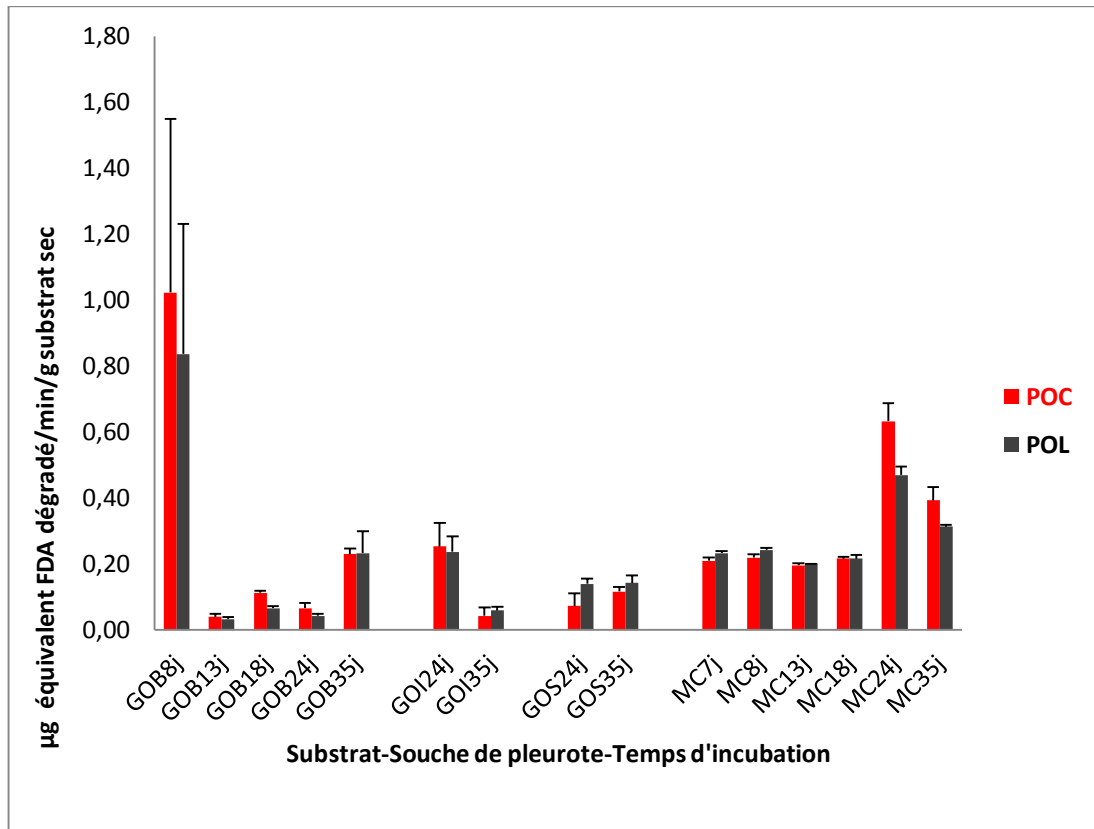


Figure 62: Mesure des activités hydrolases dans les substrats de culture des souches de pleurote POC et POL en fonction du temps d'incubation

3.2.3.1- Mesure des activités glycosidases dans le grignon d'olive inoculé par les deux souches de pleurote après 10 jours et 24 jours d'incubation.

Les mesures des activités glycosidases des deux souches de pleurotes POC et POL sont représentées dans l'historgramme de la figure 63. Ces activités sont plus importantes

au 24^e jour d'incubation qu'au 10^e jour sauf dans le cas de l'activité de β -D- xylosidase (β -XYL) de POL qui a la même importance au 10^e et au 24^e jour d'incubation.

C'est la souche locale de pleurote qui a présenté les niveaux d'activité glycosidases les plus élevés.

L'activité enzymatique la plus importante est l'activité β -D-glucopyranosidase (β -GLU) aussi bien pour la souche POL que POC, avec des mesures d'activité β -GLU approximativement trois fois supérieure chez POL par rapport aux activités β -GLU de la souche POC

L'activité N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) 24j est trois fois supérieure chez POL par rapports aux mesures obtenues avec POC.

L'activité β -XYL de la souche commerciale (POC), au 10^e jour d'incubation est semblable à celle de POL, par contre au 24^e jour d'incubation cette activité est presque nulle.

L'activité β -D- mannopyranosidase (β -MAN) est négligeable chez les deux souches de pleurote aux deux temps d'incubation étudiés.

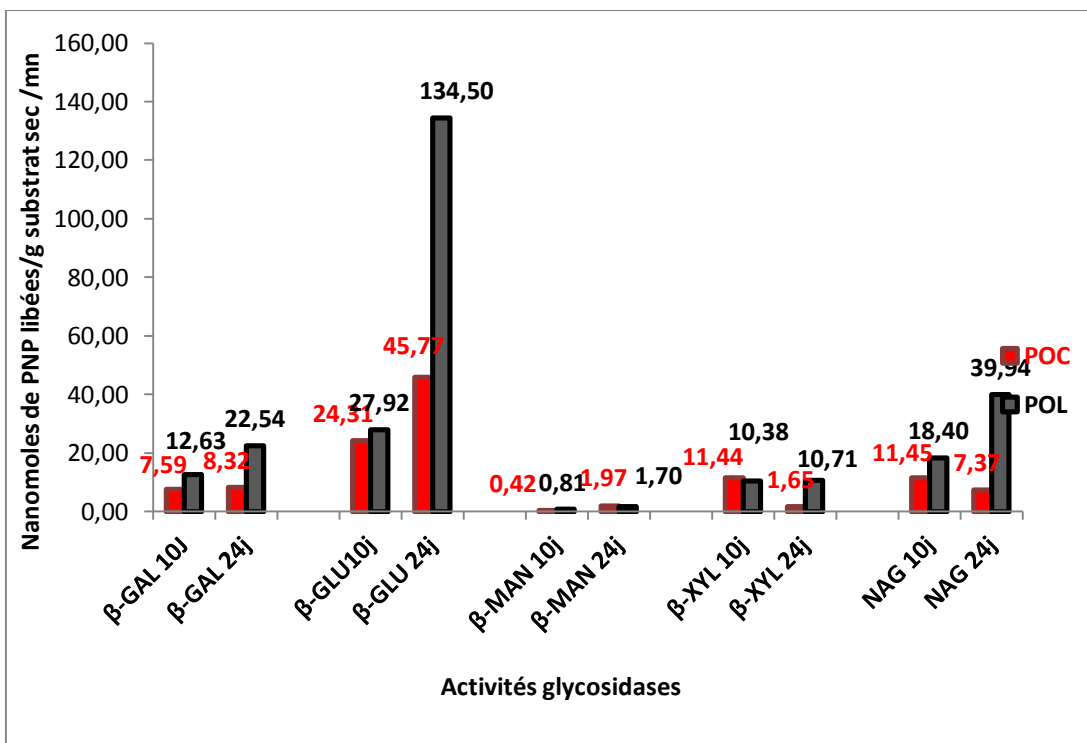


Figure 63: Activités des enzymes extracellulaires extraites du grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote POC et POL après 10 jours et 24 jours d'incubation exprimées en nmol de *p*-nitrophénol libérées /g de substrat sec/min

3.2.3.2- Mesure de l'activité protéase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote après 10 et 24 jours d'incubation

Les résultats des dosages de l'activité protéase dans le grignon d'olive inoculé par les deux souches de pleurote POC et POL sont présentés dans la figure 64.

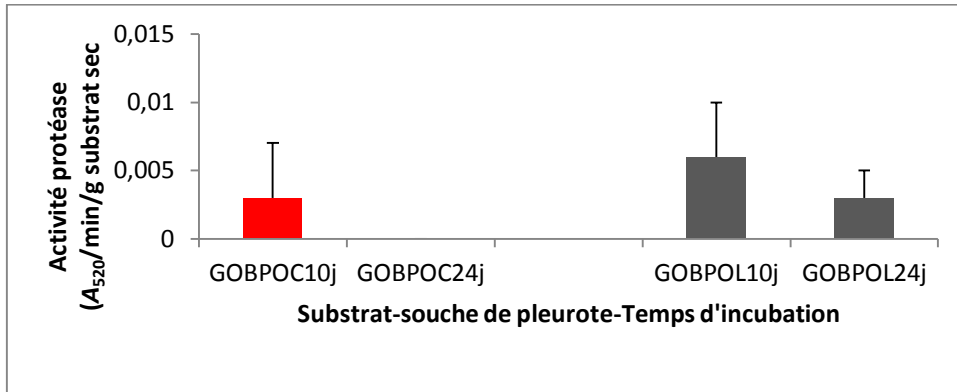


Figure 64: Activité protéase dans le grignon d'olive inoculé par les deux souches de pleurote POC et POL après 10 et 24 jours d'incubation

(A₅₂₀ : Absorbance à 520 nm)

Les activités PRO des deux souches de pleurote POC et POL sont différentes : alors que la souche commerciale POC a présenté une activité PRO nulle au 24^e jour d'incubation et une activité PRO au 10^e jour d'incubation équivalente à celle présentée par la souche POL au 24^e jour d'incubation, l'activité PRO de la souche de pleurote locale POL au 10^e jour d'incubation est double par rapport à celle du 24^e jour d'incubation.

3.2.4- Mesure de l'activité laccase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote

Les mesures de l'activité laccase (LAC) sont représentées dans la figure 65.

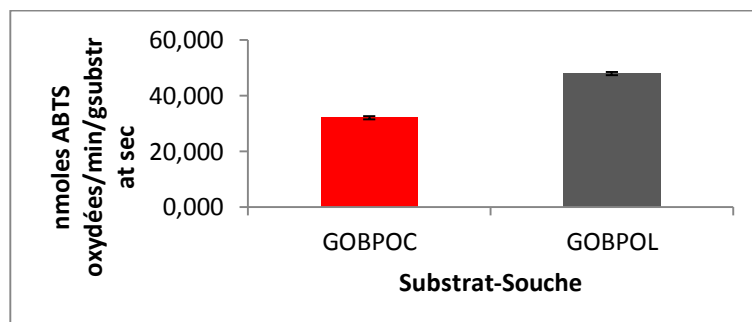


Figure 65: Mesure de l'activité laccase dans le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote POC et POL après 10 jours et 24 jours d'incubation

Les activités laccases (LAC) mesurées sur une minute sont faibles. Cependant les activités LAC de la souche locale de pleurote sont plus importantes que celles de la souche

commerciale POC (48,28 nmoles ABTS oxydées/min/g substrat sec vs 32.41 nmoles ABTS oxydées/ g substrat sec /min).

3.2.5- Fractionnement chimiques des substrats de culture des deux souches de pleurote et dosage de l'azote total

Le grignon d'olive non inoculé et le grignon d'olive inoculé par les souches de pleurote POC et POL ont été fractionnés en trois parties, fraction hydrosoluble, fraction acidosoluble (soluble dans l'acide sulfurique 6N) et fraction récalcitrante ou insoluble (tab.21).

Les résultats des dosages de l'azote dans ces trois fractions sont présentés dans le tableau 22. L'azote total a augmenté dans le grignon d'olive suite à l'action des deux champignons.

L'azote hydrosoluble a nettement augmenté tout particulièrement pour POC âgé de 10 jours avec 9,879 mg N/g de grignon sec vs 6,453mg N/g de grignon d'olive sec.

La quantité d'azote soluble dans l'acide sulfurique a presque doublé (11,557 mg N/g substrat sec vs 6,326 mg N/g substrat sec) dans le grignon d'olive inoculé avec la souche de pleurote locale (POL), après 24 jours d'incubation, par rapport au témoin.

Dans la fraction récalcitrante du grignon d'olive, l'azote a légèrement diminué sous l'action de la souche de pleurote locale (POL) âgée de 24 jours.

Tableau 21: Fractionnement chimique du grignon d'olive non inoculé (Témoin) ou inoculé par les souches de pleurote POC et POL

Substrat-Souche pleurote- Temps incubation	Fraction (g/g substrat initial)		
	Insoluble	Acidosoluble	Hydrosoluble
GOB (Témoin)	0,5193	0,4355	0,0452
GOBPOC10j	0,5885	0,3881	0,0234
GOBPOL10j	0,5312	0,4344	0,0344
GOBPOC24j	0,5391	0,4185	0,0424
GOBPOL24j	0,5278	0,4348	0,0374

Tableau 22: Concentration en azote dans les différentes fractions du grignon d'olive inoculés ou non (témoin) par les souches de pleurote POC et POL, aux 10^e et 24^e jours d'incubation

Substrat-Souche pleurote-Temps incubation	Azote (mg N/g substrat sec)			
	Total	Hydrosoluble	Acidosoluble	Récalcitrant
GOB (Témoin)	19,687	6,453	6,326	6,908
GOBPOC10j	–	9,879	7,676	–
GOBPOL10j	–	7,747	8,458	–
GOBPOC24j	–	7,719	4,136	–
GOBPOL24j	24,833	7,562	11,557	5,714

4- VALORISATION DU GRIGNON D'OLIVE FRACTIONNE OU NON ET SUPPLEMENTE OU NON PAR LA PAILLE DE BLE PAR LA CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE

4.1- Mesure du pH dans les substrats de culture

Le grignon d'olive (pH=5,14 ± 0,08) tout comme le marc de café (pH= 4,85±0,07) sont des substrats acides. L'addition du carbonate de calcium et de la paille a permis une hausse du pH qui a avoisiné (cas de GOB) ou légèrement dépassé le pH neutre (GOBP10, GOI et GOS) (tab.23).

L'activité des deux souches de Pleurote a entraîné une acidification des substrats (Tab.23) à la fin d'incubation des cultures.

Tableau 23: pH initial et pH à la fin d'incubation dans les substrats de culture des deux souches de pleurote

Substrat	pH			
	A la réception du substrat	Avant inoculation (avec 2% CaCO ₃)	Fin incubation souche POC	Fin incubation souche POL
GOB	5,14 ± 0,08	6,48 ± 0,06	5,61 ± 0,02	5,58 ± 0,15
GOI	5,93 ± 0,05	7,67 ± 0,01	–	–
GOS	5,96 ± 0,04	8,02 ± 0,00	–	–
GOBP10	5,42 ± 0,07	7,65 ± 0,05	5,63 ± 0,06	5,56 ± 0,01
GOBP20	5,26 ± 0,03	–	5,02 ± 0,02	4,97 ± 0,01
GOIP20	5,55 ± 0,27	–	5,19 ± 0,02	5,39 ± 0,02
GOSP20	5,72 ± 0,01	–	5,33 ± 0,05	5,34 ± 0,04
Paille*	7,88 ± 0,08*	8,19 ± 0,27*	6,04 ± 0,15*	5,79 ± 0,15*
* : source : Mansour-Benamar et al (2014) (-) : Non fait				

4.2- Taux d'humidité, de matière sèche et de cendres dans les substrats de culture des deux souches de pleurote avant et après inoculation

Les mesures des taux d'humidité et de matières sèche et minérale sont regroupées dans le tableau 24.

Le taux d'humidité dans les substrats de culture au départ de l'expérience, était variable. Il a varié de 36 % dans GOS, la fraction riche en lignine du grignon d'olive à 75,34% dans la paille de blé.

Les taux d'humidité relative ont été maintenus à un niveau relativement stable jusqu'à la fin d'incubation malgré de légères fluctuations entre les substrats et les deux souches de pleurote (de 54,20% pour GOSP-POC à 69,39 % pour la paille-POL). Cependant ces taux sont acceptables et indiquent que notre système d'humidification est correct.

C'est la paille qui absorbe le plus d'eau et c'est la fraction riche en lignine (GOS) qui retient le moins d'eau.

La matière sèche (tab.24) dans les différents substrats est relativement stable entre l'état initiale et l'état final, à la fin de la phase végétative des deux souches de pleurote POC et POL.

Quant à la matière minérale (tab.24), elle a augmenté dans tous les substrats, à la fin d'incubation de POC et POL. C'est la paille qui a présenté le meilleur enrichissement en minéraux sous l'action de POC et POL, avec des taux respectif de 9,93% et 10,61% vs 2,25% dans la paille avant inoculation.

Tableau 24: Taux d'humidité (H), de matière sèche (MS) et de cendre (MM) dans les substrats de culture des deux souches de pleurote POC et POL, avant et après inoculation

Substrat	Hi (%)	Hf POC (%)	Hf POL (%)	MSi (%)	MSf POC (%)	MSf POL (%)	MMi (%)	Mf POC (%)	MMf POL (%)
GOB	54,68 ± 0,49	55,50 ± 0,89	55,61 ± 0,48	45,32 ± 0,49	44,50 ± 0,89	44,39 ± 0,48	2,48 ± 0,28	3,67 ± 0,08	3,92 ± 0,15
GOI	60,18 ± 0,38	57,45 ± 0,65	58,14 ± 0,50	39,82 ± 0,38	42,55 ± 0,65	41,86 ± 0,50	3,65 ± 0,16	4,67 ± 0,13	4,50 ± 0,11
GOS	36,00 ± 1,09	61,59 ± 0,32	60,98 ± 0,26	64,00 ± 1,09	38,41 ± 0,32	39,02 ± 0,26	2,53 ± 0,21	-	-
GOBP10	63,55 ± 0,57	63,39 ± 0,15	64,44 ± 0,12	36,54 ± 0,57	36,61 ± 0,15	35,56 ± 0,12	2,26 ± 0,06	4,95 ± 0,58	5,66 ± 0,71
GOBP20	67,36 ± 0,75	63,03 ± 0,16	64,81 ± 0,31	32,64 ± 0,75	36,97 ± 0,16	35,19 ± 0,31	2,51 ± 0,09	5,51 ± 0,11	5,31 ± 0,07
GOIP20	73,19 ± 0,78	57,45 ± 0,23	58,14 ± 0,31	26,81 ± 0,78	42,55 ± 0,23	41,86 ± 0,31	3,82 ± 0,28	5,67 ± 0,18	5,50 ± 0,21
GOSP20	48,15 ± 1,71	54,20 ± 0,10	55,04 ± 0,21	51,85 ± 1,71	45,80 ± 0,10	44,96 ± 0,21	3,08 ± 0,29	-	-
Paille*	75,34 ± 0,08*	65,06 ± 0,47*	69,39 ± 0,49*	24,66 ± 0,08	34,94 ± 0,47*	30,79 ± 0,76*	2,25 ± 0,16*	9,93 ± 0,17*	10,61 ± 0,73*

*Mansour-Benamar et al, 2014 ; (-) : Non fait.
 Hi: Humidité initiale ; Hf: Humidité finale ; MSi: Matière sèche initiale ; MSf : Matière sèche finale ; MMi : Matière minérale initiale ; MMf : Matière minérale finale

4.3- Dosage de la lignocellulose et des protéines totales dans les grignons d'olive

Le dosage des fibres et des protéines totales a été fait à l'ONAB (Office National de l'Aliment du Bétail qui fait des prestations de service. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 25

Tableau 25: Dosage des protéines et de la lignocellulose (en % de Matière sèche) dans le grignon d'olive et ses fractions, supplémentés ou non par 10% de paille, après 21 jours d'incubation de POC et POL

Substrat	PO	Protéines totales	Lignocellulose
GOB	T	5,87	45,07
	POL	8,11	30,51
	POC	7,63	33,59
GOBP	T	4,13	42,32
	POL	8,53	35,85
	POC	4,43	44,1
GOS	T	1,95	48,43
	POL	3,61	42,71
	POC	3,27	46,3
GOSP	T	1,67	45,06
	POL	7,33	42,79
	POC	4	44,58
GOI	T	8,92	36,52
	POL	8,86	33,7
	POC	5,59	32,82
GOIP	T	7,1	37,62
	POL	8,12	37,81
	POC	4,1	36,13

Il ressort de ce tableau que le tamisage a bien créé une fraction riche en lignine (GOS) et une fraction moins riche en lignine (GOI) par rapport au grignon d'olive brut avec respectivement 48,43 % et 36,52 % de cellulose brut *versus* 45,07 % dans GOB. A l'inverse les protéines totales ont diminuée dans GOS (1,95%) et augmenté dans GOI (8,92%) *versus* 5,87% dans GOB.

L'addition des 10% de paille a fait diminuer de taux de lignocellulose. Cette diminution est de 2,75% par rapport à GOB, de 3,37 % par rapport à GOS, il en est de même pour les protéines totales qui ont diminué de 1,74 % dans GOBP10 par rapport à GOB et de

0,28% par rapport à GOS. Par contre, elle a permis une augmentation à la fois de la cellulose brute de 1,1% et une augmentation de 1,82 % de protéines totale par rapport à GOI.

Concernant l'activité des deux souches de pleurote POC et POL, en dehors de certaines valeurs que nous avons jugé aberrantes (augmentation de la lignocellulose et diminution des protéines) et que nous avons mis en surbrillance dans le tableau 25, d'une manière générale, il y'a une diminution de la lignocellulose et une augmentation des protéines totales avec des activités un peu plus importantes pour la souche locale que pour la souche commerciale.

4.4- Récolte et rendements en carpophores

4.4.1- Mensurations des carpophores

Les champignons récoltés ont été pesés et mesurés. Les paramètres pris en compte sont : le poids des champignons, le diamètre moyen des chapeaux et la largeur et la longueur des pieds des carpophores récoltés. Les valeurs moyennes accompagnées de leurs écarts type sont regroupées dans le **Erreur ! Liaison incorrecte.**

Les résultats obtenus pour chaque variable ont été d'abord triés à l'aide des boîtes de dispersion puis soumis à l'analyse de Kruskal et Wallis.

Tableau 26: Poids moyen des carpophores, diamètre moyen des chapeaux et les longueur et largeur moyennes des pieds (\pm écarts types) des carpophores de POC et POL développés sur les substrats testés

Souche	Sub	Pds carp (g)	D moy (cm).	Long. pied (cm)	Larg. pied (cm)
POC	GOB	8,74 \pm 11,81	4,63 \pm 1,90	3,16 \pm 1,29	0,64 \pm 0,55
	GOI	9,95 \pm 9,00	5,54 \pm 2,14	3,48 \pm 1,45	0,93 \pm 0,51
	GOS	9,56 \pm 10,03	5,71 \pm 2,45	3,32 \pm 1,04	0,70 \pm 0,46
	GOBP10	17,76 \pm 15,29	6,03 \pm 2,17	3,08 \pm 1,47	1,11 \pm 0,51
	GOBP20	4,96 \pm 3,26	5,13 \pm 1,56	2,87 \pm 1,17	0,73 \pm 0,31
	GOIP20	4,52 \pm 2,88	4,82 \pm 1,55	2,85 \pm 1,08	0,67 \pm 0,30
	GOSP20	4,04 \pm 2,24	4,77 \pm 1,64	2,36 \pm 0,98	0,62 \pm 0,25
POL	GOB	6,71 \pm 5,01	5,05 \pm 1,51	2,66 \pm 1,39	0,62 \pm 0,33
	GOI	14,23 \pm 7,92	5,16 \pm 1,65	4,08 \pm 1,21	1,03 \pm 0,40
	GOS	10,00 \pm 1,62	4,73 \pm 1,62	3,09 \pm 1,14	0,81 \pm 0,38
	GOBP10	13,81 \pm 11,77	5,58 \pm 2,09	2,72 \pm 1,31	1,08 \pm 0,48
	GOBP20	4,55 \pm 3,66	4,30 \pm 1,74	2,43 \pm 1,54	0,58 \pm 0,25
	GOIP20	3,79 \pm 2,18	4,28 \pm 1,17	2,48 \pm 1,36	0,66 \pm 0,25
	GOSP20	4,49 \pm 2,77	5,27 \pm 1,39	2,55 \pm 0,97	0,65 \pm 0,36

Sub : substrat, Pds carp : poids moyen des carpophores ; Dmoy : Diamètre moyen, Long : longueur ; Larg : largeur.

4.4.1.1- Poids des carpophores

Les poids des carpophores récoltés sur les 7 substrats de culture ont présenté des écarts types très élevés (tab.26) ce qui signifie que les valeurs obtenues pour cette variable, comme il est possible de le voir dans les boîtes de dispersion (fig. 66), sont très dispersées en particulier sur GOBP10.

L'analyse de la variance de Kruskal & Wallis (tab.27) n'a pas révélé de différence significative entre les deux souches de pleurote en huître, autrement dit, les carpophores de POC et ceux de POL ont des poids semblables. Par contre, il existe une différence hautement significative entre les poids des carpophores en fonction des substrats sur lesquels ils se sont développés.

Le test de Dunn a permis de cibler ces différences (tab.28). Des différences de poids existent entre les poids des carpophores formés sur tous les substrats sauf entre ceux formés sur GOBP10 et GOI, GOBP20 et GOI, GOBP20 et GOSP20, GOI et GOS, et GOIP20 et GOSP20.

Si l'on doit classer les carpophores par ordre de poids décroissants, c'est sur GOBP10 que les carpophores les plus gros ont été formés (tab.26 et fig.66-D) puis sur les substrats non supplémentés par la paille GOB, GOI et GOS. C'est sur les substrats supplémentés par 20% de paille de blé que les carpophores de faibles poids ont été récoltés. Il ne semble pas y avoir de différences entre eux. La diminution du poids moyen des carpophores a été compensée par l'augmentation du nombre de carpophores.

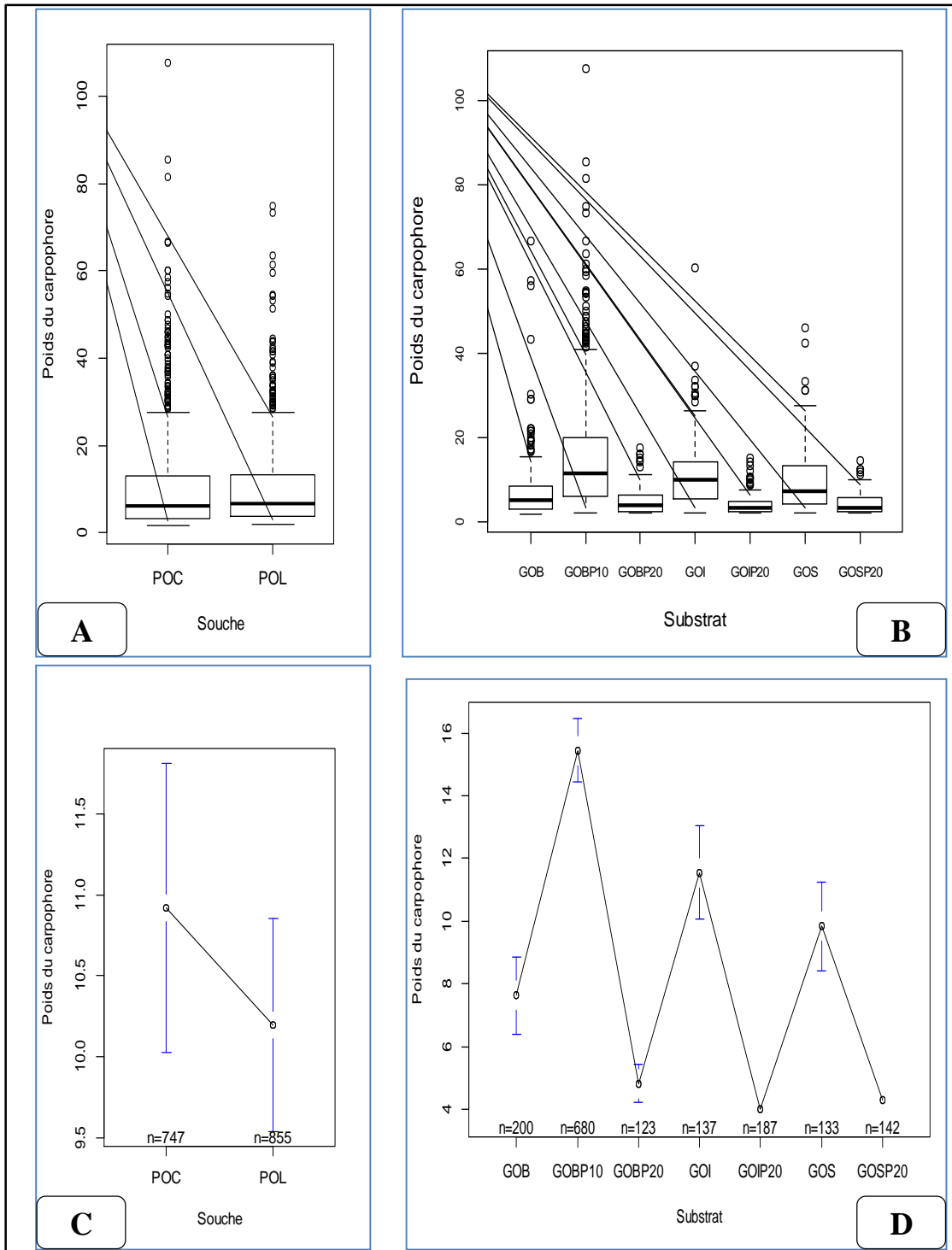


Figure 66: Variable poids des carpophores.

Boxplot du facteur souche de pleurote POC et POL (A); Boxplot de la variables poids des champignons en fonction des substrats (B) ; Moyenne et écart standard entre les poids des carpophores de POC et POL (C); Moyenne et écart standard des poids des carpophores récoltés sur les 7 substrats testés (D).

Tableau 27: Variable poids des carpophores de POC et POL sur les différents substrats: résultats de l'analyse de Kruskal &Walis pour

Poids du carpophore				
Facteur	ddl	chi-squared	P-value	Results
Souche	1	1,3495	0,2454	
Substrat	6	503,304	2,20E-16	**

Tableau 28: Application du test de Dunn pour comparer les poids des carpophores obtenus sur les 7 substrats testés sous l'action de POC et POL

Poids du carpophore			
Multiple comparison test after Kruskal-Wallis: Dunn's test			
Substrat	Obs.dif	Critical.dif	Difference
GOB-GOBP10	377,96	113,05	TRUE
GOB-GOBP20	184,32	161,04	TRUE
GOB-GOI	289,23	155,86	TRUE
GOB-GOIP20	261,65	142,96	TRUE
GOB-GOS	174,02	157,25	TRUE
GOB-GOSP20	225,84	154,23	TRUE
GOBP10-GOBP20	562,28	137,71	TRUE
GOBP10-GOI	88,73	131,61	FALSE
GOBP10-GOIP20	639,61	116,05	TRUE
GOBP10-GOS	203,95	133,25	TRUE
GOBP10-GOSP20	603,81	129,67	TRUE
GOBP20-GOI	473,55	174,57	TRUE
GOBP20-GOIP20	77,33	163,16	FALSE
GOBP20-GOS	358,33	175,81	TRUE
GOBP20-GOSP20	41,53	173,11	FALSE
GOI-GOIP20	550,88	158,05	TRUE
GOI-GOS	115,22	171,08	FALSE
GOI-GOSP20	515,07	168,31	TRUE
GOIP20-GOS	435,66	159,42	TRUE
GOIP20-GOSP20	35,80	156,44	FALSE
GOS-GOSP20	399,86	169,59	TRUE

4.4.1.2- Diamètre moyen du chapeau des carpophores

Contrairement à la variable poids des champignons qui a présenté des valeurs assez dispersées, celles de la variable diamètre des chapeaux des carpophores de POC et POL

semblent présenter une distribution un peu plus homogène avec des écarts types par rapport à la moyenne plus réduits (tab.26 et fig.67).

L'analyse de la variance de Kruskal & Wallis (tab.29) n'a pas révélé de différence significative entre les deux souches de pleurote en huître, autrement dit, les diamètres des chapeaux des carpophores de POC et POL sont semblables. Par contre, il existe une différence hautement significative entre ces diamètres en fonction des substrats sur lesquels les champignons ont été récoltés.

Pour compléter l'analyse, le test de Dunn a permis de préciser entre quels substrats existent des différences (tab.30).

Ce sont les carpophores développés sur le grignon d'olive supplémenté avec 10% de paille de blé qui ont présenté des chapeaux à plus large diamètre (environ 6 cm). Des différences existent entre les carpophores formés sur GOBP10 et GOB, GOBP10 et GOBP20, GOBP10 et GOIP20, GOBP10 et GOS, GOI et GOIP20 et GOIP20 et GOSP20.

Les carpophores à très petit chapeau ont été récoltés sur le grignon d'olive riche en pulpe et supplémenté avec 20% de paille de blé (tab.26 et fig.67-D). La taille du chapeau est certainement en relation à la fois avec le poids des carpophores et le nombre de carpophores formés.

Sur la fraction riche en lignine du grignon d'olive (GOS) et GOS supplémenté avec 20% de paille de blé, les champignons récoltés ont même diamètre.

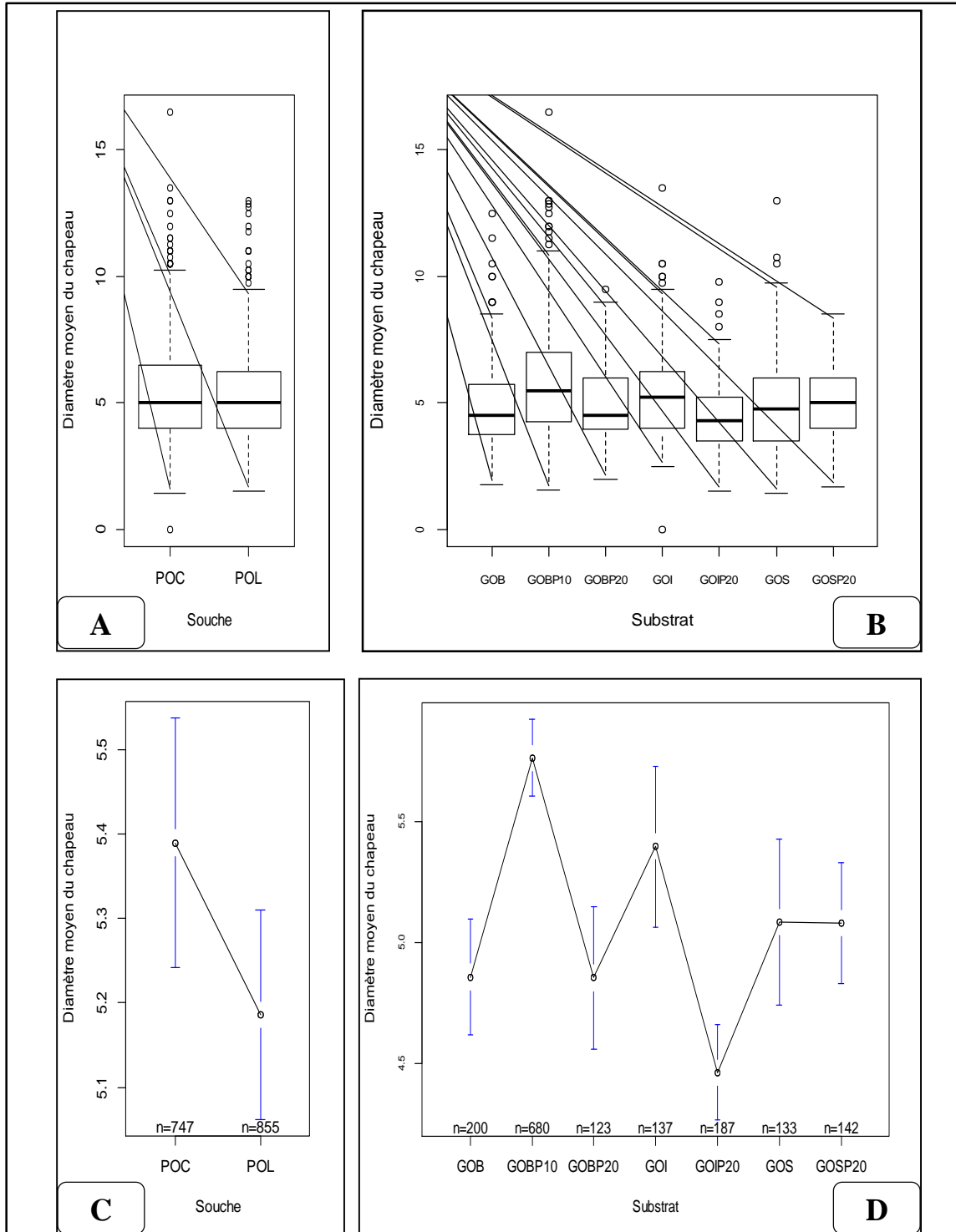


Figure 67 : Diamètre moyen des carpophores des souches de pleurote POC et POL en fonction des substrats.

Boîte de dispersion pour le facteur souche de pleurote (A); boîte de dispersion du diamètre moyen des carpophore des souches de pleurotes en fonction des substrat de culture (B); Moyennes et écart-standard entre les souche (C) et entre les substrats (D).

Tableau 29: Analyse statistique de Kruskal & Walis pour la variable diamètre moyen du chapeau des carpophores des deux souches de pleurotes développés sur les 7 substrats

Diamètre moyen du chapeau				
Facteur	ddl	chi-carré	P-value	Résultat
Souche	1	2,5017	0,1137	
Substrat	6	92,264	2,20E-16	**

Tableau 30: Résultats du test de Dunn appliqué aux diamètres moyens des carpophores de POC et POL récoltés sur les 7 substrats testés

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis			
Comparisons	obs.dif	critical.dif	difference
GOB-GOBP10	218,43	113,05	TRUE
GOB-GOBP20	17,82	161,04	FALSE
GOB-GOI	143,98	155,86	FALSE
GOB-GOIP20	91,69	142,96	FALSE
GOB-GOS	50,21	157,25	FALSE
GOB-GOSP20	100,33	154,23	FALSE
GOBP10-GOBP20	200,61	137,71	TRUE
GOBP10-GOI	74,45	131,61	FALSE
GOBP10-GOIP20	310,13	116,05	TRUE
GOBP10-GOS	168,22	133,25	TRUE
GOBP10-GOSP20	118,1	129,67	FALSE
GOBP20-GOI	126,16	174,57	FALSE
GOBP20-GOIP20	109,52	163,16	FALSE
GOBP20-GOS	32,39	175,81	FALSE
GOBP20-GOSP20	82,51	173,11	FALSE
GOI-GOIP20	235,68	158,05	TRUE
GOI-GOS	93,78	171,08	FALSE
GOI-GOSP20	43,66	168,31	FALSE
GOIP20-GOS	141,9	159,42	FALSE
GOIP20-GOSP20	192,02	156,44	TRUE
GOS-GOSP20	50,12	169,59	FALSE

4.4.1.3- Longueur et largeur des pieds des carpophores

Concernant les deux variables longueur et largeur des pieds des champignons formés, les valeurs calculées et les résultats des analyses statistiques ont été regroupées dans les figures 68 et 69 et dans les tableaux 26, 31 et 32.

Concernant la longueur des pieds des carpophores, l'analyse statistique de Kruskal & Wallis a mis en évidence (tab.31) une différence hautement significative entre les deux souches de pleurote POC et POL. Les pieds des carpophores de la souche commerciale sont plus longs que ceux de la souche locale de pleurote. Il existe également une différence hautement significative en fonction des substrats. C'est sur GOI que les pieds des carpophores sont les plus longs (~3,75 cm en moyenne) puis sur GOS (~3,20 cm).

Sur les autres substrats, les pieds des carpophores ne présentent pas de différence de longueur.

Concernant la largeur des pieds des carpophores, c'est sur GOBP10 et GOI que les carpophores ont présenté les pieds les plus larges de l'ordre de 1,1 cm sur GOBP10 et 0,95 cm sur GOI. Le test de Dunn ne révèle pas de différence sur ces substrats pour cette variable.

Il n'y a pas de différence entre la largeur des pieds des carpophores qui ont poussé sur les substrats supplémentés par 20% de paille de blé et le grignon d'olive seul.

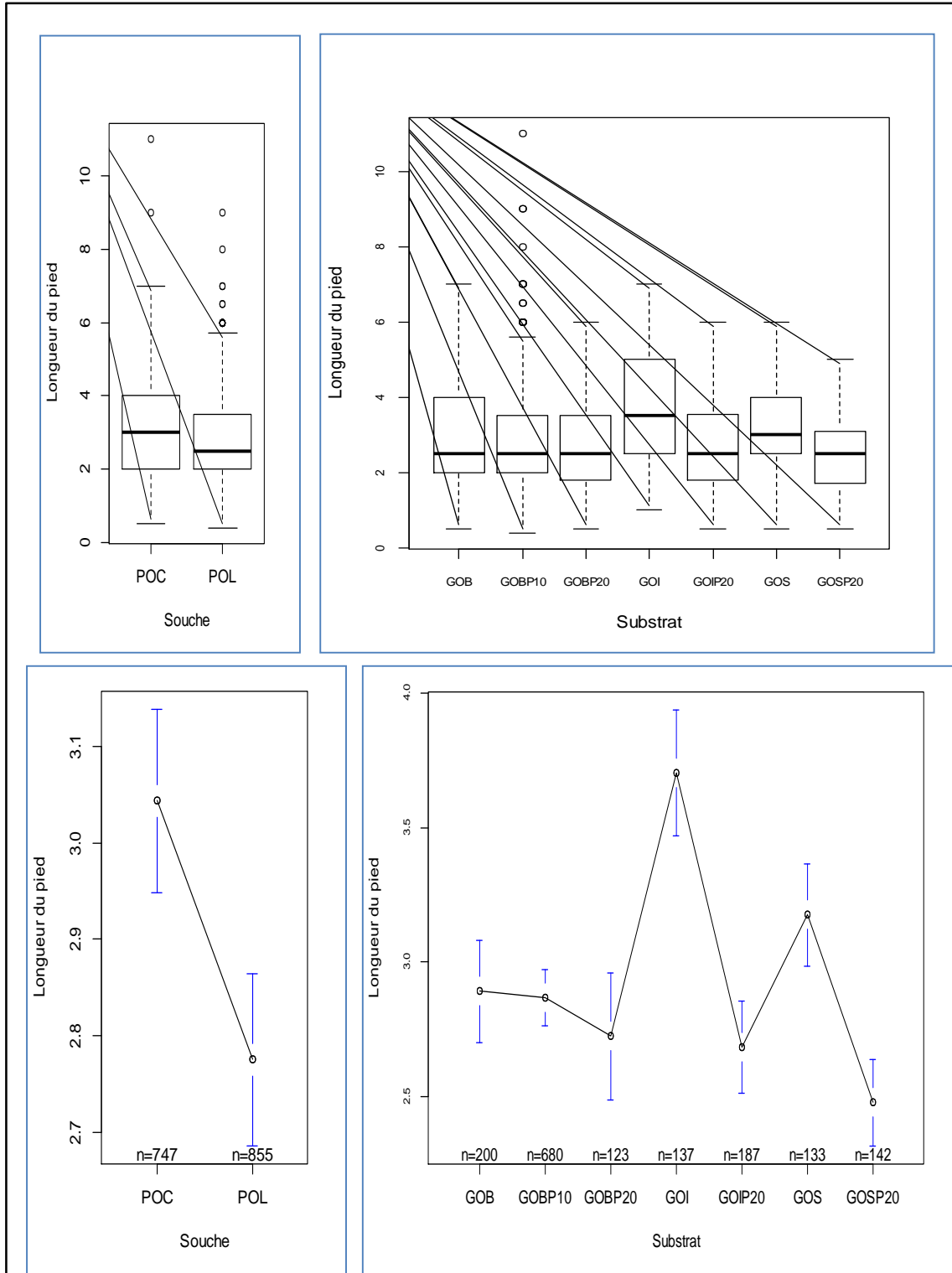


Figure 68: Boîtes de dispersion de la longueur des pieds des carpophores des souches de pleurote POC et POL en fonction des substrats de culture et valeurs moyennes et leurs écarts standards

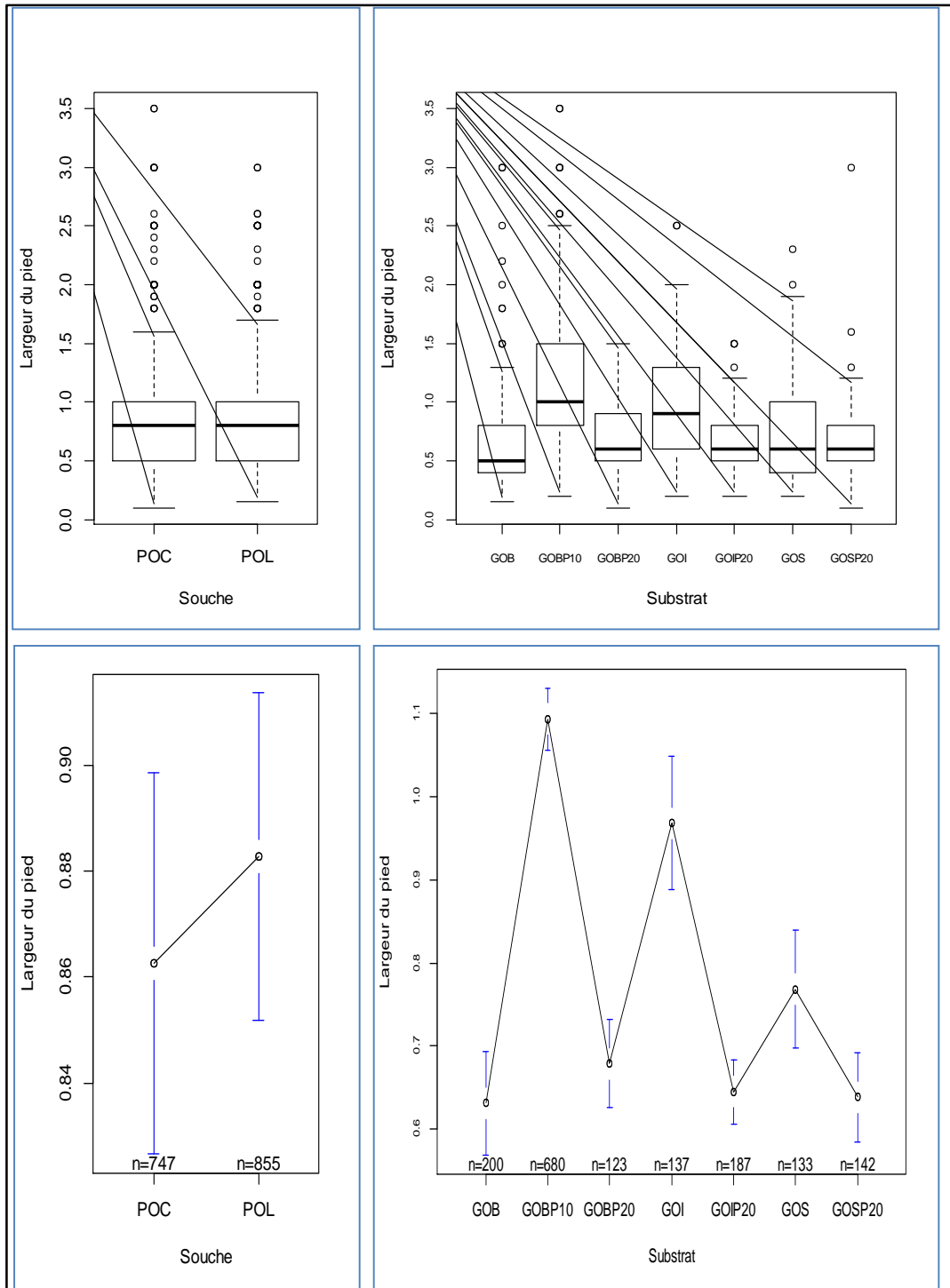


Figure 69: Boîtes de dispersion de la variable largeur des pieds des carpophores des deux souches de pleurotes POC et POL en fonction des substrats de culture et valeurs moyennes et leurs écarts standards

Tableau 31: Resultats du tes de Kuskal & Walis pour les deux variables longueur et largeur des pieds des carpophores des deux souches de pleurote POC et POL sur les substrats de culture testés

Longueur du pied				
Facteur	ddl	chi-squared	P-value	Résults
Souche	1	18,602	1,61E-05	**
Substrat	6	70,996	2,55E-13	**
Largeur du pied				
Facteur	ddl	chi-squared	P-value	Résultat
Souche	1	3,112	0,07769	
Substrat	6	369,658	2,20E-16	**

Tableau 32: Test de Dunn pour la variable longueur des pieds des carpophores

Longueur du pied			
Multiple comparison test after Kruskal-Wallis			
Substrat	Obs.dif	Critical.dif	Difference
GOB-GOBP10	15,99	113,05	FALSE
GOB-GOBP20	50,29	161,04	FALSE
GOB-GOI	268,19	155,86	TRUE
GOB-GOIP20	44,54	142,96	FALSE
GOB-GOS	127,09	157,25	FALSE
GOB-GOSP20	125,73	154,23	FALSE
GOBP10-GOBP20	34,29	137,71	FALSE
GOBP10-GOI	284,19	131,61	TRUE
GOBP10-GOIP20	28,54	116,05	FALSE
GOBP10-GOS	143,08	133,25	TRUE
GOBP10-GOSP20	109,74	129,67	FALSE
GOBP20-GOI	318,48	174,57	TRUE
GOBP20-GOIP20	5,75	163,16	FALSE
GOBP20-GOS	177,37	175,81	TRUE
GOBP20-GOSP20	75,44	173,11	FALSE
GOI-GOIP20	312,73	158,05	TRUE
GOI-GOS	141,11	171,08	FALSE
GOI-GOSP20	393,93	168,31	TRUE
GOIP20-GOS	171,62	159,42	TRUE
GOIP20-GOSP20	81,20	156,44	FALSE
GOS-GOSP20	252,82	169,59	TRUE

Tableau 33: Test de Dunn pour la variable largeur des pieds des carpophores

Largeur du pied			
Multiple comparison test after Kruskal-Wallis			
Substrat	obs.dif	critical.dif	difference
GOB-GOBP10	521,03	113,05	TRUE
GOB-GOBP20	100,35	161,04	FALSE
GOB-GOI	394,38	155,86	TRUE
GOB-GOIP20	67,82	142,96	FALSE
GOB-GOS	196,36	157,25	TRUE
GOB-GOSP20	50,00	154,23	FALSE
GOBP10-GOBP20	420,69	137,71	TRUE
GOBP10-GOI	126,65	131,61	FALSE
GOBP10-GOIP20	453,21	116,05	TRUE
GOBP10-GOS	324,67	133,25	TRUE
GOBP10-GOSP20	471,04	129,67	TRUE
GOBP20-GOI	294,03	174,57	TRUE
GOBP20-GOIP20	32,52	163,16	FALSE
GOBP20-GOS	96,01	175,81	FALSE
GOBP20-GOSP20	50,35	173,11	FALSE
GOI-GOIP20	326,56	158,05	TRUE
GOI-GOS	198,02	171,08	TRUE
GOI-GOSP20	344,39	168,31	TRUE
GOIP20-GOS	128,54	159,42	FALSE
GOIP20-GOSP20	7,83	156,44	FALSE
GOS-GOSP20	146,37	169,59	FALSE

4.4.2- Efficacité biologique des deux souches de pleurote

Après 21 à 30 jours en phase végétative des mycélia des souches de pleurote POC et POL (fig.70-A) et après, en moyenne, 5 à 7 jours de latence, les primordia se sont formés. Deux à quatre jours sont nécessaires pour le développement et la maturation des carpophores (fig.70-A à H). La récolte a duré au maximum cinq semaines.

Les carpophores se sont développés soit en touffes formées par un nombre de carpophores variable (2 à 4, voir à plus de 10 champignons) (fig.71). Quand ils sont en touffes latérales, les carpophores prennent généralement la forme d'un éventail ou d'une spatule, avec un pied relativement court et latéral; quand ils poussent seuls, le chapeau prend la forme d'un entonnoir au-dessus d'un pied presque central (fig.70-B).

Les champignons sont d'un blanc ivoire à blanc-crèmeux voir blanc-grisâtre (fig.70 et 71)

Les champignons ont été ramassés, de préférence, avant déroulement complet du bord des chapeaux (fig.70-F). Les carpophores ont été pesés et les rendements en carpophores (g champignon/kg substrat frais) ainsi que l'efficacité (ou efficacité) biologique (en pourcentage) ont été estimés (tab. 34).

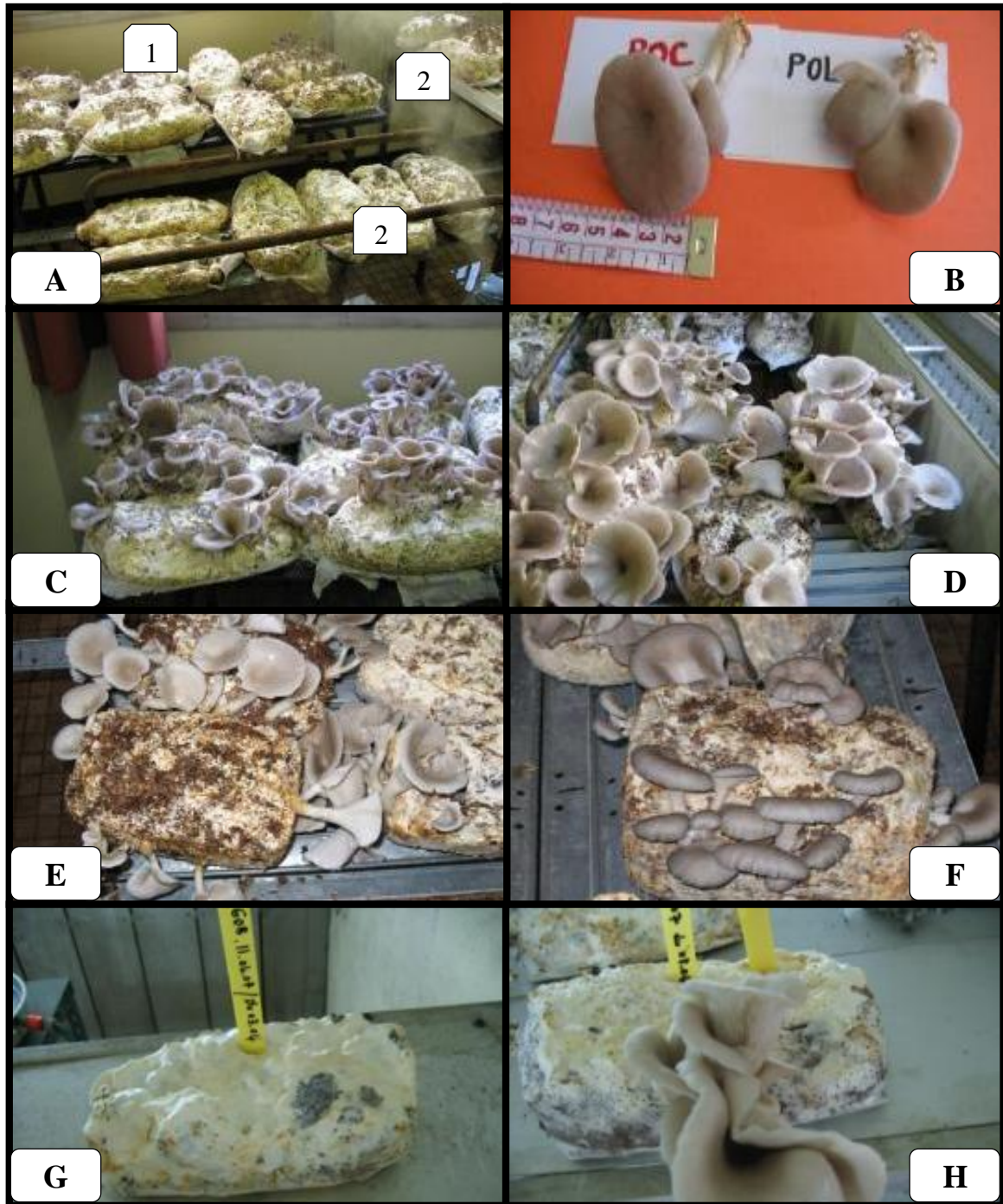
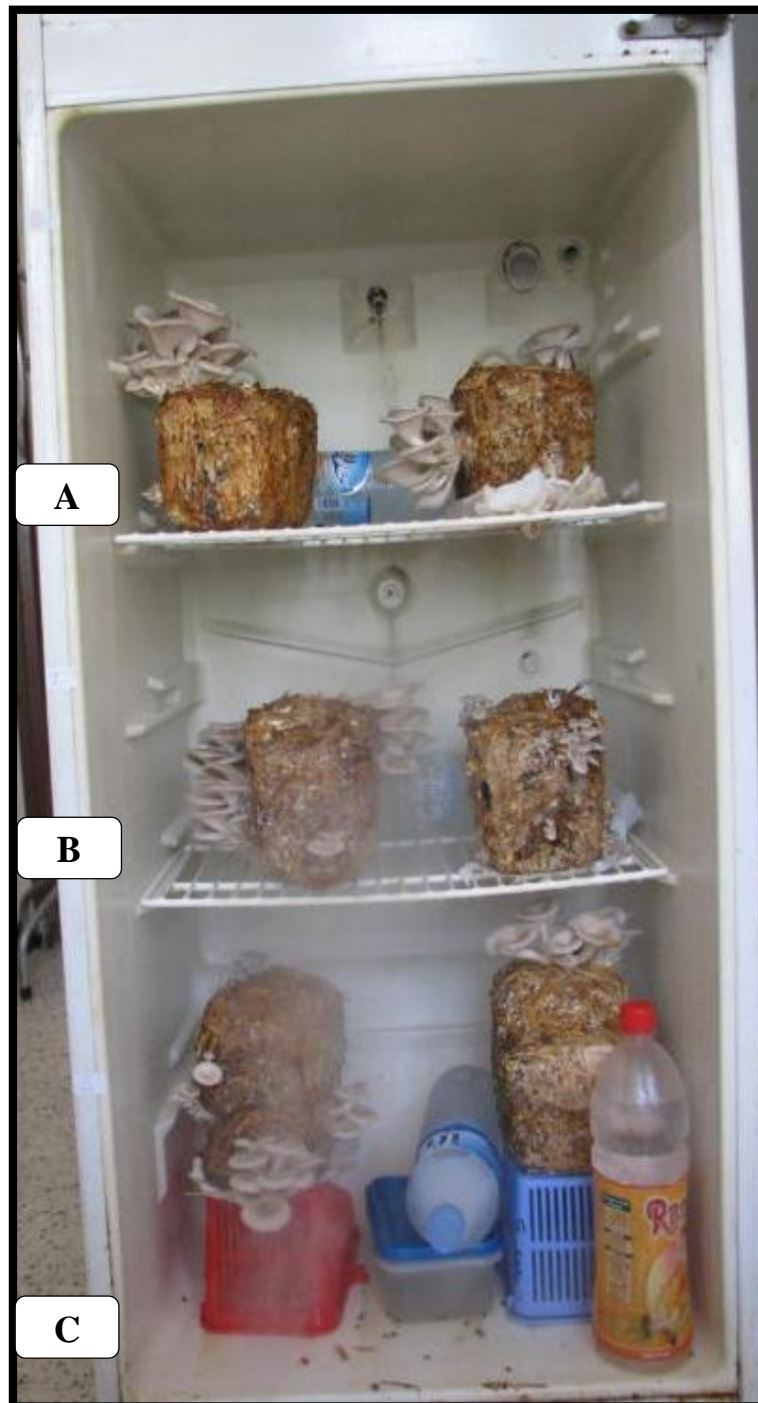


Figure 70: Culture de des deux souches de Pleurote sur grignon d'olive supplémenté ou non par 10% de paille de blé.

Blocs de culture de POC (A1) et POL (A2) sur GOBP10. Fructification de POC (C) sur GOBP10 et celles de POL (D) sur GOBP10. Fructifications de POC sur GOB avec bords déroulés (E) et fructification de POL à bords encore enroulés formés sur GOB (F); carpophore de POC en forme d'entonnoire avec pied légèrement excentré et celui de POL en forme d'éventail avec pied latéral (G), ((E), (F) et (G), source ; Mansour-Benamar et al, 2013)

Culture de POL sur grignon d'olive +10% de son de blé +1% carbonate de calcium (G et H).



**Figure 71: Culture des deux souches de pleurote
POC (à gauche) et POL (à droite) sur GOBP20 (A), GOIP20 (B) et GOSP20 (C)**

Tableau 34: Nombre de carpophores formés, des rendements en carpophores par kilogramme de substrat frais et des efficacités biologiques des deux souches de pleurote (\pm écarts types).

Souche	Substrat	Nb carp/ kg SF	FM Nb carp sur GO-Paille	Rdt moy (g carp/kg SF)	EB(%)
POC	GOB	9		80,36 \pm 63,21	17,75 \pm 13,95
	GOI	9		85,61 \pm 54,39	21,45 \pm 13,63
	GOS	5		52,48 \pm 39,21	8,20 \pm 6,13
	GOBP10	14	1,5	248,71 \pm 71,03	66,04 \pm 18,86
	GOBP20	27	3	271,29 \pm 45,41	78,32 \pm 13,11
	GOIP20	35	4	292,29 \pm 177,49	80,34 \pm 48,79
	GOSP20	18	3,5	145,30 \pm 22,67	30,18 \pm 4,71
Total		117		1176,03	
POL	GOB	11		72,44 \pm 25,84	15,98 \pm 5,70
	GOI	5		72,60 \pm 24,06	18,19 \pm 6,03
	GOS	10		80,14 \pm 32,45	12,52 \pm 5,07
	GOBP10	20	2	275,92 \pm 130,37	73,27 \pm 34,62
	GOBP20	14	1,25	124,23 \pm 36,63	35,86 \pm 10,58
	GOIP20	27	5,5	114,23 \pm 48,41	31,40 \pm 13,31
	GOSP20	29	3	219,91 \pm 29,32	45,67 \pm 6,09
Total		116		959,47	

Nb : Nombre ; carp : carpophores ; kg : kilogramme ; SF : Substrat frais ; FM : facteur de multiplication ; GO : grignon d'olive ; Rdt : rendement ; moy : moyen ; EB : Efficacité biologique.

Globalement l'addition de la paille dans le grignon d'olive et ses deux fractions a permis d'améliorer les rendements pour les deux souches de pleurotes, la commerciale et la locale. Elle a permis une augmentation du nombre de carpophores produits en les multipliant, pour la souche locale, respectivement par 1,25 fois sur GOBP10 par rapport au nombre obtenu dans GOB, et 5,5 fois sur GOIP20 par rapport à GOI (tab.34).

La boîte de dispersion de la variable efficacité biologique c'est-à-dire de l'efficacité des deux souches de pleurote POC et POL, à transformer le substrat de culture en carpophores de pleurote, a permis de trier les valeurs obtenues puis de les soumettre au test de Kruskal & Walis. Les résultats sont présentés dans le tableau 35.

La figure 72 permet de visualiser la dispersion des valeurs des EB sur les 7 substrats testés.

Le test a révélé que les deux souches de pleurote en huître se comportent de la même façon sur les différents substrats mais que leurs efficacités biologiques diffèrent, d'une manière très hautement significative, d'un substrat à un autre (tab.35). Ces différences ont été précisées grâce au test de Dunn (tab.36).

La comparaison des EB obtenues sur les 7 substrats deux à deux (tab.36) a bien mis en relief les différences de rendements en carpophores qui existent entre les grignons supplémentés par la paille et ceux qui en sont dépourvus. Les différences existent entre GOBP10 et GOB, GOBP10 et GOI, GOBP10 et GOS; GOBP20 et GOS et GOIP20 et GOS.

En effet les EB de POC et POL sont faibles sur le grignon d'olive et ses deux fractions GOI et GOS non supplémentés par la paille. Malgré une absence de différence significative entre ces trois formes de grignon d'olive, c'est dans GOS que les efficacités biologiques les plus faibles ont été obtenues (tab.35, fig. 72).

Les efficacités biologiques les plus élevées ont été obtenues avec GOBP10, GOBP20, GOIP20 et en dernier GOSP20. Sur GOBP les valeurs sont plus homogènes avec une tendance à des EB plus élevées alors que sur GOIP20 et GOBP20 les valeurs sont plus dispersées d'où des écarts standards grands (fig.72D), avec une tendance vers des EB plus basses.

Tableau 35: Résultats de l'ANOVA de Kruskal & Walis pour l'efficacité biologique des deux espèces de pleurote POC et POL sur les sept substrats testés

Facteur	Ddl	chi-squared	P-value	Résultat
Souche	1	0,2172	0,6412	
Substrat	6	48,4653	9,54E-09	***
* sign, ** H sign, *** TH sign				

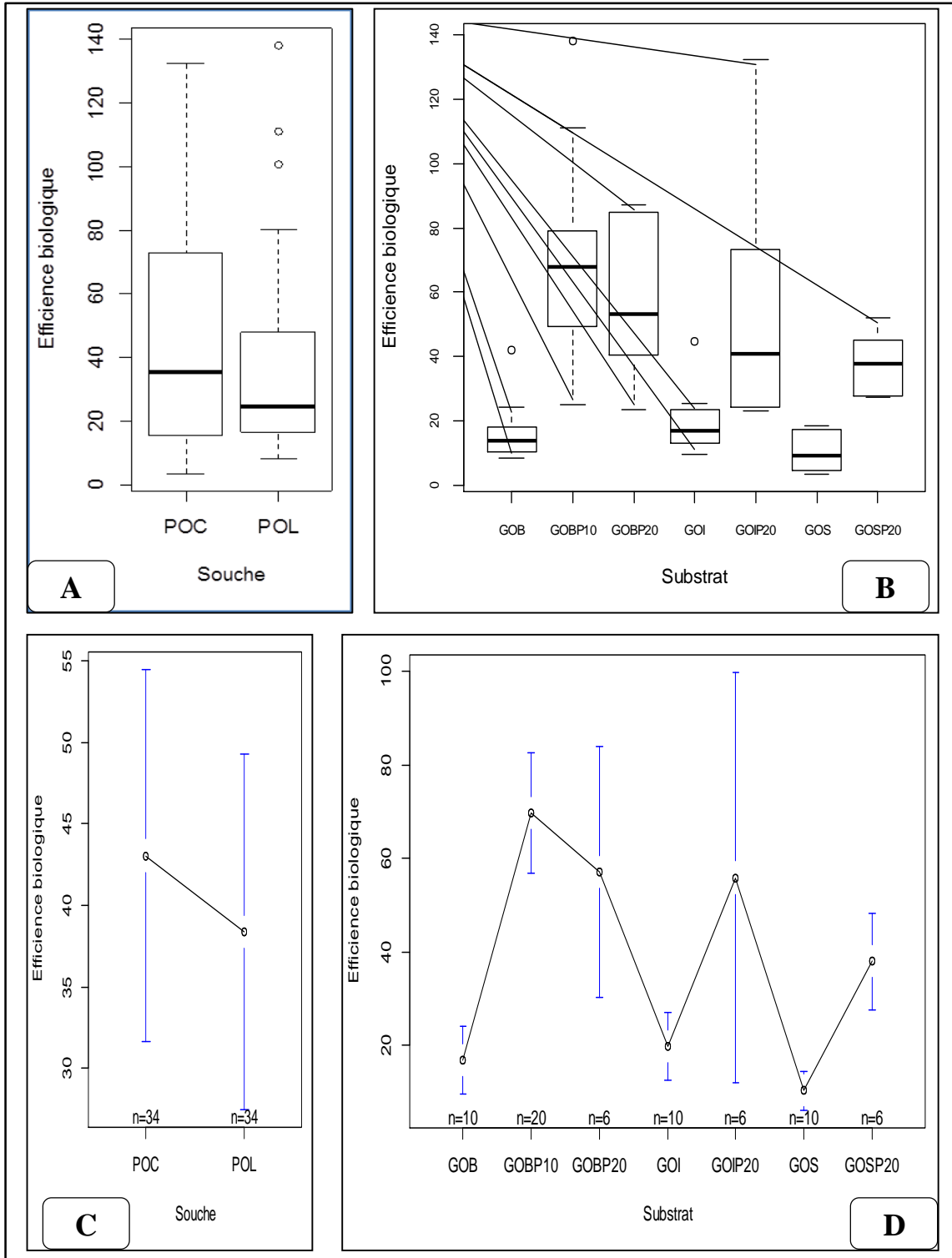


Figure 72: Boîte de dispersion de la variable efficacité biologique et écart standard des EB de POC et POL sur les différents substrats.

Dispersion des valeurs de l'efficacité biologique de POC et POL(A); EB des souches de pleurote en fonction des substrats de culture (B); Moyennes et écarts types des EB des souches de pleurote POC et POL(C) et en fonction des substrats de culture (D).

Tableau 36: Test de Dun pour la variable efficacité biologique

Multiple comparison test after Kruskal-Wallis			
Comparisons	obs.dif	critical.dif	difference
GOB-GOBP10	35,50	23,27	TRUE
GOB-GOBP20	29,97	31,02	FALSE
GOB-GOI	4,30	26,87	FALSE
GOB-GOIP20	25,80	31,02	FALSE
GOB-GOS	7,50	26,87	FALSE
GOB-GOSP20	21,63	31,02	FALSE
GOBP10-GOBP20	5,53	27,96	FALSE
GOBP10-GOI	31,20	23,27	TRUE
GOBP10-GOIP20	9,70	27,96	FALSE
GOBP10-GOS	43,00	23,27	TRUE
GOBP10-GOSP20	13,87	27,96	FALSE
GOBP20-GOI	25,67	31,02	FALSE
GOBP20-GOIP20	4,17	34,68	FALSE
GOBP20-GOS	37,47	31,02	TRUE
GOBP20-GOSP20	8,33	34,68	FALSE
GOI-GOIP20	21,50	31,02	FALSE
GOI-GOS	11,80	26,87	FALSE
GOI-GOSP20	17,33	31,02	FALSE
GOIP20-GOS	33,30	31,02	TRUE
GOIP20-GOSP20	4,17	34,68	FALSE
GOS-GOSP20	29,13	31,02	FALSE

5- VALORISATION DU MARC DE CAFE PAR LA CULTURE DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE POC ET POL

La valorisation du marc de café est présentée sous forme d'un article publié en 2007 dans la revue Sciences, Technologies & Développement de l'Agence Nationale pour le Développement de la Recherche Universitaire (ANDRU), Algérie.

M. Mansour-Benamar, J.-M. Savoie, L. Chavant et R. Lebsir, 2007. Valorisation du marc de café brut par la culture d'une souche locale de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fries) Kummer. Sciences, Technologies & Développement, ANDRU, (2) 102-116.

La technique de culture est la même que sur grignon d'olive. Seul change le substrat.

VALORISATION DU MARC DE CAFE BRUT
PAR LA CULTURE D'UNE SOUCHE LOCALE DE
CHAMPIGNON COMESTIBLE :

Pleurotus ostreatus

M. MANSOUR – BENAMAR*, J.-M. SAVOIE**, L. CHAVANT***, R. LEBSIR****

* Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux et des Denrées Stockées, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Université M. MAMMERY de Tizi-Ouzou. Algérie.

** Unité Propre de Recherche de Mycologie et Sécurité des Aliments. Institut National de la Recherche Agronomique. Bordeaux Aquitaine. France.

*** Faculté de Pharmacie, Université Paul Sabatier de Toulouse, France

**** Laboratoire d'Analyses Médicales, Nelle Ville Tizi-Ouzou, Algérie

Tél. /fax: 00 213 26 21 68 19

Email: mansour_benamar@yahoo.fr

VALORISATION DU MARC DE CAFE BRUT
PAR LA CULTURE D'UNE SOUCHE LOCALE DE
CHAMPIGNON COMESTIBLE :

Pleurotus ostreatus

RESUME : L'Algérie importe des quantités importantes de café et les paye à prix fort. Pour la wilaya de Tizi-Ouzou seule, la Direction Commerciale a estimé, pour l'année 1994, à 3 285 tonnes la consommation de café. Sachant que le marc de café représente les 3/5^e du café vert, 196 tonnes de ce résidu ont été gaspillées. Il serait judicieux d'en faire un produit à valeur ajoutée. Une voie de valorisation intéressante pour un pays comme l'Algérie où la démographie et les besoins en protéines sont croissants est sa transformation en champignons comestibles. Nous avons isolé une souche locale (Tizi-Ouzou, Algérie) de Pleurote en huître (*Pleurotus ostreatus*) à partir de son hôte, le Ricin. Nous avons suivi sa croissance sur milieux PDA et Oddoux. Avec le mycélium obtenu, nous avons inoculé du marc de café brut, pasteurisé. Ce dernier provient de collectes quotidiennes dans des cafés publics à Tizi-Ouzou. La technique de culture choisie est la culture en sacs. L'incubation se fait à 25 - 28°C alors que la fructification se fait à une température de 20°C associée à une humidité de 70-80%. Afin de vérifier les potentialités de cette souche, nous l'avons étudié comparativement à une souche commerciale de référence. Les deux souches colonisent le marc et produisent des carpophores, cependant, la souche commerciale est plus productive que la souche locale. Cette étude montre la faisabilité de la valorisation du marc de café pour la production d'une denrée pour l'alimentation humaine.

Mots clés : Champignons comestibles, Marc de café, *Pleurotus ostreatus*, Valorisation

VALORIZATION OF RAW COFFEE-GROUNDS
BY CULTIVATION OF AN EDIBLE MUSHROOM:

A Pleurotus ostreatus LOCAL STRAIN

ABSTRACT: Algeria import large amount of coffee tonnages with high prices. The consumption of coffee by the wilaya of Tizi-Ouzou has been estimated by the Trade Department around 3285 tons for 1994. Knowing that coffee-grounds represents 3/5 th of green coffee, 196 tons of this residue were therefore squandered and thrown in nature. It would be judicious to use it as a valuable product. A very interesting way of valorisation, in a country like Algeria where demography and needs for proteins are continuously increasing, is its processing into edible mushrooms such as *Pleurotus ostreatus*. With this objective, a local strain (Tizi-Ouzou, Algeria) was isolated from its natural host, castor oil plant. Its mycelial growth rate was evaluated on PDA medium and Oddoux medium. Coffe-ground was daily collected in public cafes of Tizi-Ouzou. It was pasteurised and inoculated with *P. ostreatus*. The chosen method is cultivation in bags. The incubation was performed at 25°-28°C whereas the fructification was at 20° C with 70-80% of moisture. In order to check the potentialities of this local wild strain, it was compared with a commercial cultivar. The two strains' mycelial are able to develop on coffee-ground and produce fructifications, with a lower yield with the local stain. This study demonstrates that it is possible to valorize the coffee-ground and to produce a human food.

Key words: coffee-grounds, edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*, valorisation

تقييم " تلوّة" القهوة بواسطة زرع سلالة

Pleurotus ostreatus

الجزائر تستورد كميات كبيرة (أطنان) من القهوة التي تدفعها بأثمان باهظة لولاية تيزي وزو وحدها مديرية التجارة قدرت لسنة 1994 بتقييم تلوّة 3285 طن من استهلاك القهوة. المعطيات الحديثة والدقيقة ليست متوفرة لسبب الاستيرادات التي تتم من طرف التجار الخواص علما أن " تلوّة" القهوة تمثل

3/5 من القهوة الخضراء. 196 طن ما يتبقى يتم تبذيره وتركه للطبيعة الذي يمكن أن يكون مصدرا للتلوث. من الضروري تقييم هذه المادة لبلد مثل الجزائر. أين الديموغرافية والاحتياجات للبروتينات ضمن المتطلبات المتزايدة والسبيل لذلك في تغييرها بفطريات مستهلكة في وسط غذائي.

جيلوزي. وسطبت التقييم نمو *Pleurotus ostreatus* لقد قمنا بعزل سلالة محلية (تيزي وزو. الجزائر) من وسطه الطبيعي. المسليوم في علب بتري و كذلك تضاعفه الذي نتج عن نقله إلى حبات الشعير لتحصل على ابيض المسليوم (انوكلوم). ابيض المسليوم الناتج مزروع في

تلوّة القهوة التي تم جمعها في المقاهي الشعبية فتم تشفيفها نسبة الزرع هي 5%.

التقنية المختارة هي زرع في أكياس بلاستيكية معقمة – فترة النمو للميسيتيوم تكون في 25-28 درجة لكن إنتاج الثمرات

في درجة حرارة 20 مع رطوبة تقدر % 70.

INTRODUCTION :

La culture des Pleurotes (*Pleurotus* spp.), qui initialement était limitée aux pays asiatiques en particulier la Chine, occupe actuellement la 3^{ème} place parmi les champignons comestibles cultivés à l'échelle mondiale, après le champignon de couche et le shii-take (Courvoisier, 1993; Chang, 1999). En Algérie cette culture est encore méconnue. La culture industrielle des pleurotes s'est développée grâce à l'utilisation de substrats constitués de déchets lignocellulosiques non fermentés et à la sélection de souches de plus en plus performantes (Fourré, 1990). Parmi les nombreux substrats pouvant être utilisés par les Pleurotes qui sont des champignons lignicoles de la pourriture blanche, les résidus agricoles présentent l'avantage d'être à la fois abondants et théoriquement inépuisables (Raimbault, 1981). Les substrats testés à travers le monde, que ce soit dans un but alimentaire humain ou animal ou pour la productions d'enzymes, sont nombreux et divers et sont utilisés séparément ou en mélanges : pailles de céréales essentiellement la paille de blé, fréquemment utilisée comme substrat de base (Delmas, 1989 ; Laborde & Delmas, 1974; Olivier *et al*, 1991; Savoie *et al*, 1995; Chalaux *et al*, 1995; Zervakis *et al*, 2001), déchets de coton (Ardon *et al*, 1996), bagasse de canne à sucre (Mata & Salmones, 2003); pulpe de café (Velazquez - Cedeño *et al*, 2002; Mata & Salmones, 2003, Velazquez – Cedeño, 2005), coque de café (Fan *et al*, 2003), résidus de thé (Dogan & Peksen, 2003), rafles de maïs, sciure de bois, paille de riz (Oei, 1993, Nguyen Thi Nguyet, 2001).

Le pleurote est un champignon saprophyte très compétitif s'implantant facilement sur un substrat rudimentaire, ce qui permet aux amateurs d'en envisager la culture à peu de frais (Fourré, 1990). Cette compétitivité est liée à la libération par les cellules du mycélium d'enzymes capables de s'attaquer à des molécules aussi complexes que la cellulose ou la lignine, d'où son nom de champignon décomposeur primaire ou champignon lignocellulolytique (Durrieu, 1993; Velazquez-Cedeño *et al*, 2002).

L'Algérie importe des quantités importantes de café. Pour la wilaya de Tizi-Ouzou seule, la Direction Commerciale a estimé, pour l'année 1994, à 3 285 tonnes, la consommation de café. Sachant que le marc de café représente les 3/5^e du café vert (Barbera, 1965), 196 tonnes de ce résidu ont été donc gaspillées et jetées dans la nature alors qu'elles pourraient être valorisées. Le marc de café est composé de 23.3 % de lignine et 22.47 % d'amidon (Cruz, 1983) et de 6 à 15 % d'azote protéique, 4 à 11 % de matières grasses, 2 à 15 % de cendre et 0,7 à 2 % de caféine (Garatini, 1971). Une voie de valorisation intéressante

pour l'Algérie où la démographie et les besoins en protéines sont croissants est sa transformation en champignons comestibles du genre *Pleurotus*.

L'objectif de ce travail était de démontrer la faisabilité de la valorisation du marc de café par la culture des Pleurotes et de tester les potentialités d'une souche locale de *Pleurotus ostreatus* qui pourrait se révéler mieux adaptée aux conditions de culture de l'Algérie que les souches développées pour la culture dans des régions tempérées.

MATERIEL ET METHODES :

Souches de Pleurote utilisées :

Souche locale de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kummer: POL, que nous avons isolé à Oued-Aissi, petit village situé à 12 km à l'Est du chef lieu de la willaya de Tizi-Ouzou (Algérie), en Novembre 1993 à partir d'un carpophore issu d'une touffe qui a poussé sur une souche de ricin (*Ricinus communis* L.) abattu en février de la même année (photo 1). Elle est conservée sur son milieu d'isolement le milieu P.D.A (Pomme de terre – Dextrose – Agar).

Souche commerciale de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kummer : POC, provenant de la Société Royal Champignon (France) et mise à notre disposition par le Laboratoire de Cryptogamie de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, en juillet 1993, sous forme de culture mycélienne sur milieu gélosé vitaminé.

Evaluation de la croissance mycélienne sur milieux de culture gélosés :

Des cultures sur milieu semi synthétique standard, P.D.A., et sur milieu synthétique Oddoux (10g agar, 16,50g glucose, 3,50g extrait de malt, 0,50g hydrolysate de caséine, 0,35g KH_2PO_4 , 0,25g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,35g tartrate d'ammonium neutre, 0,25g MnSO_4 , q.s.p. 11 d'eau distillée) en boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre contenant chacune 20 ml de milieu, ont été réalisées à l'aide d'implants de 0,6 cm de diamètre pour évaluer la capacité de POL à se développer sur milieux gélosés. Ces implants proviennent du mycélium obtenu après un deuxième repiquage des souches sur milieux P.D.A et Oddoux. Cette croissance mycélienne est suivie pendant 20 jours d'incubation à 25°C et est exprimée par une valeur moyenne calculée à partir de deux mesures effectuées selon deux diamètres perpendiculaires. La comparaison entre les deux souches a été faite après 10 jours d'incubation et sur 10 répétitions.

Préparation du blanc de semence ou blanc d'inoculum:

La technique utilisée est celle de Pacioni (1987) : 100 g d'orge lavés et séchés à l'air libre sont versés dans un sachet en polypropylène puis humidifiés avec 100 ml d'eau additionnée de 1 à 3 ml d'une solution tampon composée de 2% de carbonate de calcium et 8% de gypse. Après stérilisation à 120°C pendant 1h30min et refroidissement, l'orge est inoculée avec la moitié du mycélium âgé de 14 jours développé dans une boîte de PDA. L'incubation se fait à 25°C. Dix (10) répétitions par souche sont réalisées.

Préparation du substrat de culture, le marc de café :

Le marc de café provient de récoltes effectuées pendant 20 jours dans quelques cafés publics de Tizi-Ouzou. Le marc de café utilisé est généralement composé à 20% de café *Arabica* et 80% de *Robusta*. Il est séché à 60°C pendant 24 h pour éviter toute contamination. Il est ensuite conditionné en lots de 2kg dans des sachets plastiques jusqu'à son utilisation. Chaque lot est humidifié avec de l'eau de robinet à raison de 1300 à 1500 ml /kg de marc (photos 2 et 3). Son pH est de 5,5. Le marc est ensuite pasteurisé à la vapeur d'eau dans un couscoussier pendant une heure (photo 4). Le lendemain, l'opération de pasteurisation est renouvelée dans les mêmes conditions. Le marc encore chaud est transvasé dans des sacs plastiques fermés soigneusement.

Après refroidissement, il estensemencé, aseptiquement devant deux becs benzène allumés, avec le blanc de semence (photos 6 et 7) obtenu précédemment à raison de 5% (poids/poids). L'incubation (photo 5) se fait dans une salle isolée où la température varie entre 25 et 28°C et où l'humidité ambiante est d'environ 70%. Dix sacs sontensemencés pour chacune des souches. A la fin d'incubation (photos 8 et 9), pour favoriser la fructification et la maturation des carpophores, dès l'apparition des premiers primordia (ébauches de carpophores), les conditions climatiques de la salle de culture sont modifiées car la fructification exige des températures plus basses que celles de la croissance mycélienne. La salle de culture est humidifiée et rafraîchie quotidiennement à l'aide d'eau glacée (4°C) et par dépôt de blocs de glace (photo 10) que nous laissons fondre à proximité des blocs de culture formé par le mycélium développé. La température a été maintenue ainsi à 20°C et l'humidité ambiante entre 75 et 80%. Les sacs présentant des contaminations au cours de l'incubation sont éliminés et les rendements sont calculés à partir du nombre de sacs réellement mis en production. La récolte des carpophores est faite manuellement.

RESULTATS :

Evaluation de la croissance mycélienne sur milieux de culture gélosés:

La croissance mycélienne des deux souches de *P. ostreatus*, POC et POL, sur milieu PDA a démarrée dès le 2^{ème} jour d'incubation. Treize jours sont nécessaires à un envahissement complet de la surface du milieu de culture. Le mycélium obtenu pour les deux souches est sous forme de filaments d'aspect dense, vigoureux et de couleur blanche. Sur le milieu Oddoux, POL croit de la même manière que POC, par contre sur le milieu P.D.A., POC présente une vitesse de croissance plus forte (fig.1): au 10^e jour d'incubation, le diamètre moyen des colonies développées par POC est significativement supérieur à celui de POL (Tab.1).

Préparation du blanc de semence:

La fabrication du blanc de semence a nécessité 3 à 4 semaines. Les deux souches ont présenté une bonne croissance mycélienne. L'humidification et la stérilisation utilisées ont permis une bonne hydratation des grains d'orge. Ces derniers sont bien enrobés de mycélium blanc d'aspect dense (photo 5 et 6).

Culture de POC et POL sur le marc de café:

Le tableau 2 regroupe les résultats obtenus au cours de la culture de POC et POL. L'incubation du marc de café ensemencé a duré 2 mois. Deux sacs de POL et 1 sac de POC sont éliminés pour des raisons de contamination par des moisissures du genre *Aspergillus* et *Penicillium*. La maturation des carpophores a nécessité trois à quatre jours. La face supérieure des chapeaux est de couleur brunâtre pour les deux souches, légèrement plus foncée chez la souche POL, et l'hyménium est blanc (photos 11 et 12). Le pied est plus développé que le chapeau ce qui indique un manque de lumière (Laborde & Delmas, 1974). Nous avons obtenus deux volées (pics de productions de champignons) espacées de 10 à 15 jours ; la première est nettement plus importante que la seconde (Tab. 2). Chez POL la masse maximale atteinte par certains carpophores est de 20 g alors que chez la souche POC elle est double (40 g) mais les masses moyennes des carpophores de POC et POL ne présentent pas de différence significative au risque α 5% du test de Student. La souche POC a produit plus de carpophores. Son rendement est significativement supérieur à celui de POL sur ce résidu (Tab.2). POC est donc plus performante que POL.

DISCUSSION :

Dans ce travail, nous avons pu montrer, pour la première fois, que le marc de café peut être utilisé pour produire un champignon comestible au lieu d'être jeté.

La culture de *Pleurotus ostreatus* sur le marc de café a pu être réalisée avec une technologie simple accessible à de nombreuses personnes. Cependant, les rendements obtenus sont encore trop faibles par rapport à ceux présentés dans d'autres travaux sur la culture des Pleurotes. Par exemple, Velazquez Cedeño *et al.* (2002) obtinrent environ 1250 g de champignon frais (*P. ostreatus*) par kg (sec) de pulpe de café, ce qui correspond aux rendements généralement observés dans les cultures commerciales. Des améliorations doivent donc encore être apportées pour optimiser la valorisation du marc de café par la production de champignon comestible. Parmi ces améliorations, l'incorporation de matières lignocellulosiques structurantes dans le substrat de culture est envisagée.

Avec le mode de culture utilisé, la limite principale est la disponibilité et le coût de l'inoculum. Bien que les rendements aient été meilleurs avec la souche commerciale, son utilisation est difficilement envisageable. Il est donc préférable de développer une souche locale qui pourra être produite et distribuée à moindre coût. L'isolat étudié ici a produit des champignons sur le marc de café brut, acide, et est potentiellement intéressant et disponible. Des tests pour évaluer ses activités enzymatiques et son efficacité de dégradation sont prévus. Nous envisageons d'augmenter ses potentialités par un programme d'hybridation avec d'autres souches. En effet, nous avons constaté que POL est toujours plus sensible que POC aux contaminations par les moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Par contre nous n'avons pas rencontré le genre *Trichoderma* qui est souvent signalé par de nombreux auteurs comme Olivier *et al.* (1991); Rosado *et al.* (2002); Velazquez Cedeño *et al.* (2002) et Velazquez Cedeño (2005). Il sera par ailleurs intéressant d'isoler de nouvelles souches algériennes.

Tab.1 : Diamètre moyen (cm) des colonies mycéliennes de POC et POL sur milieux PDA et Oddoux

Souches	Milieux de culture	
	PDA	ODDOUX
POC	7,31 ± 0,73 *A	5,64 ± 1,53 * B
POL	6,36 ± 0,85 *B	5,76 ± 1,78 *B

* moyenne ± écart type de 10 répétitions

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au risque α 5%, test de Student.

Tab. 2 : Résultats de la culture de POC et POL sur le marc de café brut

Caractère considéré	POC	POL
Temps d'incubation (jours)	60	60
Surface occupée par le mycélium à la fin d'incubation	Totalité	Totalité
Aspect du mycélium	Blanc, rhizomorphique	Blanc, rhizomorphique
Nombre de sacs contaminés	01	02
Nombre de sacs réellement mis en fructifications	09	08
Nombre moyen de carpophores par touffe	23	12
Nombre total de carpophores récoltés	760	393
masse moyenne des carpophores (g)	7,48	8,02
Rendement de la 1ère volée (g carpophores / sac de 2 kg de marc sec)	457,65 ± 158,22 A *	306,73 ± 215,53 B
Rendement de la 2ème volée (g carpophores / sac de 2kg de marc sec)	165,86 ± 61,11 A	86,81 ± 57,94 B
Rendement total (g de carpophores / souche / sac de 2 kg de marc sec)	623,51 ± 183,30 A	393,54 ± 188,00 B

* : moyennes des rendements avec écart type sur 9 sacs de culture pour POC et 8 sacs pour POL. Les moyennes suivies d'une même lettre sur une ligne ne sont pas significativement différentes au risque α 5%, test t de Student.

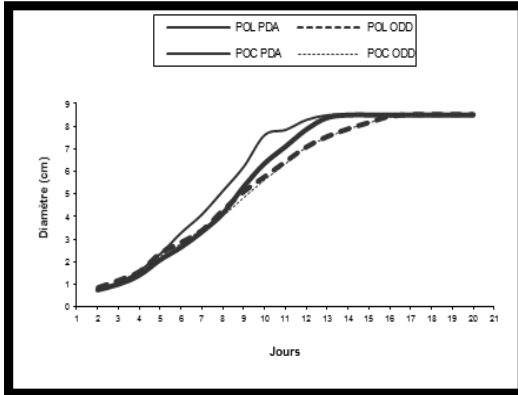


Fig. 1. Croissance mycélienne de POC et POL sur milieu PDA et Oddoux



Photo 1. *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fries) Kummer local (POL) sur son hôte



Photo 2. Marc de café sec



Photo 3. Marc de café humidifié



Photo 4. Couscoussier utilisé pour la pasteurisation.



Photo 5. Incubation des sacs de Culture.



Photo 6. Blanc de semence de POC sur orge.



Photo 7. Blanc de semence de POL sur orge.



Photo 8. Fin d'incubation : marc de café envahi par le mycelium de POC



Photo 9. Fin d'incubation : marc de café envahi par le mycelium de POL



Photo 10. Dispositif de mise en fructification



Photo 11. Fructification de la souche POC
(Souche D = POC)



Photo 12. Fructification de la souche POL ©
(Souche C= POL)

Références bibliographiques

1. Aardon O., Kerem Z. & Hadar Y., 1996. Enhancement of laccase activity in liquid cultures of the lignilytic fungus *Pleurotus ostreatus* by cotton stalk extract. *Journal of Biotechnology*, 51, 201-207.
2. Barbera C.E., 1965. L'utilisation du marc de café. *Revue « Café, Cacao, Thé »*. Vol. IK n°3; 206-217.
3. Chalaux N., Libmond S. & Savoie J. M., 1995. A practical enzymatic method to estimate wheat straw quality as raw material for mushroom cultivation. *Bioresource Technology*.53, 277-281.
4. Chang S.T., 1999. World production of edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *lentinula edodes* (Berk.) Sing. In China. *International Journal of Medicinal Mushroom* 1: 291 – 300.
5. Courvoisier M., 1983. Production mondiale des autres champignons. *Bulletin de la F.N.S.C.C. Nouvelle série n°59*, 113-119.
6. Cruz G.M., 1983. Residuos de culturae industrie informe agropectuaris. Vol 9 n°108, 32-37.
7. Delmas J., 1989. Les champignons et leur culture. Culture actuelle et potentielle des champignons supérieurs. *La Maison Rustique*. 940p.
8. Dogan H. & Peksen A., 2003. The effects of prepared by tea waste and disinfection methods on the yield and quality of *Pleurotus sajor-caju*. *Ondokus Mayis Universites, Ziraat Fakultesi Dergisi* 18 1: 39-48.
9. Durrieu G., 1993. *Ecologie des champignons*. Collection d'écologie, édition Masson, Paris Milan Barcelone Bonn ,207 p.
10. Fan L., Soccol A.T., Pandey A. & Soccol C.R., 2003. Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on Brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. *Micologia Aplicada International*, 15 1: 15-21.
11. Fourret G., 1990. *Dernières nouvelles des champignons*. Edité par l'auteur 337 p.
12. Garatini R., 1971. *Les plantes*. Edition de la G.E.A. Milan pp101-102
13. Laborde J. & Delmas J., 1974. Le pleurote. *Revue horticole n° 145*, 39-46.
14. Mata G. & Salmones D., 2003. Edible mushroom cultivation at the Institute of Ecology in Mexico. *Micologia Aplicada International*, 15 (1): 23-29.
15. Nguyen Thi Nguyet, 2001. *Culture de champignons à Cho Don*. Programme Fleuve Rouge. Agridoc.
16. Oei P., 1993. *La culture des champignons*. Collection « le point sur » Guide technique. Traduction Christine Nédelec, Révision Jean Laborde. Ministère Français de la Coopération. CTA.TOOL.GRET. 320 p.

17. Olivier J. M., Laborde J., Guimberteau J., Poitou N. & Houdeau G., 1991. La culture des champignons. Edition Armand COLIN.160p.
18. Pacioni J., 1987. La culture du champignon de couche. Editions De Vecchi S.A Paris
19. Raimbault M., 1981. Fermentation en milieu solide, croissance de champignons filamenteux sur substrat amylicé. Travaux et Documents de L'Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre Mer. 150 p.
20. Rosado F.R., Kemmelmeier C. et Da Costa M.G., 2002. Alternative method of inoculum and spawn production for the cultivation of the edible Brazilian mushroom *Pleurotus ostreatus* SING., J. Basic Microbiol. 42 1: 37-44.
21. Savoie J.-M., Chalaux N. & Olivier J.-M., 1995. Variability in staw quality and mushroom production: Importance of fungicide schedules on chemical composition and potential degradability of wheat straw. Bioresource Technology. 41: 161-166.
22. Velázquez - Cedeño M.A., Mata G. & Savoie J.M., 2002. Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignolytic enzymes. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 201- 207.
23. Velázquez Cedeño M.A., 2005. Compétition entre *Pleurotus ostreatus* et *Trichoderma* sp en culture sur paille de blé: rôle des communautés bactérienne du substrat et des laccases de *Pleurotus*. Thèse de Doctorat de l'Université Paul Cézanne (Aix-Marseille III), en Biologie des Population et Ecologie. Ecole Doctorale Sciences de l'Environnement. 166 p
24. Zervakis G., Philippoussis A., Ioannidou S. & Diamantopoulou P., 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions of the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. Folia Microbiol. 46 3: 231-233.

II – DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSION

Le grignon d'olive et le marc de café sont des résidus agro-industriels, produit en grande quantité, périodiquement pour le premier et en continue pour le second puisqu'il est issu de la consommation quotidienne de café. Ce sont des résidus lignocellulosiques sous utilisés voir non utilisés

La culture des champignons comestibles sur les déchets lignocellulosiques représente l'un des procédés de recyclage de déchets organiques le plus économiquement rentable (Mandeel et al, 2005). En outre, les champignons occupent une place de plus en plus importante dans notre alimentation, en particulier pour les personnes conscientes de l'importance de la qualité de l'alimentation et attentives à ce qu'elles mangent (Chen, 1996).

En Algérie, les difficultés pour mener une telle culture résident, d'une part, dans la méconnaissance des techniques de culture, et d'autre part, dans la non disponibilité du blanc qu'il faut commander à des sociétés basées à l'étranger (Somycel,...).

Initialement, nos objectifs étaient très ambitieux, nous voulions d'une part valoriser le grignon d'olive et le marc de café et d'autre part diversifier les espèces de champignons comestibles à cultiver (§matériel mycologique) (*Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*, *Héricium* sp, *Pleurotus ostreatus* P535, *Pleurotus ostreatus* local) et tenter la culture d'une souche de basidiomycète non comestible mais à grandes propriétés médicinales, le ganoderme luisant (*Ganoderma lucidum*).

Pour toutes les espèces décrites, à l'exception de *Auricularia auricula* Judae, nous avons pu obtenir des cultures myceliennes sur milieux gélosés mais la qualité du mycelium était variable. Pour les espèces provenant de Société Royale Champignon de France (*Lentinus edodes* (S610), *Flammulina velutipes*, *Pleurotus ostreatus* P535), le mycelium obtenu était d'excellente qualité et la production de blanc était relativement facile, malheureusement, nous avons perdu assez rapidement les souches de shiitake et de flammuline.

Pour remplacer la souche de shiitake, nous avons acheté en France, au marché, du shiitake et avons essayé de faire des isollements. Malheureusement comme il est possible de le voir à la figure 73-C, nous n'avons pas pu dépasser le stade de culture sur milieu gélosé, car la masse mycelienne obtenue sur les milieux de culture que nous avons l'habitude

d'utiliser est faible. Le mycelium est chétif et fructifie très rapidement mais passe difficilement sur l'orge dans nos conditions de travail.

Nous avons rencontré le même problème pour la souche de *Hericium* (fig.73-A) ramassée sur un tronc de chêne afares dans la forêt des Beni-Ghobri plus connue sous le nom de forêt de Yakouren, et la souche de *Ganoderma* (fig.73-B) provenant de la forêt de Darna.

Nous avons alors, choisi de concentrer nos efforts sur les pleurotes dont la culture, comme cela a été signalé par de nombreux chercheurs est beaucoup plus facile.

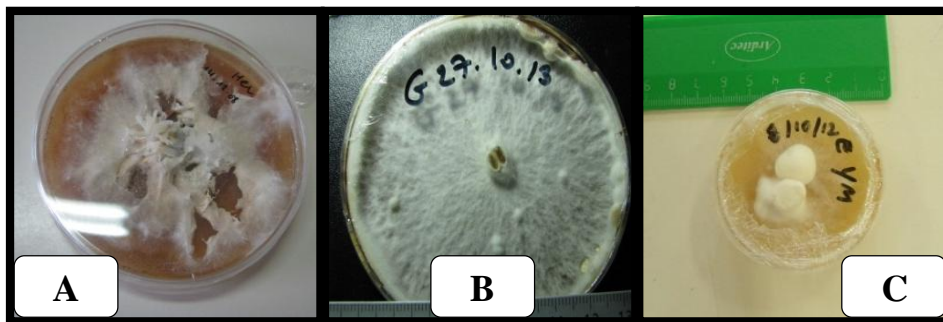


Figure 73: Cultures sur milieu RC de *Hericium* sp, *Ganoderma* sp et *Lentinus edodes*

Nous avons pu reproduire en laboratoire le cycle complet de culture de la souche locale de pleurote en huître (POL) et de la souche d'origine commerciale (POC), provenant de France et que nous avons reçu sous forme de mycelium dicaryotique.

Pour la souche POL, la culture a débuté avec un carpophore récolté dans la nature, à Oued-Aissi (Wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie), sur une souche de ricin et s'est terminée par la récolte de nouveaux carpophores sur du grignon d'olive et le marc de café.

Ce sont les cultures sur grignon d'olive qui ont fait l'objet d'études plus approfondies. En effets, l'intérêt a été porté sur quelques facteurs relatifs au développement des deux souches de pleurote.

Notre discussion des résultats a été faite en suivant les principales étapes de la culture de champignon à savoir :

- l'isolement et/ou la multiplication du mycelium dicaryotique issu de carpophores ou de précultures;
- la production de blanc
- la culture en boîte de Pétri puis en sacs des deux souches de Pleurote POC et POL

D'une manière générale, pour presque tous les facteurs étudiés dans les différentes étapes de cette recherche, le comportement de la souche de pleurote isolée localement, et que l'on peut qualifier de souche sauvage, est semblable à celui de la souche domestiquée et commercialisée, normalement, à caractères plus stables

1- ISOLEMENT ET/OU MULTIPLICATION DU MYCELIUM DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE POC ET POL ET SELECTION D'UN MILIEU DE CULTURE GELOSE ADEQUAT

Les deux souches de pleurotes, la commerciale et la locale, ont été entretenues depuis Novembre 1993, date de son isolement pour la souche locale et date de sa réception et de sa multiplication, à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour la souche commerciale.

Le mycélium dicaryotique de POL avait été isolé à partir d'un carpophore sans difficultés. Le premier mycelium développé était de couleur blanche et d'aspect cotonneux avec du mycélium rampant et du mycélium aérien de bonne qualité (fig.49, p.119).

Les mycelia des deux souches de pleurote ont été régulièrement multipliés et entretenus et des réisolements, à partir des carpophores obtenus après culture, sont effectués au moins une fois par an à partir des meilleurs carpophores récoltés sur les cultures.

Les deux souches de pleurote ont été multipliées dans un premier temps sur le milieu «Pomme de terre – Dextrose - Agar» (PDA) qui est un milieu standard facile à préparer et de faible coût de revenu contrairement aux milieux synthétiques dont les constituants coûtent plus chers. C'est un milieu qui a été utilisé pour la production d'inocula de différentes espèces de champignons de la pourriture blanche comme les champignons du genre *Pleurotus* (Gibriel et al, 1996), *Schizophyllum* (Alam et al, 2010)...

Les vitesses de croissance moyennes des deux souches de pleurote estimée à 0,87cm/jour est légèrement plus faible que celle obtenue en 2013 à savoir 1,03cm/jour (Mansour-Benamar et al, 2013).

Nous avons remarqué que, malheureusement, le milieu PDA a favorisé fortement le développement de moisissures et de levures qui ont une croissance beaucoup plus rapide que les souches de pleurote en forme d'huître.

Le milieu Oddoux a été moins favorable à la croissance de POC et POL et a été mis de côté.

Le milieu Raper Complet (RC) a permis une croissance mycélienne de POC et POL qui avoisine 1cm/jour. Il est incontestablement le milieu de culture le plus favorable. Nous l'avons adopté et utilisé en raison de son très faible taux de contamination, sachant que la qualité du mycélium obtenu sera déterminante pour l'étape suivant, à savoir la fabrication du blanc de POC et POL.

Dans l'espoir d'améliorer la croissance mycélienne des deux souches de pleurote POC et POL et jumeler leurs potentialités, nous avons créé des implants de gélose mixtes.

Nous avons commencé par créer les implants d'inoculum composés chacun par approximativement 50% de mycelium de chacune des deux souches en faisant une co-culture sur milieu RC avec d'un côté un implant de POC et de l'autre un de POL (fig.74), en découpant les implants le long de la zone de chevauchement des mycelia des deux souches de pleurote

Les cultures sur milieu RC des implants mixtes n'ayant pas révélé de différence significative comparativement aux croissances de POC et POL, notre expérience a été arrêtée là.



Figure 74: Culture mixte des deux souches de pleurote POC et POL; (A) après 3 jours d'incubation; (B): après 9 jours d'incubation. La ligne noire délimite la zone de POL et la ligne rouge celle de POC.

Conclusion : Pour l'isolement et la multiplication de mycelium des deux souches de Pleurotes étudiées, la commerciale et la locale, le milieu RC est recommandé, mais ce milieu peut être suppléé, en période fraîche (hiver) par le milieu PDA qui est moins cher.

2- FABRICATION DE BLANC DE PLEUROTE

Le blanc est, comme nous l'avons déjà précisé, un bouturage du mycélium dicaryotique, sur un support nutritif de dispersion facile, généralement des grains de céréales cuits (Carpentier, 1971; Olivier, 1991).

La phase de préparation du blanc est une phase que l'on peut qualifier de critique car c'est d'elle que dépendra, en premier lieu, la réussite de la culture d'un champignon comestible quelle que soit l'espèce. Un blanc de bonne qualité va s'installer plus facilement sur le substrat et reprendra plus vite son activité par rapport à un blanc de mauvaise qualité.

Il est également important de pouvoir disposer du blanc de champignon à tout moment, par conséquent, il est impératif, dans le cas où il n'y a pas de fournisseur de blanc de champignon, de maîtriser sa fabrication si l'on veut se lancer dans la culture de champignons

Cette fabrication est tributaire de nombreux facteurs à savoir le substrat de base utilisé (généralement une céréale, blé, orge, seigle, millet, maïs...), et des conditions de culture comme la température d'incubation, le pH et le taux d'humidité dans les grains.

Le grain de céréale utilisé pour la fabrication du blanc de champignon joue en fait deux rôles, celui de transporteur de mycélium et celui de réserve nutritive.

Le choix de l'orge a été fait sur la base des résultats que nous avons obtenus après de nombreux essais avec le blé, le millet et l'alpiste faux roseau. Ces deux dernières céréales coûtent assez cher comparativement au blé et à l'orge qui sont subventionnés par l'Etat Algérien. Cependant, le millet et l'alpiste roseau restent des céréales intéressantes pour la fabrication du blanc eu égard à la petite taille des graines qui permet une meilleure dispersion de l'inoculum dans le substrat. Cependant cette petite taille peut constituer un facteur limitant car le champignon disposera moins de réserves. Ces réserves sont importantes car le mycélium y puisera avant de puiser dans son nouveau milieu de culture. En effet, nous avons observé, sur milieu de culture gélosé, d'abord une reprise du développement du mycélium sur la rondelle d'inoculum avant son développement sur le milieu nutritif neuf.

Deux conditions fondamentales doivent être respectées concernant les deux souches de pleurote POC et POL (probablement valables pour d'autres espèces de champignon comestibles lignocellulolytiques). Les mycelia de POC et POL ne se sont jamais développés correctement sur de l'orge de mauvaise qualité, en effet nous avons constaté que les deux souches ne poussaient pas sur l'orge destinée à l'alimentation animale, elles ne se sont bien développées que sur de l'orge destinée à l'alimentation humaine, avec des grains, bien dorés et bien chargés en réserves. L'orge doit être en fait de 1^{er} choix.

La deuxième condition principale est le bon traitement thermique, qui va permettre au mycélium de coloniser «tranquillement» le substrat, sans risque de concurrence par les moisissures et les bactéries contaminantes qui ont des croissances extrêmement rapides. Les champignons de la pourriture blanche sont connus pour être des champignons à croissance lente.

Les principales moisissures que nous avons pu identifier appartiennent essentiellement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* et *Mucor*. Ce sont des champignons qui sporulent beaucoup et envahissent rapidement un substrat. Nous n'avons pas isolé le genre *Trichoderma* signalé par de nombreux chercheurs à travers le monde, comme contaminant sur des cultures de divers champignons comestibles.

Nous avons cherché à définir les principales conditions de fabrication du blanc à savoir la température d'incubation, l'humidité et le pH dans les grains d'orge pour une optimisation de la croissance mycélienne, à l'intérieur et autour des grains d'orge ramollis par l'humidité et le traitement thermique.

Cette étude a été réalisée sur le blanc primaire ou master, elle aurait pu être réalisée également sur le blanc secondaire ou blanc final.

Les mesures effectuées sont des estimations visuelles de l'occupation de la surface des grains d'orge par le mycélium de pleurote.

Cette étude montre que 6 jours d'incubation sont insuffisants pour l'obtention d'une orge bien envahie par le mycélium de pleurote. La fabrication d'un blanc de qualité, avec un mycélium bien implanté dans les grains d'orge, nécessite entre 8 et 15 jours d'incubation selon la période de culture, ce temps a donc été amélioré par rapport à 2007 (Mansour-Benamar et al, 2007).

Un temps d'incubation de 9 jours est relativement court par rapport à ce qui a été rapporté par certains chercheurs, entre 14 et 30 jours en moyenne pour Rosado *et al* (2002). Un blanc (mycélium) âgé de 3 semaines, sera plus résistant et plus vigoureux qu'un blanc plus jeune.

Le blanc obtenu au cours de cette expérience, après 15 jours d'incubation, est de bonne qualité avec des grains d'orge bien enrobés par du mycélium blanc rhizomorphique aussi bien pour le pleurote local que le commercial

Concernant la quantité d'eau distillée à ajouter aux grains d'orge bien lavés à l'eau froide ensuite à l'eau bouillante puis égouttés, 40 ml sont suffisantes pour réhydrater correctement les grains d'orge sans qu'ils éclatent. Ces 40 ml apportent dans les grains d'orge un taux d'humidité relative de 57% ce qui est un taux acceptable pour le champignon n'étant pas loin des 60% d'humidité relative recommandé par Oei (1993), Oei & Nieuwenhuijzen (2005) et Nieuwenhuijzen (2007).

Nous avons observé qu'un excès d'eau (> à 55ml d'eau) transforme l'orge en une sorte de pâte collante après stérilisation. Les mycelia de POC et POL n'ont jamais poussé correctement dessus, probablement par manque d'air. Par contre cet excès d'eau a favorisé fortement le développement de levures facilement reconnaissable à leur odeur caractéristique.

Selon Olivier *et al* (1991) un excès d'eau favorise l'apparition de bactéries et un manque d'eau empêche le mycélium de se développer.

Les pleurotes poussent à des températures situées entre 20 et 30°C avec un taux d'humidité de 55 à 70% sur divers déchets agricoles et c'est grâce à sa nature flexible que le genre *Pleurotus* est le plus cultivé (Ahmed *et al*, 2013).

Concernant les températures d'incubation, malgré l'absence de mise en évidence de différence significative entre la croissance de POL et POC aux trois températures testées (22, 25 et 28°C), une lecture plus détaillée de la boîte de dispersion (fig54) révèle que les taux de colonisation de l'orge obtenus sont plus homogènes à 28° qu'aux deux autres températures.

C'est à 22°C que les taux de colonisation les plus bas ont été obtenus.

On peut considérer que 28°C est la température d'incubation optimale, mais sur le plan pratique, pour éviter tout problème de surchauffe liée à l'activité des deux souches de champignon, une température de 25°C est conseillée conformément aux recommandations de Olivier et al en 1991. Cette température (25°C) est celle qui est habituellement utilisée par de nombreux chercheurs pour la culture des pleurotes (Gibriel et al, 1996 ; Velázquez Cedeño et al, 2002 ; Velázquez Cedeño, 2005). Pour Lelley (1984), la température optimale de croissance du pleurote en huître se situe entre 20 et 24°C avec une humidité relative dans la salle de culture de 80 à 90%.

Pour la culture du pleurote en huître, Olivier (1991) a recommandé un pH de 6,5 alors que pour Philipoussis (2009) c'est un pH basique égal ou supérieur à 8 qui est recommandé. Le pH de l'orge additionnée de 2% de carbonate de calcium est de 7,40, donc se situe entre les pH recommandé par Olivier et ses collaborateurs et Philipoussis. Nous avons remarqué que plus le pH est basique, meilleure est la croissance de POC et POL et moins les cultures sont sujettes aux contaminations par les bactéries et les moisissures. Cela peut constituer un facteur d'électivité du substrat pour POC et POL.

Si le pH est un facteur limitant pour l'activité de certaines enzymes comme les hydrolases qui ont besoins d'un milieu particulièrement acide, certains champignons pathogènes se chargent d'acidifier le milieu en excrétant des acides organiques comme l'acide oxalique par exemple (Geiger, 1975).

Cette acidification du milieu a été observée sur les différents substrats testés dans le cadre de cette étude pour la culture de POC et POL.

Conclusion : la fabrication de blanc de POC et POL dépend de nombreux facteurs dont il faut tenir compte : pour le substrat de base nous recommandons l'utilisation de grains d'orge destinés à l'alimentation humaine, un taux d'humidité relative de 57%, un pH de 6,5, une température d'incubation située entre 22 et 28°C.

3- CULTURE EN BOITE DE PETRI ET EN SAC DES DEUX SOUCHES DE PLEUROTE

Culture en boite de petri

Le but principal de cette partie de l'étude est de vérifier la précocité et la rapidité des mycelia des deux souches de pleurote en huître POC et POL à se développer et à coloniser des substrats lignocellulosiques aussi complexes que le grignon d'olive et le marc de café.

Lemke (1978), en parlant de la vitesse de croissance du mycélium d'Agaric, estime qu'elle est influencée par différents facteurs, notamment le milieu de culture, la température ambiante et la souche utilisée.

Mata et al (2001) estiment que la capacité d'un champignon à croître sur un substrat lignocellulosique est liée à la force de son mycélium ainsi qu'à sa capacité à activer des mécanismes physiologiques nécessaires pour exploiter convenablement son milieu. Ils ajoutent que si les caractères de fructification sont parmi les critères permettant de déterminer la sélection des souches, un intérêt particulier doit être porté à la capacité de la souche à envahir un substrat donné. En effet, la première étape importante dans la culture d'un champignon sur un substrat solide est la vitesse de la colonisation fongique.

La vitesse de colonisation d'un substrat est un paramètre important en raison du problème de concurrence en cas de présence de microorganismes antagonistes suite à un traitement thermique insuffisant (Zervakis et al, 2001).

Néanmoins, selon Zervakis et al. (2001), la croissance d'un champignon doit être lente et dense, afin de permettre au mycélium de mieux exploiter les ressources nutritives que lui offre le substrat.

La forme mycélienne donne aux champignons l'avantage de pouvoir coloniser très rapidement un milieu, du fait de la surface de contact optimale pour rechercher et assimiler les nutriments (Thuillier, 2013).

Les taux d'humidité initiaux utilisés dans les substrats de culture (en boîte de Pétri puis en sac) des deux souches de pleurote sont acceptables.

C'est la paille qui absorbe le plus d'eau (75% d'humidité relative) et c'est la fraction ligneuse du grignon (GOS) qui en retient le moins (36%). L'addition de la paille a fait passer le taux d'humidité à 48 % dans GOSP20.

La fraction riche en pulpe retient plus d'humidité relative (60%) que le grignon (55%).

Le taux d'humidité dans les grignons supplémentés par la paille augmente avec l'augmentation du taux d'incorporation de la paille.

Grâce à sa capacité de rétention de l'eau, en plus de l'amélioration de la structure du substrat qui devient moins compact, donc plus aéré, et grâce à la circulation d'air et de l'eau à travers les chaumes coupés, la paille a permis une amélioration de la croissance mycélienne des deux souches de pleurote et une amélioration des rendements et de l'efficacité biologique des deux souches de pleurote .

En outre, la paille de blé apporte des éléments minéraux comme le potassium et le phosphore et constitue également une source d'alcalinité (FRCA Picardie et Cooperenergie, 2008).

Les deux souches de pleurote POC et POL ont présenté, selon le test statistique de Kruskal & Wallis effectué, une capacité similaire à se développer respectivement sur les 7 substrats testés à savoir le grignon d'olive (GOB) , la fraction de grignon d'olive riche en pulpe (GOI), la fraction de grignon d'olive riche en lignine (GOS), GOB enrichi par 10% de paille (GOBP10), GOB enrichi par 20% de paille (GOBP20), GOI enrichi par 20% de paille (GOIP20), GOS enrichi par 20% de paille (GOSP20), le marc de café (MC) et MC supplémenté par 20% de paille.

L'addition de 10 ou 20% de paille de blé a permis une amélioration de la croissance mycélienne des deux souches de pleurotes sur GOB, et l'amélioration la plus importante a été observée sur GOBP10. Quant au marc de café, l'addition de 10% de paille de blé n'a pas permis une augmentation significative dans la croissance mycélienne des deux souches de pleurote dans le cas présent, mais une étude réalisée en 2014 (Mansour-Benamar et al, 2014) a révélé que l'addition de 10 ou 50% de paille de blé a permis une augmentation significative des rendements en carpophores des deux souches de pleurote POC et POL.

Les champignons qui arrivent à se nourrir de la décomposition de la biomasse végétale sont d'intéressants producteurs d'enzymes de dégradation des parois cellulaires (Marcolongo et al, 2014). Les champignons de la pourriture blanche dont font partie les

pleurotes sont les seuls microorganismes capables de dégrader efficacement la cellulose, les hémicelluloses et la lignine du bois (Lekounougou, 2008).

Le dosage des activités enzymatiques va permettre d'identifier les enzymes extracellulaires associées à la croissance et au développement des deux souches de pleurotes POC et POL.

Les différentes activités enzymatiques mesurées dans les substrats sont en accord avec la croissance mycélienne.

Concernant les activités hydrolases, sur le grignon d'olive (GOB), c'est au 8^e jour d'incubation que cette activité est la plus importante. Malheureusement, ces activités n'ont été mesurées sur GOI et GOS qu'au 24^e et 35^e jours d'incubation. Nous ne savons pas comment réagissent POC et POL au cours des premiers jours d'incubation.

Sur le marc de café, c'est au 24^e jour d'incubation que l'activité est la plus importante alors qu'elle était stable et régulière mais faibles entre le 7^e et le 18^e jour d'incubation. Après le 24^e jour d'incubation, ces activités ont diminué.

La mouture du café a peut-être favorisé l'accès pour deux souches de pleurote à des molécules facilement assimilables d'où la faible activité enzymatique durant les premiers jours d'incubation

Les hydrolases dégradent la cellulose, l'hémicellulose et les pectines par contre les oxydases comme la laccase, jouent un rôle dans la dégradation de la lignine (Guillaumin et al, 2005). Cellulose, hémicellulose, lignine et pectines sont des constituants de la paroi cellulaire végétale.

La cellulose est le polymère naturel linéaire de β -D-glucose le plus abondant dans la biosphère. Elle participe à la structure physique et à la résistance des cellules végétales (Garrett & Grisham, 2000)

Les hémicelluloses sont définies structurellement comme des polysaccharides polymères de pentoses (comme le xylose et l'arabinose) et d'hexoses (comme le glucose, le mannose et le galactose) (Vidaud et al, 1982, Wertz, 2011).

Le xylose est le 2^e sucre le plus abondant dans la biosphère après le glucose (Wertz, 2011).

Les lignines sont des macromolécules polyphénoliques.

Cellulose, hémicelluloses et lignines sont les constituants majeurs des matériaux lignocellulosiques. La résistance de la cellulose à l'hydrolyse enzymatique s'explique d'une part par la présence de la matrice formée par les hémicelluloses et la lignine qui entoure la cellulose et par la structure hautement ordonnée de la cellulose qui lui confère une certaine cristallinité (Vidaud et al, 1982).

Salhi-Mohand Oussaid (2004) a déterminé la teneur en composés pariétaux du grignon d'olive broyé et déshuilé en pourcentage de la matière sèche (MS); les composés solubles dans l'eau chaude (formés d'oligosaccharides, de pectines et autres) ont été estimés à ~ 18%; et la fraction résiduaire (~ 80% de la MS) est composée de cellulose (majoritaire avec ~ 44%), suivie de la lignine (~ 25%) puis des hémicelluloses (~ 12%). Les cendres ont été estimées à 0,9 % de la MS.

Cet auteur rapporte que la pulpe d'olive contient de la lignine, de la cellulose et des polysaccharides pectiques riches en arabinose, du xylane et des xyloglucanes. La fraction lignocellulosique représente 60% de la coque du noyau d'olive.

Parmi les hydrolases, nous avons mesuré, dans le grignon d'olive, les activités β -glycosidases dont les β -glucosidases (appelées également cellobiases) qui sont des enzymes importantes de la dégradation de la cellulose pour libérer des monomères de glucose nécessaire à l'alimentation des mycelia des deux souches de pleurote pour leur croissance.

Cette activité est plus importante au 24^e jour d'incubation qu'au 10^e jour d'incubation pour les deux souches de pleurote, et, est particulièrement importante pour la souche locale (presque 5 fois celle de POC) sur GOB.

Les activités enzymatiques xylosidase, galactosidase et mannosidase sont des activités hémicellulasiques c.-à-d. des activités de dégradation des hémicelluloses. En effet les hémicelluloses (20 à 40% de la biomasse lignocellulosique) ont une structure et une organisation variable d'où la nécessité de l'action concertées de nombreuses enzymes pour leur dégradation (Wertz, 2011).

Pour la souche commerciale, l'activité β -xylosidase est négligeable au 24^e jour d'incubation. Elle est plus importante au 10^e jour d'incubation, et est de même importance pour POC et POL. Pour POL l'activité est la même aux deux temps d'incubation.

Les mannanes et les glucomannanes sont généralement peu abondants chez les Spermaphytes, et ne représente que 3 à 5% du poids sec de la paroi primaire des Dicotylédones et 2 à 5% de la paroi secondaire (Wertz, 2011), ce qui expliquerait une activité β -mannosidase aussi faible aux deux temps d'incubation, 10 jours et 24 jours car les hydrolases extracellulaires sont des enzymes induites par le milieu (Geiger, 1975).

Parmi les hémicellulases, les mannosidases et galactosidases agissent sur les constituants de la chaîne principale et des substituants des hémicelluloses (, 2008).

Les NAG (N-Acétyle β -D-Glucosaminidases) sont des enzymes impliquées dans la dégradation de la chitine, La chitine est un polysaccharide azoté issu de la polymérisation du N-acétyl-glucosamine liés entre eux par une liaison osidique du type β -1,4. La chitine est un matériau résistant et souple ou dur lorsqu'elle est associée à du carbonate de calcium. Elle existe chez de nombreuses espèces animales (les arthropodes dont les insectes et les crustacés) ou fongiques (dont les macromycètes), chez qui elle joue un rôle structural important.

Cette activité est plus importante pour la souche locale que pour la souche commerciale aux 10^e et 24^e jours d'incubation.

Les deux souches ont des activités différentes: pour POC c'est au 10^e jour d'incubation que l'activité est la plus importante (11,45 nmoles p-nitrophénol libérées/g substrat sec/min vs 7,37) et pour POL c'est l'inverse avec 39,94 nmoles p-nitrophénol libérées/g substrat sec/min au 24^e jour d'incubation vs 18,40 au 10^e jour d'incubation.

Selon Savoie et al (1999), les NAG sont responsables de la dégradation de la paroi cellulaire microbienne. Ces chercheurs ont trouvé que c'est entre le 40^e et le 100^e jour d'incubation que les activités NAG sont les plus importantes (200 à 250 nmoles p-nitrophénol libérées/g substrat sec/min) chez *Lepista nuda*, un champignon décomposeur secondaire.

Les protéases sont des enzymes qui brisent les liaisons peptidiques des protéines. C'est une protéolyse (Geiger, 1975). L'activité protéase est plus importante pour les deux

souches de pleurote au 10^e jour d'incubation. La souche commerciale a une activité nulle au 24^e jour d'incubation.

En ce qui concerne l'activité phénol oxydase, l'activité laccase de POC équivaut aux deux tiers de celle de POL, en d'autres termes la souche locale de pleurote a excrété des laccases qui lui ont conféré une possibilité de dépolymérisation de la lignine plus importante que la souche d'origine commerciale.

Selon Salhi-Ouhand Oussaid (2004), une carence en azote a permis le développement d'une activité ligninolytique plus élevée chez *Trametes versicolor* et *Phanerochaete chrysosporium*.

Dans le grignon d'olive la quantité d'azote a été estimée à 19,69 mg/g de substrat sec. L'activité de la souche locale de pleurote a permis un enrichissement en cet élément dont la quantité a été estimée à 24,83 mg/g de substrat sec. La quantité d'azote a particulièrement augmentée (presque le double) dans la fraction acidosoluble alors qu'elle a diminuée dans la fraction récalcitrante (5,71 vs 6,91 mg N/g substrat sec).

Conclusion : La culture en boîte de Pétri offre l'avantage de travailler sur de petites quantités de substrat. Elle permet des manipulations, en condition d'aseptie maximales.

La méthode utilisée pour le traitement thermique (couscoussier) et le taux d'inoculation (7% poids/poids) sont convenables puisque nous n'avons pas observé de contaminations dans les substrats de culture (grignon d'olive et marc de café).

Les analyses enzymatiques effectuées ont révélé une activité ligninolytique de la souche locale de Pleurote plus importante que celle de la souche commerciale. Cela offre des possibilités d'utilisation de cette souche en bioremédiation.

Culture en sacs des deux souches de pleurote

En ce qui concerne la fructification des deux souches de pleurote POC et POL, les volées ne sont pas bien délimitées; en effet les carpophores ont été formées en continu sur les différents substrats testés excepté sur le marc de café où il y'a eu deux volées bien distinctes. Olivier avait déjà signalé en 1991 que le genre *Pleurotus* était caractérisé par l'absence de volées bien délimitées contrairement à *Agaricus* qui a des volées bien marquées.

La culture a duré en moyenne 60 à 65 jours dont 21 à 30 jours pour la croissance végétative du mycelium.

Il y'a eu beaucoup de champignons dont le poids est inférieur à 2 g qui ont été éliminés des résultats car jugés sans valeur commerciale, même si ce sont les champignons les plus tendres. Nous pensons que le poids des champignons commercialisables doit se situer bien au-dessus de 2g. Les petits champignons s'assèchent et se déshydratent trop vite et les gros champignons possèdent un pied relativement long et coriace.

Le nombre de carpophores total formés sur les différents substrats (GOB, GOI, GOS, GOBP, GOBP10, GOBP20, GOIP20, et GOSP20) sont presque identiques (117 pour POC et 116 pour POL) avec des rendements respectifs moyens globaux de 168g de carpophores par kg de substrat frais pour la souche commerciale et 137g /kg substrat frais pour POL. L'écart entre les rendements des deux souches de pleurote est de 31g.

Les carpophores de POC semblent donc un plus gros que ceux de POL.

L'addition de la paille de blé (10% ou 20%) et du carbonate de calcium (2%) a amélioré de manière significative les rendements et l'efficacité biologique des deux souches de pleurote. Sur les substrats non supplémentés par la paille, les rendements sont faibles pour les deux souches de pleurote mais semblent particulièrement faibles pour POC sur GOS.

GOS étant riche en lignine, cela laisse supposer que la souche locale a une activité ligninolytique plus importante que la souche commerciale peut-être plus adaptée à des substrats moins riches en lignine comme la paille de blé. Cette hypothèse est étayée par le dosage des activités laccase qui sont plus importantes pour POL sur le grignon d'olive par rapport à POC.

Cette activité LAC pourrait contribuer à la nutrition des champignons pendant la croissance végétative en modifiant la lignine (Savoie et al, 1999).

Cette action sur la lignine va faciliter l'accès des cellulases, comme par exemple les β -glucosidase, à la cellulose et l'accès des hémicellulases, comme les β -xylosidases et les β -galactosidase aux celluloses. Les mesures effectuées montrent que les valeurs sont généralement plus importantes pour la souche locale de pleurote.

Selon Lekounougou (2008), l'hydrolyse des polysaccharides (cellulose et hémicellulose) est entravée par la présence de la lignine et l'architecture compacte de la paroi cellulaire végétale, ce qui rend leur dégradation en sucres fermenticibles par les enzymes hydrolytiques beaucoup plus difficiles.

Kurt & Buyukalaca (2010) rapportent que les pleurotes possèdent à la fois des enzymes cellulolytiques et ligninolytiques.

D'après Salhi-Mohand Oussaid (2004), les constituants de la lignocellulose sont intimement liés, les hémicelluloses seraient unies avec la cellulose et la lignine serait liée aux hémicelluloses par des liaisons covalentes et que c'est la dégradation des hémicelluloses qui permettrait un meilleur accès aux autres polymères.

Concernant le nombre de carpophores formés par kilogramme de substrat frais, le nombre s'est situé entre 9 et 10 carpophores sur substrat non supplémenté avec la paille pour POC et entre 5 et 11 pour POL.

En présence de 10 ou 20% de paille, le nombre de carpophore a augmenté avec la formation de 14 à 35 carpophores par kg de substrat frais pour POC et 14 à 29 carpophores pour POL.

Ainsi, l'ajout de 20% de paille a permis d'augmenter le nombre de carpophores tout en diminuant fortement leur poids et leur taille.

C'est sur GOBP10 que les champignons les plus volumineux et les plus lourds ont été obtenus. Sur les autres substrats, une lecture rapide des résultats bruts (Tab.25) indique que la souche locale de pleurote paraît mieux pousser sur GOS et GOSP20 et la souche commerciale semble mieux pousser sur GIO et GOIP20.

Concernant le diamètre moyen des chapeaux, la différence selon les souches est non significative et la différence selon les substrats très hautement significative et c'est sur GOBP10, que nous avons retrouvé des carpophores avec les chapeaux les plus larges. Les carpophores à chapeaux les moins larges ont été formés sur GOIP20, et c'est sur ce substrat que le nombre de champignons formés est le plus élevé. En effet nous avons constaté que plus les champignons formés augmentent en nombre, plus leur taille diminue.

Concernant la longueur du pied du carpophore, Il y'a des différences hautement significatives entre les deux souches de pleurote et entre les substrats de culture. POC a formé des carpophores à pieds plus longs et c'est sur GOI que les carpophores à pieds les plus long se sont formés puis sur GOS. Les carpophores à pieds les plus courts ont été obtenus sur GOSP20.

Concernant la largeur des pieds des carpophores formés, il n'y a pas de différence significative entre les souches de champignon étudiées, la différence est significative entre les substrats. C'est sur GOBP10 que les champignons à pieds les plus larges ont été obtenus.

La souche POL, au moment de sa récolte a présenté un pied très court et relativement large, avec un chapeau large en forme d'éventail, de couleur beaucoup plus sombre que ceux développés en intérieur (laboratoire) qui sont toujours clairs. La longueur des pieds serait un indicateur d'éclairage au cours de fructification. Plus le pied est long, plus il y'a manque d'éclairage (Yildiz et al, 2002).

Nous pensons que d'une manière générale, les champignons obtenus, après supplémentation du marc de café et le grignon d'olive par la paille et optimisation du pH par le carbonate de calcium, sont de bonne qualité. Les efficacités biologiques aussi bien de la souche locale de pleurote que la souche commerciale sont comparables à celles obtenues par de nombreux chercheurs (Zervakis et al, 1996; Upadhyay et al, 2002; Velazquez Cedeño et al, 2002 ; Yildiz et al, 2002; Fan et al, 2006 et Mane et al, 2007).

L'addition d'une source d'azote en plus de la paille et du carbonate de calcium, peut également améliorer les rendements. L'importance de cet élément a été soulignée par Zied et al (2011). Pour Upadhyay et al. (2002), l'azote est un élément essentiel pour les fonctions cellulaires de croissance et de diverses activités métaboliques particulièrement la synthèse des protéines et des enzymes.

Un essai de culture de la souche POL sur grignon d'olive supplémenté avec 1% de gypse et 10% de son de blé, dans des conditions contrôlée, au laboratoire MYCSA de l'INRA Bordeaux Aquitaine (France), a permis un fort développement du mycelium de POL formant une bonne couche de stroma (fig.70-G et H) , après seulement une seule semaine de culture à 25°C. La phase de latence pour l'apparition des primordia était également d'une semaine (Fig.70-H).

La formation d'un stroma est redoutée par les producteurs de champignon car une importante couche de stroma constitue une barrière à l'émergence des primordia et perturbe la fructification. Cette expérience montre les améliorations possibles à apporter à la culture des deux souches de pleurote.

Conclusion : La culture en sac est une technique intéressante pour la culture des champignons. Elle offre la possibilité de manipuler les blocs de culture en toute sécurité. L'optimisation du pH avec 2% carbonate de calcium et la supplémentation des substrats avec respectivement 10% de paille de blé pour le grignon d'olive et 50% de paille de blé pour le marc de café ont amélioré considérablement les rendements et le nombre de carpophore tout en diminuant la taille des carpophores obtenus. Les carpophores de la souche locale ont présenté un pied plus court par rapport à ceux obtenus pour la souche commerciale, qualité recherchée chez les pleurotes car le pied étant coriace, n'est pas consommé.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le grignon d'olive et le marc de café sont des résidus lignocellulosiques issus de l'industrie oléicole pour le premier, et, de l'industrie et de la consommation du café pour le second.

Le grignon d'olive est disponible en très grande quantité sur une courte période de l'année. Par contre, le marc de café est disponible quotidiennement mais en quantités moins importantes

Grace à cette étude, nous avons pu montrer qu'il était possible de valoriser ces deux résidus agricoles (ainsi que la paille de blé) par la culture de deux souches de champignons lignocellulolytiques comestibles du genre *Pleurotus*.

La souche locale de pleurote a présenté des capacités à se développer sur le grignon d'olive et le marc de café bruts, sans aucun additif, tout comme la souche commerciale. Les champignons produits sont tendres et savoureux avec un bel aspect, mais les rendements étaient trop faibles.

La supplémentation du grignon d'olive avec 10% de paille de blé et l'optimisation du pH des substrats avec 2 % carbonate de calcium a amélioré les rendements des deux souches de pleurote, d'une manière hautement significative. Il y'a eu diminution du taux de lignocellulose et de protéines totales dans GOB et GOS par contre cette addition de paille a fait augmenté le taux de cellulose et de protéines dans GOI.

D'une manière générale l'action des deux souches de pleurote a permis une diminution de la lignocellulose et une augmentation des protéines, davantage avec la souche locale par rapport à la souche commerciale

Pour le marc de café l'addition de 10% de paille n'a pas amélioré les rendements en carpophores; c'est l'addition de 50% de paille qui a permis une bonne amélioration dans les rendements pour les deux souches de pleurotes tout particulièrement pour la souche commerciale.

La formulation des substrats est donc une étape importante de la culture des champignons et les rendements en carpophores en dépendent.

Il ne s'agissait pas pour nous de faire un choix entre les deux substrats, notre objectif étant de trouver la meilleure formulation pour chaque substrat et les meilleures conditions de croissance du mycelium et de fructification des deux souches de pleurote.

Ainsi, nous avons pu montrer que l'optimisation du pH et l'amélioration de la structure des deux résidus par addition de la paille, est une méthode prometteuse pour la production de champignons

Compte tenu des quantités de divers résidus lignocellulosiques produits chaque année et compte tenu des valeurs nutritionnelles et médicinales des pleurotes (rapportées par de nombreux chercheurs à travers le monde) et sachant que les pleurotes ont des complexes enzymatiques qui leur donnent la capacité à se développer sur divers résidus agricoles, et que la culture des pleurotes est la technologie la plus facile parmi les champignons comestibles et est également la technique qui nécessite le moins d'investissement, il est vivement recommandé de procéder, en Algérie, à la culture de ces deux souches de *Pleurotus ostreatus*, la commerciale existante et l'isolat sauvage, à l'échelle commerciale et pourquoi pas industrielle.

Le grignon d'olive pourrait être valorisé près des huileries où il est produit, en générant un aliment et une source de revenus complémentaires.

En dehors de la période de production oléicole, le marc de café et la paille de blé pourraient être utilisés comme substrats pour une production de carpophores en continu et fournir en permanence le marché avec les pleurotes.

Nous considérons que notre travail est un bel exemple de valorisation des deux déchets agro-industriels locaux et des ressources biologiques locales.

Pour terminer, nous pouvons donc dire que la culture de *Pleurotus ostreatus* est prometteuse dans le bassin méditerranéen à proximité des huileries d'olive.

D'autres résidus agro-industriels pourraient être utilisés et la diversification est envisagée avec l'isolement de mycelia d'autres espèces de champignons locales.

Les nombreuses possibilités qu'offrent les pleurotes et bien d'autres espèces de champignons comestibles ou non comestibles, dans différents domaines, en écologie en tant que biodépolluants, en alimentations humaine (exemple que nous avons présenté dans le

cadre de ce travail) et en alimentation animale (les résidus de culture de POC et POL ont été incorporés par Akkache en 2009 à l'aliment du lapin de population locale (Tizi-Ouzou) et dans le domaine de la santé avec les découvertes de nouvelles molécules à grand potentiel thérapeutique, ouvrent de très nombreuses perspectives.

Les perspectives réalisables dans l'immédiat sont l'isolement et l'identification des moisissures et bactérie contaminantes rencontrées aux cours des manipulations.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abdebaki, R., 2010. Etude de l'adsorption de colorants organiques (rouge nylosan et bleu de méthylène) sur des charbons actifs préparés à partir du marc de café. Thèse de Doctorat en Science en génie des procédés. Université Mentouri-Constantine. Faculté des Sciences de l'Ingénieur. Département de Génie des Procédés, Algérie. 153p.
2. Afidol (Association Française Interprofessionnelle de l'Olive). Fiche élève Cycle1et 2 : L'olivier et les sciences. Dépliant Science botanique- Huiles et olives (6.1 à 6.5). (<http://www.afidol.org/pédagOlive- tout apprendre sur l'olivier, l'olive, l'huile d'olive>).
3. Ahmed M., Abdullah N., Ahmed K.U., Borhannuddin Bhuyan M. H. M, 2013. Yield and nutritional composition of oyster mushroom strains newly introduced in Bangladesh. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 48 (2): 197-202.
4. Akkache S., 2009. Effets de deux aliments granules sur les performances de reproduction des lapines. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques, option Alimentation Animale et Produits animaux, Département d'Agronomie, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 60 p.
5. Akar T., Tosun I., Kaynak Z., Ozkara E., Yeni O., Sahin E. N., Akar S.T., 2009. An attractive agro-industrial by-product in environmental cleanup: Dye biosorption potential of untreated olive pomace. *Journal of Hazardous Materials*, 166: 1217–1225.
6. Alam N., Cha Y.J., Shim M.J., Lee T.S., Lee U.Y., 2010. Cultural Conditions for Mycelial Growth and Molecular Phylogenetic Relationship in Different Wild Strains of *Schizophyllum commune*. *Mycobiology*. 38(1): 17–25.
7. Algérie E.108/Doc. n°4, Algérie indicateurs macroéconomiques et agricoles. www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/4012-algeria-fr
8. Al-Murish T.M., Elshafei A.A., Al-Doss A.A., Barakat M.N., 2013. Genetic diversity of coffee (*Coffea arabica* L.) in Yemen via SRAP, TRAP and SSR markers. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.11 (2): 411-416
9. Amici A., Verna M., Martillotti F., 1991. Olive by-products in animal feeding: improvement and utilization. In : Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). *Fourrages et sous-produits méditerranéens*. Zaragoza : CIHEAM, 1991. p. 149-152 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 16)

10. Ammerlaan, T., Barrière, V., Genest-Richard, P., Rabow, S., 2012. Tales of a forgotten Bioresource : the recycling of spent coffee grounds. Department of Bioresource Engineering. McGill University, Montréal, Canada. 57p.
11. ANDI (Agence Nationale pour le Développement de l'Investissement), 2013. Wilaya de Tizi-Ouzou. Invest in Algeria,(www.andi.dz).
12. Anthony F., Combes M. C., Astorga C., Bertrand B., Graziosi G., Lashermes P., 2002. The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR marker. *Theor. Appl. Genet.*, 104: 894–900.
13. APG II (Angiosperm Phylogeny Group), 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* vol. 141: 399-436.
14. APG III (Angiosperm Phylogeny Group), 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2):105-121.
15. Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K., 2013. Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé». *Afrique Science*, 9 (3): 159 – 166.
16. Arvanitoyannis I. S., Kassaveti A., 2007. Current and potential uses of composted olive oil waste. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 42 (3) 281–295.
17. Azbar N., Bayram A., Filibeli A., Muezzinoglu A., Sengul F., Ozer A., 2004. A Review of Waste Management Options in Olive Oil Production. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, Taylor & Francis Publisher, 34 (3): 209 – 247.
18. Babu P.D., Subhasree R.S., 2010. Valuing the Suitable Agro-Industrial Wastes for Cultivation of *P. platypus* and *P. eous*. *Advances in Biological Research* 4 (4): 207-210.
19. Ballesteros L. F., Teixeira J. A., Mussatto S. I., 2014. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food Bioprocess Technol*, 7:3493–350.
20. Bamouh A., 1999. Valorisation des Orbes en Aviculture. *Bulletin de liaison et d'information du PNTTA, Transfert de Technologie en Agriculture, réalisé à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc, n°55, p.1-2.*

21. Bano Z, Rajarathnam S (2010) Pleurotus mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. Crit. Rev. in Food Sci. Nutr. 27 (2) 87-158.
22. Bao HN, Ochiai Y, Ohshima T., 2010. Antioxidative activities of hydrophilic extracts prepared from the fruiting body and spent culture medium of *Flammulina velutipes*. Bioresour Technol. (15):6248-55.
23. Barbera C.E., 1965. L'utilisation du marc de café. Revue « Café, Cacao, Thé ». Vol. IK n°3; 206-217.
24. Barreca F., Ficher C.R., 2013. Use of olive stone as an additive in cement lime mortar to improve thermal insulation. Energy and Buildings, 62: 507–513.
25. Belkessam A. , 2012. L'Algérie a triplé ses plantations d'oliviers en dix ans. <http://www.econostrum.info> (l'actualité économique en méditerranée).
26. Benouafa S, 2014. L'olivier, une culture millénaire à la conquête de grands espaces. HuffPost Maghreb. Publication: 12/07/2014 14h13. Consulté le 21/12/2014.
27. Bensemmane A, 2009. Pour la modernisation de l'oléiculture en Algérie. *Filaha Innove* n°4, p.1.
28. Berthaud J., 1980. L'incompatibilité chez *Coffea canephora* : Méthode de test et déterminisme génétique. ASIC (Association Scientifique Internationale du Café), 9^e Colloque Scientifique International sur le Café, Londres, vol. 2, pp. 517- 526.
29. Bhatti M.I., Jiskani M., Wagan K., Pathan M., Magsi M., 2007. Groth, development and yield of Oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (jacq Ex. Fr.) Kummer as effected by different spawn rates; Pak. J. Bot., 39: 2685-2692.
30. Bisen P.S., Baghel R.K., Sanodiya B.S., Thakur G.S., Prasad G.B. *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. Current Medicinal Chemistry. 2010,17(22):2419-30.
31. Blandeau E., 2011-2012. Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, UFR Sciences Pharmaceutiques et Ingénierie de la santé. 112p

32. Boukhari R., 2014. Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de magister en Agronomie, Option : Amélioration de la Production Végétale et Biodiversité. Département des Sciences Agronomiques et des Forêts, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de la Terre et de l'Univers, Université Abou Beker Belkaid - Tlemcen, Algérie, 86p.
33. Boumaza S., Kaouah F., Berrama T., Trari M., Bendjama Z., 2012. Optimization of preparation conditions for activated carbon from waste materials of agricultural origin for the removal of basic red 46. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 118: 311–31.
34. Brach S., Peter B., 1999. Kaffee – die Chemie eines alltäglichen Getränkes. <http://www.dr-bernhard-peter.de/Apotheke/Phytochemie/Kaffee.htm> (accès le 28/04/2015).
35. Bremer B., Andreasen K., Olsson D., 1995. subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on rbcL sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82:383-397 (1995) <http://biostor.org/reference/12978>.
36. Bressani R., 1978. Subproductos del fruto de café, in *Pulpa de café: composición, tecnología, y utilización*, Braham J.E. & Bressani R. (Eds) INZAP, 9-17.
37. Breton C., 2006. Reconstitution de l'histoire de l'olivier (*Olea europaea* subsp. *Europaea*) et de son processus de domestication en région méditerranéenne, étudiés sur des bases moléculaires. Thèse de Doctorat Biologie des Populations et Ecologie. Université Paul Cézanne, France.
38. Breton C., Berville A., 2012. L'histoire de l'olivier reconstituée à partir de données génétiques : in *L'histoire de l'olivier*. Editions Quæ, pp. 47 -72.
39. Breton C., Médail F., Pinatel C. et Berville A., 2006. De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers Agricultures* (John Libbey, Eurotext), 15 (4).
40. Buchanan P.K., 1993. Identification, names and nomenclature of common edible mushrooms. Chapter 2, *Proceedings 2nd International Conference Mushroom Biology and Mushroom Products*. p.21-32
41. C.I.R.A.D., 2009. Tout savoir sur le caféier. www.cirad.fr. accès le 10/04/2015.
42. Caetano, N., Silva, V., Mata, T.M. (2012). Valorization of coffee grounds for biodiesel production. *Chemical Engineering Transactions*, 26, 267-272.

43. Cannon P. F., Kirk P. M., 2007. Fungal families of the world. CABI Publishing Series. 456p.
44. Caputo M.C., De Girolamo A.M., Volpe A., 2013. Soil amendment with olive mill wastes: Impact on groundwater. *Journal of Environmental Management* 131: 216-221.
45. Carpentier J.L., 1971. Le champignon de couche. Les manuels professionnels horticoles. Editions J.-B. Baillière et fils, 159 p.
46. Caruso G., 1883. Dell'olivo monografia. Con. 129 figure intercalate nel testo e 23 tavolo litografate. Estratto dall' *Enciclopedia Agraria*, Volume terze; Parte quinta. Tarino, Unione Tipografico-editrice. Published by Forgotten Books in 2013, 264p.
47. CAR/PP (Centre d'Activités Régionales pour la Production Propre), 2000. Prévention de la pollution dans la Production d'huile d'olive Plan d'Action pour la Méditerranée (PNUE). Ministère de l'Environnement, Espagne, Gouvernement de la Catalogne Ministère de l'Environnement et du Logement, 142 p.
48. C.N.R.S. (Centre National de la Recherche Scientifique), 2011. Domestication du blé, quand l'évolution des gènes fait bien les choses. Communiqués de presse du CNRS, <http://www2.cnrs.fr/presse/communique/2351.htm>, Paris, 15 Novembre.
49. Chaabane K., Bergaoui R., Ben Hamouda M., 1997. Utilisation de différents types de grignons d'olive dans l'alimentation des lapereaux. *World Rabbit Science*, 5 (1) : 17-21
50. Chaboud A., 2013. Impact de l'approche moléculaire sur la classification systématique des Agaricomycetidae. these presentee pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'Etat. Université Joseph Fourier, Faculté de Pharmacie de Grenoble ; 95p.
51. Charrier A., 1982. Amélioration génétique des cafés. *La Recherche*, 136 (13) : 1006-1008
52. Charrier A., Berthaud J. 1975. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. *Café, Cacao, Thé*, vol XIX n°4 : 251-264.
53. Chauvet M., 2013. Les céréales de la tribu des Triticées. *Forum détermination*, le 26Août. www.tela-botanica.org/projets/108/telechargement/21390 (Accès le 07/06/2015).
54. Chemani H., 2013. Valorisation des déchets solides d'huilerie et leur adjonction dans les masses pour fabrication des tuiles de terre cuite, en vue d'améliorer leurs propriétés physico-mécaniques. 21^{ème} Congrès Français de Mécanique, Bordeaux, 26 au 30 Août

55. Chen G. BSc, 1996. Studies on extracellular polysaccharide degrading enzymes secreted by *Pleurotus ostreatus* grown on lupin hull A thesis submitted to the Victoria University of Technology for the degree of Master of Science, Centre for Bioprocessing and Food Technology, 227p.
56. Chen J, Seviour R., 2007. Medicinal importance of fungal beta-(1-->3), (1-->6)-glucans. *Mycological Research*. [Review].111(6):635-52.
57. Chevalier A., 1942. Le Statut actuel du genre Coffea L. In: *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*. 22e année, bulletin n°247-248, Mars-avril pp. 129-150. doi : 10.3406/jatba.1942.1687
url :/web/revues/home/prescript/article/jatba_0370-3681_1942_num_22_247_1687 Consulté le 05 mars 2015
58. Chevalier A., 1948. L'origine de l'Olivier cultivé et ses variations. In *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale*. 28^e année, bulletin n°303-304, Janvier-Février, pp.1-25. (http://www.persee.fr/web/revues/home/prescript/article/jatba_0370-5412_1948_num_28_303_2098).
59. Chimi H., 2006. Technologies d'extraction de l'huile d'olive et gestion de sa qualité. *Bulletin mensuel de liaison de d'information du PNTTA-Transfert de Technologie en Agriculture*. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes, Royaume du Maroc. <http://www.agrimaroc.net/bul141.htm>
60. Clerget Y. 2011. Biodiversité des céréales : Origine et évolution. Extrait de la vidéoconférence du Service éducatif du Muséum Cuvier de la Ville de Montbéliard « La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme » publié dans le bulletin 2011 de la Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard.
61. Cline E., 2006. *Auricularia auricula-judae*. *Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA*. Retrieved septembre 27, 2014, from /sbmlweb/OnlineResources/FungiOnline.cfm.
62. Comité Français du Café: <http://www.comitefrancaisducafe.fr/> consulté le 24/02/2015.
63. Coste, R. (1989). *Caféiers et cafés*. Edition Maisonneuve et Larose. Paris. 373p.
64. Costentin J., Delaveau P., 2010. *Café, thé, chocolat, les bienfaits pour le cerveau et le corps*. Ed. Odile Jacob, 273 p.

65. Courtecuisse, R. et Duhem, B., 2011. Guide des champignons de France et d'Europe. Delachaux et Niestlé Editeurs, Paris, 544p.
66. Cramer P.J.S., 1957. A review of literature of coffee research in Indonesia from about 1602-1945. Ed. Frederick L. Wellman, SIC Editorial Inter-American Institute of Agricultural Sc. [Http://Books.google.fr/](http://books.google.fr/)
67. Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. (https://fr.wikipedia.org/wiki/Classification_de_Cronquist).
68. Cronquist, A. 1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. (https://fr.wikipedia.org/wiki/Classification_de_Cronquist).
69. Cruz, R., Baptista, P., Cunha, S., Pereira, J.A., Casal, S. (2012). Carotenoids of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown on soil enriched with spent coffee grounds. *Molecules* 2012, 17, 1535-1547.
70. Cuevas M., Sanchez S., García J.F., Baeza J., Parra C., Freer J., 2015. Enhanced ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation of pretreated olive stones. *Renewable Energy*, 74: 839-84
71. Dadant R., 1954. Le caféier en Nouvelle-Calédonie, ses maladies. *L'Agronomie Tropicale*, Vol. IX, n°1, pp 49-58.
72. Daviron B., Lerin B., 1990. Le café. Ed. Cyclope, Economica. 106p.
73. Davis A.P., Govaerts R., Bridson D.M., Stoffelen P., 2006. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152 (4): 465–512.
74. Delpech P., Olivier J.-M., 1990. Champignon parfumé (ou shii-take) - Une méthode française pour sa culture. *Rev. Hortic.* 305 25-30.
75. Dermeche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P., 2013. Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry* 48 (10): 1532–1552
76. Djadouf S., Tahakourt A., Chelouah N., Merabet D., 2011. Etude de l'influence des ajouts (grignon d'olive et foin) sur les caractéristiques physico-mécaniques de la brique de terre cuite. *Communication Science & Technologie (COST) n°9*, 7p.

77. Djermoun A., 2009. La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*. (1) : 45 – 53.
- Debiton C., 2010. Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum* L.) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. *Life Sciences*. Thèse présentée pour le grade de docteur d'université, spécialité : physiologie et génétique moléculaires, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 132p.
78. Dorich R A, Nelson D W 1983. Direct colorimetric measurements of ammonium in potassium chloride extracts of soils. *Soil Sci Soc Am J* 47, 833-836.
79. Duarte J.C. , Pires S.O., Paixão S.M., Céu Sâágua M., 2011. New approaches to olive mill wastes bioremediation. Chapter 11. In: *Olive Oil and Health* ISBN: 978-1-61728-653-7 Editor: James D. Corrigan. Nova Science Publishers, Inc.
80. Dugelay A., 1954. Le problème de l'olivier. *Revue Forestière Française*, (7) : 444-462.
81. Durrieu G., 1993. *Ecologie des champignons*. Collection d'écologie, édition Masson, Paris Milan Barcelone Bonn , 207 p.
82. El Madidi S., El Baroudi B., Bani Aameur F., 2004. Effects of salinity on germination and early growth of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Int. J. Agri. Biol.*, 6 (5): 767–770.
83. El-Mekkawy, S., M. R. Meselhy, N. Nakamura, Y. Tezuka, M. Hattori, N. Kakiuchi, K. Shimotohno, T. Kawahata, T. Otake, 1998. AntiHIV-1 and Anti-HIV-1-Protease Substances from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry* 49(6): 1651-1657
84. Ennaciri Naami K., 2010. Le marché du café, Consommation et évolution. *Food Magazine* n°19, du 15 Février au 15 Mars. pp 25-27.
85. Esteve C., Marina M.L., García M.C., 2015. Novel strategy for the revalorization of olive (*Olea europaea*) residues based on the extraction of bioactive peptides. *Food Chemistry*, 167: 272–280.
86. Fan L., Soccol A.T, Pandey A, Vandenberghe L.P.S., Soccol C.R., 2006. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of *Pleurotus* on coffee husks. *Brazilian Journal of Microbiology* (2006) 37:420-424
87. Fan L, Zhang S, Yu L, Ma L. 2007. Evaluation of antioxidant property and quality of breads containing *Auricularia auricula* polysaccharide flour. *Food Chemistry*; 101(3):1158-63.

88. Farah A., 2012. Coffee constituents. Coffee: Emerging health effects and disease prevention, first Edition. Edited by Yi-Fang Chu. John Wiley & Sons, Inc. published by Blackwell Publishing Ltd, p 21-58.
89. Fazuoli L.C., Perez Maluf M., Guerreiro Filho O., Medina Filho H., Silvarolla M.B., 2000. Breeding and biotechnology of coffee, Chapter 3 in T. Sera et al. (eds.), Coffee Biotechnology and Quality, Kluwer Academic Publishers, pp. 27-45. fr.wikipedia.org/wiki/Caféier (consulté le 05/03/2015).
90. Feretti, G. et Scalabre, J.L. 1978. Perspectives offertes pour une meilleure valorisation des grignons. In Séminaire sur l'Olivier et autres plantes oléagineuses cultivées en Tunisie. Mahdia. 3-7 juillet 1978. Tunisie.
91. Fernández-Bolaños J., Rodríguez G., Rodríguez R, Guillén R., Jiménez A., 2006. Potential use of by-products. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. *Grasas Y Aceites*, 57 (1), ENERO-MARZO, 95-106.
92. Février C.A., Willequet F., 2009. Valorisation par l'alimentation animale in Moletta René. Le traitement des déchets. Editions TEC & DOC, Lavoisier.
93. Fourret G., 1990. Dernières nouvelles des champignons. Edité par l'auteur 337 p.
94. FRCA Picardie et COOPERENERGIE (Fédération Regionale des Coopératives Agricoles), 2008. Exporter des pailles sans risque pour l'état organique des sols. Guide de décision à la parcelle. AGRO-TRANSFERT-ARVALIS-INRA-LDAR-Chambres d'agriculture de Picardie. 12p.
95. Fukushima M. Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K., Nakano M., 2001. Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Society for Experimental Biology and Medicine*. 226 (8):758-765.
96. Garret R.-H., Grisham C.M., 2000. Biochimie. Traduction de la 2^e édition américaine par Bernard Lebochinsky, De Boeck Université.-1253p.
97. Gallais A., Bannecot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Edition INRA, Paris, Mieux comprendre.

98. Geiger J.-P ; 1975. Aspects physiologiques et biochimiques de la spécialisation parasitaire. Cas particulier des *Corticium rolfsii* (Sacc.) eurzi et *Leptoporus lignosus* (Kl.) Heim ex Pat. Etude in vitro. *Physiol. Vég.*, 13 (2), 307-330.
99. Gibriel AY, Ahmed M, Rasmay N, Rizk I, Abdel-Rehem N S, (1996) Cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus* spp.): Evaluation of different media and organic substrates. *Mushroom Biol. Mushroom Prod.*, Royse (ed.) pp 415-421.
100. Gisaro C.-M. Y.-B. , 2013. La structuration du monde paysan au Rwanda : cas des coopératives et des stations de lavage de Maraba et de Karaba, District de Huye. Thèse de doctorat en français. Belgique, Université de Liège-Gembloux Agro-BioTech. 204 p, 53 tab. 32 fig. et 3 cartes.
101. Givelet P.-H., 2011. Compléments alimentaires à base de champignons. Diplôme d'études spécialisées de Docteur en Pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. Université de Lille 2. 92p.
102. Gokulakrishnan S., Chandra J., Sathyanarayana K., Gummadi N., 2013. Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine. *Enzyme and Microbial Technology*, 37, 225-232. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Fruits/cafe.htm>
103. Gomes, T., Pereira, J.A., Ramalhosa, E., Casal, S, Baptista, P. (2013). Effect of fresh and composted spent coffee ground on lettuce growth, photosynthetic pigments and mineral composition, IIV Congreso Ibérico de Agroingeniería Y Ciencias Hortícolas, Madrid.
104. Grandjean P., Tulet J.-C., 2000. Le café, culture exemplaire du Brésil. In: *Caravelle*, n°75. Nouveaux Brésils – Fin de siècle. pp. 93-108. doi : 10.3406/carav.2000.1260. url : /web/revues/home/prescript/article/carav_1147-6753_2000_num_75_1_1260 ; Consulté le 14 mars 2015.
105. Guenoun H., 2007. Valorisation d'un déchet oléicole : le grignon d'olive par la culture du champignon de couche *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. Mémoire de magister en Sciences Agronomiques, option Aménagement intégré et mise en valeur des Bassins Versants, FSBSA UMMTO, 95p.
106. Guiga W., 2006. Identification des inhibiteurs de la germination de l'orge et mise au point d'un procédé de traitement des eaux de trempage en malterie en vue de leur recyclage. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, Spécialité Biotechnologies et Industries Alimentaires, Nancy, France, 190p.

107. Guillaumin J.J., Legrand P., Lung-Escarmant B., Botton B., 2005. L'armillaire et le pourridié- agaric des végétaux ligneux. Edition Quae. France, 487 p.
108. Guimberteau J., 1995. Définition et position taxonomique du genre *Pleurotus* dans la classification des champignons. Dossier Pleurote, 11^{ème} édition, INRA Centre de recherches de Bordeaux, Station de Recherche sur les Champignons. Villenave d'Ornon, p.1013.
109. Haddad T., 2014. Valorisation d'un résidu de l'oléiculture (grignon d'olive) par la culture d'un champignon comestible : Influence de la taille des blocs de culture sur les rendements. Mémoire de Master II en Biologie option Oléiculture et Oléitechnie, Département de Biologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 60 p.
110. Hadjou L., Lamani O., Cheriet F., 2013. Labellisation des huiles d'olive algériennes: contraintes et opportunités du processus? *New Medit (A Mediterranean Journal of Economics, Agriculture and Environment)*, vol 12 (2): 35-46.
111. Haider K., 2012. La production oléicole a baissé de plus de 35%. www.algerie1.com
112. Haler P.N.G., 2013. Le café: les effets bénéfiques et néfastes sur la santé. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine, 175p.
113. Hamid A., Bibi Z., Ghafoor I., Anwar Z., Khattak J.Z.K. 2013. Approach of Bioremediation in Olive Oil and Dairy Industry: A Review. *Res. J. Appl. Sci. Eng. Technol.*, 5(6): 2255-2263.
114. Hammami M., 2013. Huile d'olive extra vierge – aliment clé de la diète méditerranéenne- Working Group 2, Mediterranean Diet Forum, Imperia. www.promimperita.it/media/9052/wg2_2_fra_hammami_tunisia.pdf.
115. Hibbett D.S., R. Bauer, M. Binder, A.J. Giachini, K. Hosaka, A. Justo, E. Larsson, K.H. Larsson, J.D. Lawray, O. Miettinen, L.G. Nagy, R.H. Nilsson, M. Weiss and R.G. Thorn, 2014. Agaromycetes. In *Systematics and Evolution*, 2nd Edition, The Mycota VII Part A. D.J. McLaughlin and J.W. Spatafora (Eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 373-429.
116. Hodaifa G., Ben Driss Alami S., Ochando-Pulido J.M., Víctor-Ortega M.D., 2014. Iron removal from liquid effluents by olive stones on adsorption column: breakthrough curves. *Ecological Engineering*, 73: 270–275.

117. Houessou J.K., 2007. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le café : mise au point de méthodes analytiques et étude de l'étape de torréfaction. Thèse de Doctorat de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, discipline : Chimie Analytique, Ecole doctorale ABIES, AgroParisTech, 252p.
118. Houmani M., 2002. Evolution de la valeur nutritive des chaumes de blé dur PTURS et INTRT pour des brebis gestantes. Recherche Agronomique. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, (11) : 49 - 56.
119. Huetz de Lempis A., 2001. Boisson et civilisation en Afrique. Grappes & Millésimes, Presses Universitaires de Bordeaux, Pessac. 665p.
120. Huyghe A., 2014. Bienfaits et limites de la consommation de caféine. Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, Université de Lille 2, France; 178p.
121. I.C.O. (International Coffee Organization), 2015. Botanical Aspects. 5p. <http://www.ico.org/> (Accès le 13/04/2015)
122. Ignasse J., 2013. Il faut sauver l'olivier du Sahara. Sciences & Avenir. <http://www.sciencesetavenir.fr/nature-environnement/20130403.OBS6506/il-faut-sauver-l-olivier-du-sahara.html>
123. Illy E., 1967. Possibilités d'emploi dans les états membres de la CEE du café «robusta» produit par les états Africains et Malgache associés. Etude réalisée pour le compte de la Commission des Communautés Européennes, Direction Générale du Développement de L'Outre-mer. 97p.
124. International Plant Names Index, 2005. (15/04/2015).
125. Ishikawa N.K,¹ Tahara .S., Namatame T,² Farooq A., Fukushi Y., 2013. Use of P450 cytochrome inhibitors in studies of enokipodin biosynthesis. Braz J Microbiol. 2013 Dec; 44(4): 1285–1290.
126. Islam M Z, Rahman M H, Hafiz F (2009) Cultivation of Oyster mushroom (Pleurotus flabellatus) on different substrates. Int. J. Sustain. Crop Prod. 4(1): 45 – 48
127. Ismaël K., N'goran K., Ahoutou K. N'gouandi L., Abé Y., Amani K, Zahouli I.B., 2005. Bien cultiver le caféier Robusta en Côte d'Ivoire. Direction des programmes de recherche et de l'appui au développement, Direction des systèmes d'information, Centre National de Recherche Agronomique.

128. Jayakumar T, Thomas PA, Geraldine P., 2007. Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Exp Gerontol.* 42(3):183-91.
129. Jeanguyot M., Séguier-Guis M. , Duris D., 2003. *Terres de café.* CIRAD, Magellan & Cie. 147 p.
130. Jha S., Bacon C.M., Philpott S.M., Rice R.A., Méndes V.E., Läderac P., 2011. A Review of Ecosystem Services, Farmer Livelihoods, and Value Chains in Shade Coffee Agroecosystems. *Agroecology– Present Status and Future prospectus Vol. 1:* 141-208.
131. Jones K.L., Grainger J.M., 1983. The application of enzyme activity measurements to a study of factors affecting protein, starch and cellulose fermentation in domestic refuge. *Eur. Microbiol. Biotechnol.*, 18The
132. Kadi L., 1998. Valorisation des copeaux de hêtre et marc de raisin par la culture de champignons comestibles : Pleurote en forme d’huitre (*pleurotus ostreatus* (Jacq : Fries) Kummet) et le Shi-Take (*Lentinus edodes* (berk.) Sing.) après production de blanc. Mémoire de magister en Sciences Agronomiques, option Aménagement intégré et mise en valeur des Bassins Versants, Spécialité : Edaphologie, FSBSA UMMTO, 123p.
133. Kalamee K., 2007. Checklist of some pleurotoid fungi (Agaricomycetidae, Basidiomycetes) of Estonia *Folia Cryptog. Estonica, Fasc. 43:* 13–15 (2007)
134. Kaouah F., Boumaza S., Berrama T., Trari M., Bendjama Z., 2013. Preparation and characterization of activated carbon from wild olive cores (oleaster) by H_3PO_4 for the removal of Basic Red 46. *Journal of Cleaner Production*, 54: 296-306.
135. Kapellakis I.E., Tsagarakis K.P., Crowther J.C., 2008. Olive oil history, production and by-product management. *Rev Environ Sci Biotechnol* 7(1): 1–26.
136. Kapoor P.; Sharma B.M., 2014. Studies on different growth parameters of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3 (4): 1515 – 1524.
137. Khatib A, Aqra F, Yaghi N (2010) Biological degradation of olive mill solid wastes produced from olive oil extraction. *J. Emerg. Trends Eng. Appl. Sci.* 1 (1): 79-84.

138. Killi D., Kavdı Y., 2013. Effects of olive solid waste and olive solid waste compost application on soil properties and growth of *Solanum lycopersicum*. International Biodeterioration & Biodegradation 82 157-165.
139. Kurt S., Buyukalaca S., 2010. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. Bioresource Technology, (101) 3164–316.
140. Ky C.L., Barre P., Noirot M., 2013. Genetic investigations on the caffeine and chlorogenic acid relationship in an interspecific cross between *Coffea liberica dewevrei* and *C. pseudozanguebariae*. Tree Genetics & Genomes, 9(4): 1043-1049.
141. Laborde J. & Delmas J., 1974. Le pleurote. Revue Horticole n° 145, 39-46.
142. Lakhtar H., 2009. Culture du *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sur résidus oléicoles en fermentation en milieu solide : Transformation des polyphénols des margines. Thèse de Doctorat de l'université Paul Cézanne- Aix Marseille III, Faculté des Sciences et Techniques - Saint Jérôme. Discipline: Biologie des Populations et Ecologie. 170 p.
143. Laribi N., 2009. Oléiculture, l'Algérie en retard par rapport à ses voisins. Journal El Watan du 04/12. Edition électronique.
144. Lashermes P., Anthony F., 2007. Coffee, in C. Kole (Ed.), in Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants ,Volume 6, Technical Crops, chapter 5, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
145. Laufenberg G., Kunz B., Nystroem M., 2003. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. Review paper. Bioresource Technology, 87: 167–198.
146. Laurent P., 2004. La culture du shiitake *Lentinus edodes*. Bulletin de la Société Mycologique des Hautes Vosges n°9, p.8-15.
147. Lazzeri Y., 2009. Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne. L'olivier en Méditerranée, conférence Centre Culturel Français de Tlemcen, Algérie.
148. Lecolier A., 2006. Caractérisation de certains impacts de la mutation Laurina chez *Coffea arabica* L. aux niveaux histo-morphologique et moléculaire. Earth Sciences. Université de la Réunion. Lekounougou S.T., 2008.

149. Evaluation et compréhension des mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois. Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy, 186p.
150. Lekounougou S.T., 2008. Evaluation et compréhension des mécanismes fongiques impliqués dans la dégradation du bois. Thèse de doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I, France ; 147 p.
151. Lelley J., 1984. Les champignons dans votre jardin: culture, récolte, utilisation. Edition Delachaux et Niestlé, 134 p.
152. Lemke G., 1979. Vitesse de croissance et températures létales du mycelium de différentes souches d'*Agaricus bitorquis* en comparaison avec différentes souches d'*Agaricus bisporus* . The International Society of Mushroom Science. 10, 539-550.
153. Lim T.K., 2013. *Coffea canephora* in edible Medicinal and non medicinal Plants : volume5, Fruits, Spinger Science+Business Media Dordrecht, p 680-709.
154. Lin Z. B., Zhang H. N., 2004. Antitumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. Acta Pharmacol. Sin.25, 1387–1395.
155. Ma Z, Wang J, Zhang L, Zhang Y, Ding K., 2010. Evaluation of water soluble β -d-glucan from *Auricularia auricular-judae* as potential anti-tumor agent. Carbohydrate Polymers. 2010; 80 (3): 977-83.
156. Mandeel Q.A., Al-Laith A.A., Mohamed S.A., 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 21:601–607.
157. Mane V P, Patil S S, Syed A A, and Baig M.M.V., 2007. Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural waste into edible protein by *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. J. Zhejiang Univ. Sci B. 8(10): 745–751
158. Mansour – Benamar M., Savoie J.-M., Chavant L., 2013. Valorization of a solid olive mill wastes by cultivation of a local strain of edible mushroom. Comptes Rendus Biologies, 336, 407- 415.
159. Mansour-Benamar M., Mansour M., Ammar-Khodja N., Chavant L., 2011. La pleuroticulture, une nouvelle culture pour l'Algérie? Colloque : 3^{ème} Colloque FRD 2011: La Production et la Productivité pour une Agriculture Durable- -Tlemcen- 12-14 Décembre 2011.

160. Mansour-Benamar M., Ammar-Khodja N., Chavant L., 2010. Valorisation du grignon d'olive par la culture d'une souche de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fries) Kummer, isolée à Oued-Aissi (Tizi-Ouzou, Algérie). Journées d'études: Les Journées Internationales de Biotechnologie 2010 de l'Association Tunisienne de Biotechnologie. 19 - 22 Décembre, Yasmine Hammamet, Tunisie.
161. Mansour-Benamar M., Aoudia S., Ammar-Khodja N., 2014 a. Valorization of Coffee-Grounds Supplemented with Wheat Straw by Cultivation of a *Pleurotus ostreatus* Local Strain. Chapter 12. In *Mushrooms: Cultivation, Antioxidant Properties and Health Benefits*, Editor: Grégoire PESTI, Nova Science Publishers, Inc., pp: 227-242.
162. Mansour-Benamar M., Chavant L., 2010. Guide illustré de la culture d'un champignon comestible: le Pleurote en huître. Editeur : Editions El-Amel. Dépôt légal : 3911 – 2010 ISBN : 978 -9947- 30 - 060 -2.
163. Mansour-Benamar, M., Savoie, J.-M., Chavant, L., Lebsir, R. (2007). Valorisation du marc de café brut par la culture d'une souche locale de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus*. *Sciences Technologies & Développement*. A.N.D.R.U. (2):102 – 116.
164. Marc J.-Y., 2010. Identifier les céréales cultivées de la région toulousaine. *Isatis* (10) : 58-65.
165. Marcolongo L., Ionata E., La Cara F., Amore A., Giacobbe S. , Pepe O., V. Faraco, 2014. The effect of *Pleurotus ostreatus* arabinofuranosidase and its evolved variant in lignocellulosic biomasses conversion. *Fungal Genetics and Biology* 72 (2014) 162–16.
166. Martin J.M., 1970. Le caféier, Cours E.N.S.A. 1969-1970, Abidjan, 72p.
167. Mata G., Delpech P., Savoie J. M., 2001. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted to efficient mycelia growth on wheat straw. *Rev. Iberoam Micol.* 18: 118-122
168. Mata G., Savoie J.-M.; 1998. Extracellular enzyme activities in six *Lentinula edodes* strains during cultivation in wheat straw. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **14** : 513-519.
169. Matheny B.P., Hofstette V., Aim M.C., Moncalvo J.M., Ge Z.-W., Yang Z.-L., Slot J.C., Ammirati J.F., Baroni T.J., Bougher N.L., Hughes K.W., Lodge D. J., Kerrigan R. W., Seidl M.T., Aanen D.K., DeNitis M., Daniele G.M., Desjardin D.E., KROPP B.R., Norvell L.L., Parker A., Vellinga E.C., Vilgalys R., Hibbett D., 2006. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia*, 98(6): 982–995.

170. Mathieu, C. & Pieltain, F., 2003. Analyse chimique des sols- Méthodes choisies. Edition TEC & DOC Lavoisier, 387 p.
171. Mendil M., 2009. L'oléiculture : Expériences algériennes. *Innove*, n°4, p.6.
172. Min, B. S., J. J. Gao, N. Nakamura, M. Hattori, 2000. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against Meth-A and LLC tumor cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 48(7): 1026-1033.
173. Molina E., Aguilera J.F., 1991. Utilisation des sous-produits de l' olivier dans l' alimentation des ovins. In : Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). Fourrages et sous-produits méditerranéens . Zaragoza : CIHEAM, 16)(: 163-166 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens)
174. Montigaud I., My J., 1994. Produire pour servir les hommes, protéger pour produire. II- Le cotonnier, la pomme de terre, le soja, le caféier victimes de leurs ennemis. *Phytoma- la défense des végétaux* n°460 : 45-47.
175. Morillo J.A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., Ramos-Cormenzana A., Russel N. J., 2009. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82:25-39.
176. Mouly A., 2008. Systématique de la tribu des Ixoreae A. Gray(Rubiaceae): phylogénie, biogéographie et taxinomie, *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, 155:3, 457-464, DOI: 10.1080/12538078.2008.10516125. <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2008.10516125>
177. Moussouni A., 2009. L'oléiculture : Technologie et développement. *Filaha Innove*, n°4, pp 8-9.
178. Mouton R., 2012. Grignons d'Olives et Compost. Matières organiques, Fiche n°23 « Rappels réglementaires ». *Agriculture &Terroir*. Chambre d'Agriculture, Provence - Alpes-Côte d'Azur, 4p.
179. Muller R.A., 1973. L'antracnose des baies du caféier d'Arabie (*Coffea arabica* L.) due à une forme virulente de *Colletotricum coffeanum* Noack. *Café, Cacao, Thé*, vol. XVII, Octobre - Décembre, pp.281 – 311.

180. Murthy P.S., 2011. Biotechnological approaches to production of bioactives from coffee by-products. Thesis of Doctor of Philosophy in Biotechnology, Department of Plantation Products, Spices and Flavor Technology, Central Food Technological Research Institute, Council of scientific and Industrial Research, University of Mysore, India.
181. Murthy P.S., Naidu M.M., 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling* (66) 45–58.
182. Mussatto S.I., Carneiro L.M., Silva J.P.A., Roberto I.C. Teixeira J.A., 2011a. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers* (83) 368–374.
183. Mussatto S.I., Machado E.M.S., Martin S., Teixeira J.A., 2011b. Production, composition and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioprocess Technology*, 4, 661-672
184. Nasini L., Gigliotti G., Balduccini M.A., Federici F., Cenci G., Proietti P., 2013. Effect of solid olive-mill waste amendment on soil fertility and olive (*Olea europaea* L.) tree activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 164: 292–297.
185. Nefzaoui A., 1991 Valorisation des sous-produits de l'olivier. In: Tisserand J.-L. (ed.), Alibés X. (ed.). *Fourrages et sous-produits méditerranéens*. Zaragoza : CIHEAM, 1991. p. 101-108 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 16).
186. Nieto L.M., Ben Driss Alami S., Hodaifa G., Faur C., Rodríguez S, Giménez J.A., Ochando J., 2010. Adsorption of iron on crude olive stones. *Industrial Crops and Products*, 32: 467–471.
187. Nieuwenhuijzen B. V., 2007. La culture des champignons à petite échelle, *Agaricus* et *Volvariella*. 1^{ère} édition, Agrodok 41, Fondation Agromisa et CTA, Wageningen. Imprimé par Digigrafi, Wageningen, Pays-Bas, 90p.
188. Nyabyenda P., 2006. Les cultures industrielles et d'exportation, chapitre 2, in *Les plantes cultivées en région tropicales d'altitude d'Afrique*, Edit. les Presses Agronomiques de Gembloux, A.S.B.L., Belgique.
189. Oddoux L., 1957. Recherches sur les mycéliums secondaires des Homobasidiés en culture pure: morphologie; cytologie; exigences alimentaires. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Lyon.

190. O.I.C. (Conseil international du Café), 2014. Le commerce mondial du café (1963 - 2013) : Étude des marchés, des défis et des possibilités du secteur. 112^e session, 3 – 7 Mars. Londres, Royaume-Uni Original: français, <http://dev.ico.org/documents/cy2013-14/icc-111-5-r1f-world-coffee-outlook.pdf> (Accès le 14/05/2015).
191. O.I.C. (Organisation International du Café), 2011. Règlement sur les statistiques. Rapports statistiques. Londres, Royaume Uni, 8 p + 10 annexes.
192. Oei P., 1993. La culture des champignons. Collection « le point sur » Guide technique. Traduction Christine Nédelec, Révision Jean Laborde. Ministère Français de la Coopération. CTA.TOOL.GRET. 320 p.
193. Oei P., Nieuwenhuijzen B. V., 2005. La culture des champignons à petite échelle, pleurotes, shiitakes et auriculaires. 1^{ère} édition, Agrodocus40, Fondation Agromisa et CTA, Wageningen. Editeur Janna de Feijter. 86p.
194. Olivier J M, Laborde J, Guimberteau J, Poitou N, Houdeau G, Delmas J (1991) La culture des champignons. Ed. Armand Colin? 160 p.
195. Olivier J.M (1991) Champignons. Tech. Agric. 2170.
196. OPAT (Organisation de la Production et de l'Appui Technique), 2009. Situation oléicole dans la wilaya de Tizi-ouzou, 10 p.
197. Pacioni J., 1987. La culture du champignon de couche. Editions De Vecchi S.A Paris.
198. Pang X, Yao W, Yang X, Xie C, Liu D, Zhang J, Gao X., 2007. Purification, characterization and biological activity on hepatocytes of a polysaccharide from *Flammulina velutipes* mycelium. Carbohydrate Polymers. 70(3):291-297.
199. Paterson RR., 2006. Ganoderma - a therapeutic fungal biofactory. Phytochemistry. 67(18):1985-2001.
200. Philippoussis A. N, 2009. Production of mushrooms using agro-industrial residues as substrates: in P. Singh nee' Nigam, A. Pandey (eds), Biotechnology for agro-industrial residues utilization. Springer Science +Business Media B.V. pp163-196.
201. Piot J., 1983. La culture du shiitake japonais, champignon lignivore de grande qualité. Revue forestière française vol35 n°special.

202. Prévot P., 1964. Physiologie des plantes tropicales cultivées, Cahiers O. R. S. T. O. M. Vol.I 1, 62 p.
203. PROCAFE (Association pour la promotion du café). La culture et la transformation du café (Accès le 13/04/2015).
204. Pujol D., Liu C., Gominho J. Olivella M.À, Fiol N., Villaescusa I., Pereir H., 2013. The chemical composition of exhausted coffee waste *Industrial Crops and Products* 50: 423–429
205. Rabechault H., Cambrony H., 1964. La physiologie du caféier : de la germination a la morphogénèse- in PREVOT. P. éditeur, physiologie des plantes tropicales cultivées Vol. 1. 1- Cahiers O. R. S. T. O. M, Paris, 59 p. <http://horizon.documentation.ird.fr>
206. Rabhi M., 2005. Café : “60 à 70% des produits commercialisés au noir”. Publié dans Liberté le 21 Décembre, 2p. <http://www.djazairess.com/fr/liberte/49628> (accès le 19/05/2015).
207. Radha K. V., Lakshmanan D., 2013. A review: lovastatin production and applications. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 6, Issue 3, 2013, 21-26.
208. Rahman H., 1999. Substrate utilization through mushroom cultivation In Bangladesh. 3rd International Conference on Mushroom Biology & Mushroom products and AMGA's 26th National Mushroom Industry Conference. Sydney, Australia.
209. Raimbault M., 1981. Fermentation en milieu solide, croissance de champignons filamenteux sur substrat amylacé. Travaux et Documents de L’Office de la Recherche Scientifique et Technique d’Outre Mer. 150 p.
210. Ramos-Cormenzana A., Monteoliva-Sanchez M., Lopez M. J., 1995. Bioremediation of Alpechin *International Biodeterioration & Biodegradation*, 35: 249-268.
211. Raoul E. F. A., Darolles J.-B.-H.-E., 1897. Manuel des cultures tropicales. Tome II, 1ère partie, Culture du caféier : semis, plantation, taille, cueillette, dépulpation, décorticage, expédition, commerce, espèces et races. Éditeur(s) : Paris : A. Challamel. 268p. Ouvrage patrimonial de la Bibliothèque numérique de manioc. Université des Antilles et de la Guyane, service commun de la documentation. Conseil Général de la Martinique, Bibliothèque Schœlcher. (<http://www.manioc.org/patrimon/SCH13285>).
212. Rapilly F., 1968. Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Épiphyties*, 1968, 19(n° hors-série), 102 p.

213. Rastoin J.-L., Benabderrazik E.H., 2014. Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb pour un co-développement de filières territorialisées, chapitre1 : Algérie, une agriculture sous fortes contraintes. Institut de Prospective Economique du Monde Méditerranéen (IPMED), Construire la Méditerranée, 32p.
214. Rodríguez G., Lama A., Rodríguez R., Jiménez A., Guillén R., Fernández-Bolaños J., 2008. Olive stones an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technology* (99): 5261–5269.
215. Roig A., 2006. An overview on olive mill wastes and their valorization methods. *Waste Manag.* 26 (9): 960-969.
216. Rosado F.R., Kimmelmeier C. et Da Costa M.G., 2002. Alternative method of inoculum and spawn production for the cultivation of the edible Brazilian mushroom *Pleurotus ostreoroseus* SING., *J. Basic Microbiol.* 42 1: 37-44.
217. Rouina A.D., 1986. Intérêt des sous-produits de l'oléiculture en alimentation animale. Collection le cours d'agronomie, office des publications universitaires, Ben Aknoun, Alger, Algérie, 55p.
218. Roussos S., Perraud-Gaime I., Lakhtar H., Aouidi F., Labrousse Y., Belkacem N., Macarie H., Artaud J., 2009. Valorisation biotechnologique des sous produits de l'olivier par Fermentation en Milieu Solide. Olivebioteq, "Pour un secteur oléicole rénové, rentable et compétitif en Méditerranée"(For a renovated, profitable and competitive Mediterranean olive growing sector), 15 au 19 décembre à Sfax (Tunisie). Proceedings édités par Karray B. et Khecharem J.(IO, Tunisie) et Roussos S.(IRD, France), pp. 294-300.
219. Roux D., Catier O., 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. Cahiers du préparateur en pharmacie, 3^{ème} édition Collection porphyre, Walters Kluwer, p. 105.
220. Runavot J.-L., 2011. Maltage à faible hydratation : dégradation des structures pariétales, diffusion et modification des protéines aleuroniques et caractérisation des barrières hydrophobes cuticulaires. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques et Médicales, Spécialité : Biochimie. École doctorale VENAM. Faculté des Sciences et des Techniques. Université de Nantes, France, 140p. Tahar A., 2013. Filière céréales : Etats des lieux. Perspectives, *Revue du Forum des Chefs d'Entreprises*, n°9, 3^{ème} trimestre, p.15-19.

221. Rupić V., Škrlin J., Mužić S., Šerman V., Stipić N., Bačar-Huskić L., 1999. Proteins and fats in the serum of rabbits fed different quantities of dried olive cake. *ACTA VET. BRNO* 1999, 68: 91–98.
222. Saar M. & Parmasto E. (2014). Primary basidiospore charge and taxonomy of Agaricomycetes. *Cent. Eur. J. Biol.* 9(9) : 874-887
223. Safarik I., Horská K., Svobodová B., Safariková M., 2012. Magnetically modified spent coffee grounds for dyes removal, *European Food Research and Technology*, 234, 345-350.
224. Salhi-Mohand ou Saïd O., 2004. Valorisation de sous-produits et déchets lignocellulosiques par culture de micro-organismes cellulolytiques. Thèse de Doctorat d'état en Sci. Agron. Inst. Natl. Agron., El Harrach, Alger, 140 p.
225. Sanchez J.M., Jimenez J.A.P., Villanueva M.J. D., Serrano A., Núñez N., Gimenez J. L., 2015. New techniques developed to quantify the impurities of olive stone as solid biofuel. *Renewable Energy*, 78: 566-572.
226. Sansoucy R., 1984. Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. Etude FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Production et Santé Animales, 43, Rome. 148p.
227. Savoie J.-M., Bruneau D., Mamoun M., 1996a. Resource allocation ability of wild asolates of *Agaricus bisporus* on nonconventional mushroom compost. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **21**: 285-292
228. Savoie J.-M., Olivier J.-M ; Olivier, Laborde J., 1996b. Changes in nitrogen resources with increases in temperature during production of mushroom compost. *World J. Microbol. Biotechnol.*, 12: 379-384.
229. Savoie J.-M., Stott K., Guinberteau J., 1999. Extracellular enzymes produced by the mushroom *Lepista nuda* during cultivation in compost. 3rd International Conference on Mushroom Biology & Mushroom products and AMGA's 26th National Mushroom Industry Conference. Sydney, Australia.
230. TDC Olive, 2004. By-Product reusing from olive and olive oil production. Setting up a network of Technology Dissemination Centers to optimize SMEs (Systèmes Monétaires Européens) in the olive and olive oil sector. 27p.

231. Terral J.-F., Arnold-Simard G., 1996. Beginnings of Olive Cultivation in Eastern Spain in Relation to Holocene Bioclimatic Changes. *Quaternary Research* 46, 176–185.
232. Theriez M., Boule G., 1970. Valeur alimentaire du tourteau d'olive. *Annales de zootechnie*, 1970, 19 (2): 143-157.
233. Thuilier A., 2013. Diversité fonctionnelle des glutathion transférases fongiques : Caractérisation des classes Ure2p et GTT2 de *Phanerochaete chrysosporium*. Thèse de Doctorat de l'Université de Lorraine en Biologie Végétale et Forestière, France ; 244 p.
234. Trabut L., 1900. L'olivier en Algérie. Editeur Alger-Mustapha Giralt, Imprimeur-Photographeur, 80p. et illustrations. Full text of "L'olivier en Algérie" – Internet. Archive, www.archive.org/stream/lolivierenalgri00trabgoog/lolivierenalgri00trabgoog.
235. Tshilenge P., Nkongolo K. K., Mehes M., Kalonji A., 2009. Genetic variation in *Coffea canephora* L. (Var. Robusta) accessions from the founder gene pool evaluated with ISSR and RAPD. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (3): 380-390.
236. Upadhyay R C, Verma R N, Singh S K, Yadav M C ,2002. Effect of organic nitrogen supplementation in *Pleurotus* species. *Mushroom Biol. Mushroom Prod.* Sánchez et al. (ed.), p. 225-232
237. U.S.D.A., Foreign Agricultural Service, Office of Global Analysis, 2014. Coffee: World Markets and Trade <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/coffee.pdf>,
238. Velázquez - Cedeño M A, Mata G, Savoie J M (2002) Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignolytic enzymes. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 201- 207
239. Velázquez Cedeño M A (2005) Compétition entre *Pleurotus ostreatus* et *Trichoderma* sp en culture sur paille de blé: rôle des communautés bactériennes du substrat et des laccases de *Pleurotus*. Thèse Dr. de l'Univers Paul Cézanne (Aix-Marseille III) en Biol. Pop. Ecol. Ecole Dr. Sc. Environ.
240. Vidaud C., Roussos S., Raimbault M., Deschamps F., 1982. Effet de divers prétraitement sur l'accessibilité de la cellulose de la paille de blé aux cellulases de *Trichoderma harzianum*. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Biol.*, (45) 17-23.

241. Welti S., 2009. Recherches de substances antitumorales à partir de Ganodermes et autres polypores récoltés dans les îles françaises des petites Antilles et contribution à l'inventaire des Ganodermataceae de Martinique, Guadeloupe et dépendances. Médication. Thèse soutenue pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université de Lille Nord de France, Spécialités: Sciences Pharmaceutiques; Université du Droit et de la Santé -Université de Lille Nord de France, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. 257p.
242. Wertz J.-L. , 2011. Les hémicelluloses. Note de synthèse. Document ValBiom- Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège ; 16p.
243. Wierzbicki J., Queyrel A. et Bris A., 2004. De la paille dans mon moteur. Biofutur vol 23 (246) : 15-20.
244. Wong Y.-S., Wang X., 1991. Degradation of tannins in spent coffee grounds by *Pleurotus sajor-caju*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, (7): 573-574.
245. Wood D.A., Goodenough P.W., 1977. Fruiting of *Agaricus bisporus*, changes in extracellular enzyme activities during growth and fruiting. Arch. Microbiol., **114**: 161-165.
246. Yildiz S., Yildiz Ü.C., Gezer E. D., Temiz A., 2002. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. Process Biochem. 38: 301-306.
247. Yoon S.J., Yu M.A., Pyun Y.R., Hwang J.K., Juneja L.R., Mourão P.A., 2003. The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anticoagulant activity mediated by antithrombin. Thromb Res, 112 (3): 151-158.
248. Zahid, M. K., Barua, S. and Haque, I. S. M., 2010. Proximate composition and mineral content of selected edible mushroom varieties of Bangladesh. Bangladesh Journal of Nutrition, 22-23: 61-68.
249. Zeitoun R., 2011. Procédés de fractionnement de la matière végétale. Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse Doctorat de l'Université de Toulouse (France), Institut National Polytechnique de Toulouse, Sciences des Agro-ressources, 288 p.
250. Zervakis G., Philippoussis A., Ioannidou S., Diamantopoulou P., 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions of the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. Folia Microbiol. 46 (3): 231-233.

251. Zervakis G., Yiatras P., Balis C., 1996. Edible mushroom from olives oil mill wastes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, pp 237-243.
252. Zhang H, Wang Z-Y, Zhang Z, Wang X., 2011. Purified *Auricularia auricular-judae* polysaccharide (AAP I-a) prevents oxidative stress in an ageing mouse model. *Carbohydrate Polymers*; 84(1): 638-648.
253. Zied, D.C., Savoie, J.-M., Pardo-Giménez, A. (2011). Soybean the main nitrogen source in cultivation substrates of edible and medicinal mushrooms. *Soybean and Nutrition*, Prof. Hany El-Shemy (Ed.). pp 433-452.
254. Zohary D, Spiegel-Roy P., 1975. Beginnings of fruit growing in the old world. *Science*, 187(4174): 319-327.
255. Zyoud A., Nassar H.N.I., El-Hamouz A., Hilal H.S., 2015. Solid olive waste in environmental cleanup: Enhanced nitrite ion removal by ZnCl₂-activated carbon. *Journal of Environmental Management*, 152: 27-35.

SITES CONSULTÉS:

256. <http://ww.afd.be/~plant-ch/cafeier/sexualit/FLecafe.htm>, Sexualité chez la plantes - Caféier (*Coffea* spp.) - Fleur - AFD (Accès 14/6/2015)
257. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Bibans> (accès3/6/2015)
258. <http://sites.estvideo.net/cafe/préparatin.html> , du caféier à la tasse, préparation (Accès le 13/04/2015).
259. <http://www.afd-Id.org> (AFD= Appui à la formation et développement) (Accès le 14/06/2015).
260. <http://www.awedri.com/café>. Café-Histoire de la culture du café, *Revue des plantes* (Accès le 18/05/2015)
261. <http://www.biacelli.fr/commerceinternational> (Accès le 14/05/2015).
262. <http://www.boitearecettes.com/café/recolte.htm>. Le café, récolte de café (accès le 06/05/2015)
263. <http://www.comptoirs-the-cafe.com/Le-Caf-47.html>

264. <http://www.cropscience.bayer.ca/~media/Bayer%20CropScience/Country-Canada-Internet/Growers%20Tools/Resources-and-Guides/French/un-guide-le-champ-sur-les-stades-de-croissance-des-cereales.ashx> (Accès le 13/06/2015): un guide de champ sur les stades de croissance des céréales, Présenté par le Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales de l'Ontario l'Université de Guelph et Bayer CropScience.
265. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557f/y3557f08.htm#TopOfPage>: Agriculture mondiale: horizon 2015/2030. Rapport abrégé, Perspectives par grand secteur, Production végétale. (Accès le 03/05/2015).
266. <http://www.malongo.com/fr/public/culture.html>(Accès le 13/04/2015).
267. <http://www.malongo.com/valeurs/qualitedelaplantationalatasse-cultureducafe.php?page=156> (Accès le 13/04/2015).
268. <http://www.oecd.org/fr/csao/publications/39596448.pdf> ; le café en Afrique de l'Ouest (Accès le 13/04/2015).
269. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/fruits/cafe.htm> les fruits du caféier (accès 3/6/2015).
270. <http://www.tiloux.org/spip/spip.php?article6>, tout sur le pain : origine du blé (accès 3/6/2015).
271. <http://www.tiziouzou-dz.com>, Découpage administratif (accès le 02/02/2015).
272. <http://www.toutsurlecafe.fr/culture/p6.htm>. La récolte. «Caféologie (accès le 16/04/2015)
- <http://www.wikiwand.com/fr/Escourgeon> (Accès 16/04/2015).

ANNEXES

Cette thèse a donné lieu à :

A - Une Publication dans une revue internationale:

1-Mansour – Benamar M., Savoie J.-M., Chavant L., 2013. Valorization of a solid olive mill wastes by cultivation of a local strain of edible mushroom. *Comptes Rendus Biologies*, 336, 407- 415.

B - Une publication dans une revue nationale algérienne :

2-Mansour-Benamar M., Savoie J.-M., Chavant L., Lebsir R., 2007. Valorisation du marc de café brut par la culture d'une souche locale de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus*. *Science, Technologie et Développement*. A.N.D.R.U. N°2: 102 – 116.

C - La publication d'un chapitre de livre :

3- Mansour-Benamar M., Aoudia S., Ammar-Khodja N., 2014. Valorization of Coffee-Grounds Supplemented with Wheat Straw by Cultivation of a *Pleurotus ostreatus* Local Strain. Chapter 12. In *Mushrooms: Cultivation, Antioxidant Properties and Health Benefits*, Editor: Grégoire PESTI, Nova Science Publishers, Inc., pp: 227-242.

D - La publication d'un livre en Algérie:

4- Mansour-Benamar M. & Chavant L., 2010. Guide illustré de la culture d'un champignon comestible: le Pleurote en huître. Editions El-Amel. Dépôt légal : 3911 – 2010 ISBN : 978 -9947- 30 - 060 -2.

E - Deux Communications internationales:

5- Mansour-Benamar M., Mansour M., Ammar-Khodja N., Chavant L., 2011. La pleuroticulture, une nouvelle culture pour l'Algérie? Colloque : 3ème Colloque FRD 2011: La Production et la Productivité pour une Agriculture Durable- -Tlemcen- 12-14 Décembre 2011.

6- Mansour-Benamar M., Ammar-Khodja N., Chavant L., 2010. Valorisation du grignon d'olive par la culture d'une souche de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fries) Kummer, isolée à Oued-Aissi (Tizi-Ouzou, Algérie). Journées d'études: Les Journées Internationales de Biotechnologie 2010 de l'Association Tunisienne de Biotechnologie. 19 - 22 Décembre, Yasmine Hammamet, Tunisie (Prix de la meilleure communication par affiche).

F - Trois communications nationales

7- Mansour-Benamar M., Belkhir M., Amedjkouh Z., Mansour M., Ammar-Khodja N. & Chavant L., 2014. Valorisation du grignon d'olive par la culture des pleurotes. Portes Ouvertes sur l'Environnement organisées par la Ligue des Activités Scientifiques et Techniques des Jeunes de la Wilaya de Tizi-Ouzou. 21-23 Mars. Maison de la Culture de Tizi-Ouzou (communication orale).

8- Mansour-Benamar M., Mansour M., Ammar-Khodja N., Chavant L., 2011. La pleuroticulture, une nouvelle culture pour l'Algérie? Colloque : 3ème Colloque FRD 2011: La Production et la Productivité pour une Agriculture Durable- -Tlemcen- 12-14 Décembre 2011.

9- Mansour-Benamar Malika, Bachi Karima, Mebrek Samia et Chavant Louis, 2010. Etude du comportement d'une souche locale d'un champignon comestible, agent de la pourriture blanche *Pleurotus ostreatus* (Jack.: Fries) Kummer sur certains carburants. Cinquième Séminaire Scientifique et Technique sur l'Environnement, 5-7 Juin 2010. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, UMMTO (Communication orale).

PUBLICATION



Microbiology: bacteriology, mycology, parasitology, virology/Microbiologie :
bactériologie, mycologie, parasitologie, virologie

Valorization of solid olive mill wastes by cultivation of a local strain of edible mushrooms



Valorisation du grignon d'olive par la culture d'une souche locale de champignon comestible

Malika Mansour–Benamar^{a,*}, Jean–Michel Savoie^b, Louis Chavant^c

^a Laboratoire de production, amélioration et protection des végétaux et des denrées stockées, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, université Mouloud–Mammeri, Tizi–Ouzou, Algeria

^b INRA, UR1264 MycSA, 33140 Villenave–d'Ornon cedex, France

^c Faculté des sciences pharmaceutiques, université Paul–Sabatier de Toulouse, 35, chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse cedex 9, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 March 2013

Accepted after revision 27 July 2013

Available online 28 August 2013

Keywords:

Solid olive mill wastes

Pleurotus ostreatus

Local strain

Valorization

Wheat straw

Mots clés:

Grignon d'olive

Pleurotus ostreatus

Souche locale

Valorisation

Paille de blé

ABSTRACT

Olive oil industry generates huge quantities of solid olive mill wastes (SOMW), causing environmental damage. Cultivation of edible mushrooms, such as *Pleurotus ostreatus* is a valuable approach for SOMW valorization. A local strain mycelium (Tizi–Ouzou, Algeria) of *P. ostreatus* (LPO) was isolated from castor oil plants. Oyster mushroom spawn, produced on barley grains, was used to inoculate wet SOMW, steamed in a traditional steamer during 45 min. The mycelium growth rate on SOMW was first estimated in Petri dish by measuring the surface colonized by the mycelium. The fruit body yields were estimated on culture bags containing 2 kg each of SOMW inoculated at 7% (w/w). The local strain potential was compared with that of a commercial one. Both strains produced high-quality mushrooms, but with low yields. The supplementation of the SOMW with wheat straw at the rate of 10% and 2% of CaCO₃ had significantly enhanced the productivity of the two strains, multiplying it by 3.2 for LPO and by 2.6 for CPO.

© 2013 Académie des sciences. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

RÉSUMÉ

L'industrie oléicole génère des quantités importantes de grignon, nuisibles pour l'environnement. La culture de champignons comestibles comme *Pleurotus ostreatus* est une voie de valorisation intéressante du grignon. Une souche locale (Tizi–Ouzou, Algérie) de *P. ostreatus* (LPO), poussant sur le ricin, a été isolée. Son mycélium a été multiplié sur grains d'orge (blanc). Ce blanc a servi à inoculer du grignon humidifié et pasteurisé dans un couscoussier pendant 45 minutes. La croissance mycélienne a été évaluée en boîte de Pétri en mesurant la surface de grignon colonisée par le mycélium. Les rendements sont évalués sur des sacs de cultures de 2 kg de grignon chacun, inoculés avec 7% de blanc (poids/poids). Les potentialités de LPO ont été comparées à celles d'une souche commerciale (CPO). Les champignons produits par les deux souches sont de bonne qualité, mais les rendements sont faibles. L'addition de 10% de paille de blé et de 2% de CaCO₃ a permis de multiplier les rendements par 3,2 pour LPO et par 2,6 pour CPO.

© 2013 Académie des sciences. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

* Corresponding author.

E-mail address: mansour_benamar@yahoo.fr (M. Mansour–Benamar).

1. Introduction

The cultivation of olive trees prevails in the Mediterranean countries, where 90% of the world olive trees are concentrated [1]. The most productive regions of olive oil are located in Spain and Italy. Algeria ranks at the eighth position with oil production estimated at 1% of world production [2] and the department of Tizi-Ouzou ranks at the second position in Algeria after Bejaia. The cultivated varieties of olive trees are *Olea europea* var. *chamlal* (90%) and *O. europea* var. *azaradj* and *O. europea* var. *lemli* (10%) (Direction des services agricoles, Tizi-Ouzou). Oil industry generates in a short period (2 to 6 months) huge quantities of seasonal wastes: olive mill waste water (OMWW) or vegetation water and solid olive mill wastes (SOMW) or olive-cake or olive pomace. To get rid of these wastes that amount to 80% of the initial weight of harvested olive (SOMW: 30%, OMWW: 50%) represents a crucial problem for oil-producing countries [3,4], all the more that the world demand for olive oil is continuously increasing [5].

The raw solid waste is a by-product of the first pressing or centrifugation. It is composed of husk of the grinded core (endocarp or pit) (42%), the crushed “kernel” (3%), the olive envelope (epicarp or skin) and the pulp (mesocarp) (21%) and about 25% to 28% of water and a significant quantity of residual oil (9 to 10%), which enhances the rancidness of the SOMW [6,7]. The fact that it contains a lot of raw cellulose (35 to 50%) and phenolic compounds and the link of the proteins to parietal components (75% of nitrogen) makes it a substratum not very used in animal foods, because of its weak digestibility and degradability [7–10].

SOMW are sometimes used, as a combustible, or to extract residual oil, or to “straw” olive trees in order to prevent erosion (but gives rise to soil acidity problems) or finally composting [11–13]. Another suitable way of SOMW valorization is its conversion into edible mushrooms that could be used in country, like Algeria, where demography is much increasing. Indeed, fruiting bodies are of high nutritional value, they contain an important amount of proteins well balanced with essential amino acids, vitamins and minerals and have low sugar and fat contents [14–17]. *Pleurotus* spp. fall between high-grade vegetables and low-grade meats [18]. Edible mushrooms are recommended by FAO as food, contributing to the protein nutrition of cereal-dependent developing countries [19]. They can be marshaled to aid in solving many problems, like protein shortage, resource recovery, and environmental management [20]. The most used species for the valorization of various rural or agricultural crude wastes is the white-rot fungus *Pleurotus* spp. (oyster mushroom). *Pleurotus* spp. is cultivated worldwide, it has favorable organoleptic and medicinal properties, and its growth is vigorous. The interesting aspects of the cultivation of *Pleurotus* are that it is a relatively simple and low-cost technology with high yield potential [21–24], and it does not require a composted substrate [25,26]. In addition, the production of mushroom is a way to promote employment and social development in rural areas [27,28].

Criteria of good mushroom production are a good yield of fruiting bodies, estimated by Olivier et al. [29] to 10–16% of marketable mushrooms harvested per disinfected and

spawned substrate for non-enriched substrates and 14–18% for substrates rich in protein inoculated at the rate of 5–8%, with short incubation period (8–10 days) and fruiting duration (3 weeks).

The life cycle of the oyster mushroom goes through two phases: the vegetative and the fruiting stages. In mushroom cultivation, the vegetative growth ensures dicaryotic mycelium growth. Both stages have different requirements and, according to Olivier et al. [29], they depend on three main factors: the strains themselves, growing medium and environmental factors.

The fungus is saprophytic, then, the growing medium must bring him the organic matter it needs, such as carbon, nitrogen, minerals, and vitamin. The carbon elements represent a major source of energy for the growth of mushrooms. The carbon used by the oyster mushroom is in a complex form, cellulose, hemicellulose, lignin, and pectin. Oyster mushrooms use for their development agricultural wastes rich in cellulose with low nitrogen content. According to Delmas [16], nitrogen requirement of mushrooms seems to be covered by its ability to extract the available forms of nitrogen, even in low quantities. The C/N ratio can be up to 40–50.

Oyster mushrooms need evenly oxygen for breathing and for degradation of lignin [30], minerals as potassium, phosphorus, magnesium, calcium, zinc... and vitamin (thiamine). The main problem for growing mushrooms is the contamination by molds of the genus *Trichoderma* (Velázquez-Cedeño [22]) and the genera *Penicillium* and *Aspergillus* [31]. A pH value from 5 to 6, which is favorable for the growth of *Pleurotus ostreatus* (pH 5–6), is also beneficial for the development of *Trichoderma*; so, Laborde and Delmas [32] recommend a pH of 6–7 and Philippoussis [25] recommended a pH of over or equal to 7.5. The optimum growth temperature is 25 °C and the fruiting temperature is about 15 °C [29]. Oyster mushroom requires a humidity of 80–85% in the incubation period and 80–90% during fruiting. Fruiting requires light, preferably of daylight type.

In the present work, the potential of the local strain was compared with that of a commercial strain of *P. ostreatus* for its ability to produce fruiting bodies by using SOMW as a substrate. The aim was to determine if SOMW could be valorized near the place of their production by generating human food and a complementary source of income.

2. Material and methods

2.1. Fungal strains

Two strains of oyster mushrooms were used: A local strain of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fries) Kummer (LPO) isolated in 1993 under our care in Oued-Aissi (Tizi-Ouzou, Algeria) from tissue culture of the fruiting bodies [identification of LPO was performed using morphological characters in 1993 and confirmed in 2007 by the method of Internal Transcriber Spacer (ITS)] and a commercial strain of *P. ostreatus* (P535) (CPO) coming from the “Royal Champignon” company (France) in 1993. The strains are kept in tubes on PDA (potatoes–dextrose–agar) at 4 °C, and sub-cultured every 3 to 4 months.



Fig. 1. Spawn of CPO (left) and LPO (right).

The quality of the strains after storage was determined by measuring the diameter of the mycelia formed along two perpendicular axes of LPO and CPO on PDA, after incubation for 8 days at 25 °C. Ten replicates per strain were used.

2.2. Spawn preparation

We used the method consisting of moistening barley grains (90 to 100 mL water/100 g of washed and drained barley grains) and then, sterilized during 1 h at 120 °C in an autoclave; each bag, containing 100 g of sterilized grains, was inoculated by using the mycelium colony developed completely on 30 mL of PDA in a 9 cm Petri dish [31]. The barley grains used are taken from the harvest of the year. They were purchased from a farmer of Boghni (Wilaya of Tizi-Ouzou, Algeria).

The multiplication of the spawn was achieved from the first spawn made by inoculating grain bags with 10 g of the spawn (Fig. 1), according to the method used by Velázquez-Cedeño [22].

2.3. Estimation of mycelial ability to colonize pasteurized SOMW

Raw solid olive mill wastes was gathered from a modern olive mill (three phases) in Oued-Aissi (Tizi-Ouzou, Algeria).



Fig. 2. Traditional steamer (Couscoussier).



Fig. 3. Experimental apparatus for evaluating the mycelial growth in Petri dish of CPO and LPO on SOMW (without spawn, left, with spawn, right).

The water content (29.8%) was increased with 350 mL of distilled water/kg of solid waste and pasteurized by thermal processing in a steam cooker during 1 h (Fig. 2) [31,33]. Samples of 40 g of pasteurized SOMW were placed in a Petri dish to estimate the mycelial growth of the two *P. ostreatus* strains (Figs. 3 and 4). In order to enable ventilation, five small holes were made on the dish covers with a red-hot needle. Each dish was inoculated with three grains of spawn placed at the center, with ten replicates per strain. The mycelial growth ability was measured (in cm²) as the area filled by the mycelium on the third and sixth days of incubation at 25 °C.

2.4. Cultivation in bags and yields

Pasteurized solid olive waste and pasteurized solid olive waste supplemented (SOMWS) (88%) with 2% of calcium carbonate and 10% of wheat straw (WS) were distributed in plastic bags of 2 kg each (Fig. 5). Wheat straw had been previously chopped in pieces of 1 to 3 cm of length, then, soaked in water for the night and afterwards drained for two to three hours to allow the excess water to drop. Five bags were prepared for each strain cultivated on the SOMW and ten bags for each strain cultivated on the SOMWS (The difference in the number of the bags is due to



Fig. 4. Top: Petri dish with SOMW. Bottom: mycelium of CPO (at the right) and LPO (at the left) after 3 and 6 days of incubation (inner line = limits of spawn, intermediate line = mycelium after three days of incubation, outer line = mycelium after six days of incubation).



Fig. 5. Preparation of SOMWS (88% SOMW + 10% WS + 2% CaCO₃).

the needs of another experiment. SOMW and SOMWS were wetted with 350 mL of tap water per kilogram of substrate.

Wheat straw was purchased from the straw market of Oued-Aissi (Tizi-Ouzou, Algeria). The chemical compositions of SOMW, WS and SOMWS are given in Table 1.

The bags were aseptically sowed near the flame of two Bunsen burners, with the prepared spawn at the rate of 7% (w/w). The incubation duration was 30 to 35 days at 25 ± 1 °C and 70–80% of relative humidity in air. On the fifteenth day of incubation, the bags were perforated with a very thin needle. When the primordia began to appear, the bags were removed and to enhance fructification, the climatic conditions of the cultivation room were changed. The room was cooled with frozen water (4 °C) and by putting melting ice near the cultivation blocks shaped by the mycelium grown around the SOMW and the SOMWS. The temperature was thus kept at 20 °C and ambient moisture till 95% by means of a humidifier. The fruiting bodies were harvested daily at their commercial stage of maturity. The number and the weight as well as the size of the caps and the length and width of the foot of each fruiting body were recorded and the average yields and the biological efficiency (BE) were calculated. Yields and BE are two way to express

Table 1
Chemical composition of WS, SOMW and SOMWS in % of dry weight.

	SOMW	WS	SOMWS
Moisture	29.80 ± 0.25	6.59 ± 0.16	16.38 ± 0.32
Dry weigh (%ww)	70.20 ± 0.25	93.41 ± 0.16	83.62 ± 0.32
Ash	1.95 ± 0.09	6.06 ± 0.59	2.18 ± 0.17
Organic matter	97.23 ± 0.13	97.40 ± 0.20	93.51 ± 0.64
Organic carbon	56.39 ± 0.08	54.24 ± 0.37	56.49 ± 0.11
Cellulose	33.42 ^a	40.80 ^c	ND
Hemicelluloses	15.12 ^a	31.70 ^c	ND
Lignin	22.1 ^a	10.00 ^c	ND
Nitrogen	1.06 ^b	0.38 ^c	ND
Phosphorus	0.113 ^b	0.08 ^d	ND
Potassium	0.833 ^b	ND	ND
Calcium	0.820 ^b	0.25 ^d	ND
pH	6.80 ± 0.06	6.92 ± 0.08	7.65 ± 0.05

ND: Not done.

^a Djadouf et al. [34].

^b Manios and Balis [35].

^c Marechal [36].

^d Comité national des co-produits [37].

the productivity, i.e. the conversion of the substrate into fungal biomass.

$$\text{Yield (g/kg)} = \frac{\text{total fresh mass of mushrooms (g)}}{\text{initial mass of substrate (Kg)}}$$

$$\text{BE (\%)} = \left[\frac{\text{total fresh mass of mushrooms (g)}}{\text{Initial dry mass of substrate (g)}} \right] \times 100$$

These tests were performed between mid October and late December 2009.

2.5. Statistical analysis

The whole results were submitted to a multifactor variation analysis. ANOVA was completed by the Newman-Keuls test when there were differences between the average values (STATISTICA, version 5.1).

3. Results

Both commercial strain and local strains kept in collection since 1993 were of good quality with average diameters of the mycelium colony on PDA after incubation for 8 days at 25 °C being 8.3 ± 0.24 cm and 7.9 ± 0.39 cm, respectively. The difference between the stains was not significant ($P=0.05$).

The spawn was obtained after incubation for 8 to 10 days and it was of good quality with barley grains, well coated by a white root-like mycelium.

The ability of the two strains to colonize pasteurized SOMW was not significantly different (Table 2). It is noteworthy that the average mycelial growth rate between day 0 and day 3 was 0.5–0.6 cm² per day, whereas it was 1.05 cm²/day between day 3 and day 6. This shows that the pasteurized SOMW is a good substrate for *P. ostreatus*.

As regards for the fruiting bodies (Figs. 6–8), the flushes were not well delimited; the fruiting bodies were formed continuously on both substrates SOMW and SOMWS. The addition of wheat straw (10%) and calcium carbonate (2%) had significantly enhanced the yields of the two strains. The different results are gathered in Tables 3 and 4. On the SOMW alone, there was no significant differences between the strains for most of the parameters, but on average, CPO tend to produce higher percentages of small fruiting bodies than LPO. On SOMW with 10% of WS and 2% of CaCO₃ (SOMWS), the yields of the local strain of *P. ostreatus* were significantly higher ($P=0.05$) than those of the commercial strain P535.

Table 2
Average mycelial growth of LPO and CPO on the SOMW after 3 and 6 days of incubation.

Strain	Incubation period (days)	Average of the mycelial growth (cm ²)
CPO	3	1.84 ± 0.44 ^a
CPO	6	6.15 ± 1.45 ^b
LPO	3	1.63 ± 0.35 ^a
LPO	6	6.13 ± 1.09 ^b

When followed by the same letters, the means are not significantly different ($P=0.05$, Student's test).

^a Average of six repetitions.



Fig. 6. Fructification of LPO on SOMW.



Fig. 7. Fructification of CPO on SOMW.

However, fruiting bodies formed by CPO had caps with biggest average diameter.

4. Discussion

The capacity of a mushroom to grow on a lignocellulosic substrate is related to the vigor of its mycelium as well as to its capacity to activate physiological mechanisms necessary to adequately exploit the medium [38]. If fructification characters are among the criteria for determining strain selection; particular interest must be placed on the strain capacity to invade a given substrate; the first important stage in the cultivation of a mushroom on a solid substrate is the speed of the hyphal colonization [38]. In fact, the initial colonization speed is an important character because of competition in case of the presence of antagonistic microorganisms, but the growth of a mushroom must be slow and dense, in order to enable the mycelium to exploit the nutrient resources of the lignocellulosic substrate [27]. PDA has been used by numerous searchers. It was an adequate medium for up-keeping mycelium of both *P. ostreatus* strains studied here, i.e. LPO and CPO. The present records of mycelia diameters



Fig. 8. Fructification of LPO (a) and of CPO (b) [33].

are higher than those obtained previously with the same strains (CPO: 8.27 ± 0.24 cm vs 7.31 ± 0.73 cm; LPO: 7.87 ± 0.39 cm vs 6.36 ± 0.85 cm) [31]. They suggest a physiological adaptation of the strains to this medium and a selection during the regular multiplication on PDA since 1993. It is confirmed when also compared to data obtained by

Table 3

Fruit body yields according to weight, size of caps, length and width foot intervals of CPO and LPO on SOMW and SOMWS.

Character	Limit value	SOMW				SOMWS			
		CPO		LPO		CPO		LPO	
		Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Fruit bodies weigh	2–4.99 g	45	49	52	48	47	17	87	22
	5–9.99 g	32	35	33	31	57	20	110	27
	10 g and more	15	5	23	18	176	63	203	51
Diameter's cap	< 5 cm	62	67	52	48	92	33	168	42
	5–9.99 cm	27	29	54	50	171	61	188	47
	10 cm and more	3	3	2	2	17	6	15	4
Foot's length	< 2 cm	12	13	22	20	44	16	93	23
	2–4.99 cm	68	74	74	68	136	49	155	39
	5 cm and more	12	13	12	11	100	36	152	38
Foot's width	< 1 cm	78	85	87	80	66	24	126	31
	1–1.99 cm	9	10	21	19	185	66	241	60
	2 cm and more	5	5	0	0	29	10	33	8
Total		92		108		279		400	
Nb of repetitions		5				10			

Nb = number; <: lower; >: upper.

Table 4
Cultural characters of CPO and LPO on SOMW and SOMWS.

Character	SOMW		SOMWS	
	CPO	LPO	CPO	LPO
Incubation period (days)	30	30	30	30
Total duration of the culture (days)	65	65	65	65
Substrate surface colonized by the mycelium	Totality	Totality	Totality	Totality
Aspect of the mycelium	White, root-like	White, root-like	White, root-like	White, root-like
Number of sporophores	92	108	280	400
Average weight sporophores (g)	8.74 ± 11.8 a	6.71 ± 5 a	17.82 ± 15.29 b	13.81 ± 11.77 c
Extreme limit value of the weight (g)	2–66.76	2.02–21.5	2.01–107.67	2.02–74.82
Average diameter of the cap (cm)	4.63 ± 1.90 d, f	5.10 ± 1.51 d, e	6.04 ± 2.17 g	5.58 ± 2.09 e, g
Extreme limit value of the diameter of the cap (cm)	1.75–12.50	2.50–10	1.75–16.50	1.53–13
Average length of the feet (cm)	3.16 ± 1.29 h	2.65 ± 1.39 h	3.08 ± 1.47 i	2.72 ± 1.31 i
Extreme limit value of the length of the feet (cm)	0.5–6	0.5–7	0.5–11	0.4–9
Average width of the feet (cm)	0.64 ± 0.55 j	0.62 ± 0.63 j	1.12 ± 0.51 k	1.08 ± 0.48 k
Extreme limit value of the width of the feet (cm)	0.2–3	0.15–1.8	0.5–3.5	0.2–3
Yield (g sporophores/kg initial substrate)	80.39 ± 63.26 ^l	72.43 ± 25.84 ^l	248.58 ± 71.15 ^m	276.24 ± 85.45 ⁿ
Yield (g sporophores/kg dry substrate)	114.52	103.18	297.73	330.51
Biological efficiency (% fresh weight mushroom/ DWsubstrate)	11.45	10.32	29.77	33.05
(Yield on SOMWS)/(Yield on SOMW)			2.60	3.20

When followed by the same letters, the average is not significantly different ($P=0.05$).

^l Average of five replications.

^m Average of ten replications.

Gibriel et al. [39] after 7 days of incubation (8.6 cm) and those of Alam et al. [40], with an optimal growth of *P. ostreatus* on PDA of 7.70 cm in 10 days of incubation at 25 °C.

The pasteurized SOMW is a good substrate for *P. ostreatus*, since the average hyphal speed of LPO and CPO on SOMW in Petri dish was 3.99–4.37 mm/day during the three first days and of 5.78 mm/day during the next three days. These data on a complex medium like olive pomace are higher than those found by Zervakis et al. [27] (3 mm/day) on PDA, a simple medium.

As regarding spawn, the inoculation rate of 10% used for the production of the spawn was chosen to allow the rapid development of the fungus and prevent mold contaminations (*Penicillium*, *Aspergillus*). Indeed, the incubation time was reduced to one week, instead of three to four weeks. We have not tested the rates above 10%. A higher rate of inoculation (> 10%) of the spawn will probably enhance the mycelial growth and reduce the incubation period, but the spawn will be too expensive and non-attractive economically, since the barley grains used are those used for human consumption. In addition, with the production of large amounts of spawn, there is a risk of overheating in the oven. Indeed, the excess heat emitted by the fungal activity may kill the mycelium. The inoculation rate of 7% used for the production of mycelium on the two substrates was chosen also to allow rapid development of the fungus and prevent mold contaminations. We have previously tested the rates of 1%, 2%, 3% and 5%, every time we were faced with serious problem of mold contaminations. We have not tested rates above 7%, since Olivier et al. [29] recommended a maximum 8% rate, with a special packaging of the inoculated substrate in the form of tubes of small cross section so as to allow the rapid evacuation of heat. Contrary to the spawn, which is conditioned in pockets of 500 g to 1 kg, bags of cultivation mushroom used in mushroom farms weigh 20 to 25 kg, so the risk of

overheating is too high. Actually, the usual rate of inoculation used in mushroom farm is around 5%. Bhatti et al. [41] studied the growth and the yield of *P. ostreatus* on WS affected by different spawn rates (1% to 10%). They concluded that spawning at a rate of 7% is the best dose for obtaining early and high yielding (BE = 45.4%) with a maximum number of flushes and fruiting bodies per bag. Zhang et al. [42] had tested three levels of spawn (12%, 16%, and 18%). They suggested the use of 16% rate spawn, but they emphasized the need for further studies before to be used (16% spawn) for large-scale cultivation.

The main aim of our work was to check whether the LPO strain isolated in Oued-Aissi could develop on raw SOMW without any supplementation. Since wheat straw is the principal raw material for edible mushroom substrate preparation in Europe and America [43], we have examined in the second time whether the supplementation of the SOMW with 10% of wheat straw and 2% of calcium carbonate could enhance the productivity of the two strains. In both cases, the whole colonization of the substrate by the mycelium needed on average 30 days to be achieved. Fruiting duration was variable according to the bags (30 to 35 days) and the flushes were not well delimited. It is a characteristic of *Pleurotus* spp. contrary to *Agaricus bisporus*, the bottom mushroom that has marked flushes [17]. The behaviour of the local strain is similar to that of the commercial strain. In term of performance, SOMW is not completely satisfactory, but in terms of quality of fruiting bodies and in terms of taste, we got the most beautiful and the most soft-fruiting bodies. We had even consumed the foot that is usually tough. Indeed, the yields of the two strains of oyster mushroom were weak, since under ideal growing conditions, 1 kg of well-colonized substrate should yield about 1 kg of marketable mushrooms [25]. The yields are low when compared with the results obtained on coffee-grounds with biological efficiency of 31.7% for CPO and 19.7% for LPO [31].

The yields are very weak when compared with results of different researchers like those of Mane et al. [44] on 28 combinations of five agricultural wastes with *Pleurotus sajor caju*; cotton stalks with WS gave high BE (79.61%). Upadhyay et al. [45] studied the effect of nitrogen supplementation in wheat straw on the yields of *P. ostreatus* var. *florida* and had recorded with mustard cake the lowest BE (53.2%) and highest BE with cotton seed cake (94.6%). Yildiz et al. [46], with cultivation of *P. ostreatus* on 33 combinations of agro-industrial wastes, had found that the most suitable combination (leaves of European aspen + waste paper) gave a biological efficiency of 82.1%. Zervakis et al. [1] on raw SOMW obtained a BE of 46% and on SOMW mixed with 12.5% OMWW a BE of 36% with cultivation of *P. eryngii*. The highest BE (125%) was recorded on coffee-pulp with *P. ostreatus* IE-38 by Velázquez-Cedeño et al. [47].

The conversion of hard lignocellulosic components of solid wastes by oyster mushrooms is surely due to their ability to produce a high level of cellulases and hemicellulases and of phenoloxydases [48]. Sherief et al. [49] have noticed that dipping of rice straw and sawdust in heated water at 70–80 °C sterilized the substrates but also contributes to a slight decrease in the ligneous material. Pasteurization by using a cooking steamer probably helped detoxification of SOMW as the boiling water in the steamer became dark.

In our case, the perforation of the cultivation bags had been done relatively late, after 15 days of incubation, while Sheriff et al. [49] made ventilation holes after three days of incubation. This might have an impact on the growth of the mycelium of LPO and CPO, since the holes allow air renewal and passage of moisture to the mycelium. This period of 15 days was chosen because we had long been faced with mould contaminations that had caused serious losses. The risk for LPO and CPO is the accumulation of carbon dioxide and water shortage. However, according to Olivier et al. [29], during mycelial growth, carbon dioxide is not a problem for *Pleurotus* that supports up to 20–25% and this rate is negative for fungal competitors, but it is harmful to the fruiting bodies. In addition, for the safety of the staff in the culture room, the rate should not exceed 1%.

The present results obtained about LPO strain are close to those of Velázquez-Cedeño et al. [47], with 50% of fruit bodies having a cap diameter ranging between 5 and 9.9 cm. The CPO strain showed more fruit bodies with little caps (< 5 cm) (65%) and about ten bulky mushrooms (>10 cm). In general, the size of LPO fruit bodies can be compared to those obtained by Mane et al. [44] on soya straw. The CPO ones were slightly smaller. The mushrooms (LPO and CPO) were, however, of good quality. They were creamy-white and very tender, particularly those of small size. The number of fruiting body obtained for CPO and LPO were over the numbers obtained by Islam et al. [19] with *P. flabellatus* on different substrates. The highest pileus diameters of LPO and CPO fruit body were larger than those obtained by these authors on a mango substrate (7 cm) but, contrariwise, the lowest diameters of the pileus of the fruiting bodies of LPO and CPO were too low (respectively 2.5 and 1.75 cm for LPO and CPO, vs 4 cm).

According to the results of Mane et al. [44], the larger the cap, the longer the foot. We have found out the opposite: the more the cap was large, the more the stipe was short and conversely. The stipe length is a lighting indicator during fructification: the more the stipe is long, the more it misses lighting [46]. Laborde and Delmas [32] related that with excess humidity (90–100%), fruiting bodies of *P. ostreatus* had a narrow cap with a very long stipe and, in the presence of 75–80% of moistness; fruiting bodies are normal, with a large cap and a short foot. We had noticed that when the stipe is too long, it becomes tough and the mushroom is not marketable.

The weight of basidiomata of CPO was over that of LPO but the numbers of basidiomata of LPO was higher than that of CPO. Indeed, the greater the weight of the basidiomata, the lower the number of basidiomata; this has been equally observed by Zervakis et al. [27]. Supplementation of the solid olive mill waste with wheat straw and calcium carbonate enabled us to improve the yields of the two strains. In fact, addition of 10% wheat straw and 2% of calcium carbonate had multiplied the number of caps of LPO and CPO, respectively, by 3.7 and 3.0 and the yield of LPO by 3.2 and CPO by 2.6 in the same operating conditions, even so wheat straw is considered as a poor source of nitrogen (0.5 to 0.8%) [48]. Nitrogen is an essential element for the cellular functions for growth and various metabolic activities, particularly protein and enzyme synthesis. Wheat straw contains slightly more than 50% of carbohydrates (54.24% of DW in the WS we used), making it one of the best substrates [50]. The presence of straw could also have improved the structure of the substrate. In fact, the straw provides channels to oxygen inflow and through the substratum [12]. The fruiting bodies have the same quality as on the SOMW for the two strains, but even if the local strain had a higher yield, CPO presented pileus with significantly higher average diameter and weight. The yields of LPO and CPO on SOMWS could be compared to the yields obtained by Mane et al. [44] on soya straw, but the caps can be compared to those obtained by these authors on a mixture of cotton stalks and wheat straw for CPO as well for the diameter of the pileus as for the length of the foot. Concerning the other cultural characters taken into account, there were no significant differences ($P=0.05$). These results agree with those of Iqbal et al. [51], and it is known in Europe that Oyster mushroom is commonly grown on pasteurized straws of wheat [52–54]. Furthermore, the addition of calcium carbonate improved the pH of the SOMW (7.65 vs 6.80).

As part of another work, a trial was conducted between 15 October 2012 and December 2012 (olive oil season: the same period as in present tests but different years) on the SOMW supplemented with 2% calcium carbonate (SOMWCC) and WS also supplemented in the same way (WSCC). SOMWCC and WSCC were conditioned in bags of 500 g of wet substrate inoculated with LPO or CPO spawn at 7% rate. The holes were made at the end of the first incubation week. Six repetitions for each treatment had been done.

The dry weights of SOMWCC and WSCC were respectively ($24.66 \pm 0.08\%$ WW) and ($56.47 \pm 0.13\%$ WW). The pH

of SOMWCC was (7.67 ± 0.27) and that of WSCC was (7.30 ± 0.02). Unfortunately, the culture was not conducted on WS alone.

The biological efficiency of CPO on SOMWCC (23.30%) and on WSCC (21.41%) had been multiplied respectively by 1.95 and 1.87 compared to the results obtained on SOMW alone. The biological efficiency of LPO on SOMWCC was 69.55% and that on WSCC 31.63%. The productivity was 6.74 times larger on SOMWCC and 3.06 times larger on WSCC than on SOMW. The best yields we observed were those of the local strain on olive pomace supplemented with 2% of CaCO_3 . These results highlight the importance of the pH in the culture substrate for the two studied strains. LPO seems to prefer neutral to slightly alkaline pH, even if the used SOMW had a high pH (6.80 vs 5.2–6.0 [1]). Calcium carbonate provides also the mycelium with calcium. The results reveal that the SOMW is a good growing substrate when supplemented with 2% of CaCO_3 ; indeed, according to Philippoussis [25], the pH of the substratum must be adjusted with limestone to about 7.5 or higher to provide selectivity against the green mould.

Wheat bran may be used as an organic source of nitrogen and shall probably contribute to further improve the yields of the two strains.

To conclude, we can say that the cultivation of *P. ostreatus* is promising in Algeria close to the facilities of olive oil production. The LPO strain presents abilities to grow on raw SOMW, such as the commercial strain (CPO) do and the mushrooms produced are tender and have tasty aspects, but the yields remain low. The supplementation with 10% of wheat straw and 2% of calcium carbonate had improved the yield of the two strains, particularly that of LPO, and the trial with supplementation of SOMW with only 2% of calcium carbonate confirmed that olive pomace is a good substratum for the cultivation of oyster mushroom. But further improvement of the substrate formulation might be expected. Cultivation of LPO and CPO on cereal straws and other agro-industrial wastes can be considered outside the olive season for a better profitability of culture rooms.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest concerning this article.

Acknowledgements

We wish to thank Mr. Hamid Madiou and Ms. Samia Mbrek for help in statistical analysis.

References

- [1] G. Zervakis, P.P. Yiatras, C. Balis, Edible mushroom from olives oil mill wastes, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 37 (1996) 237–243.
- [2] Y. Lazzeri, Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne, in: *L'olivier en Méditerranée Conférence*, Centre culturel français de Tlemcen, Algérie, 2009.
- [3] J.A. Morillo, B. Antizar-Ladislao, M. Monteoliva-Sánchez, A. Ramos-Cormenzana, N.J. Russel, Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82 (2009) 25–39.
- [4] J. Fernández-Bolaños, G. Rodríguez, R. Rodríguez, R. Guillén, A. Jiménez, Potential use of olive by-products. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste, *Grasas Y Aceites* 57 (1) (2006) 95–106.
- [5] N. Benyahia, K. Zein, Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées, in: *Special Contribution of the Sustainable Business Associates (Suisse) to workshop "Pollution and Development issues in the Mediterranean Basin"*, 2nd SESEC, 28–29 January, Lausanne, Switzerland, 2008.
- [6] B. Ferretti, B. Scalabre, Perspectives offertes pour une meilleure valorisation des grignons, in: *Séminaire sur l'olivier et autres plantes oléagineuses cultivées en Tunisie*, Mahdia, Tunisie, 3–7 July, 1978.
- [7] O. Salhi-Mohand ou Said, Valorisation de sous-produits et déchets lignocellulosiques par culture de micro-organismes cellulolytiques, *Inst. Natl. Agron.* (2004), Thèse de doctorat d'État en sciences agronomiques El Harrach, Alger, Algeria.
- [8] E. Molina, J.F. Aguilera, Valorisation nutritive d'un grignon d'olive traité à la soude. Utilisation digestive des constituants des parois cellulaires, *Ann. Zootechnol.* 37 (1988) 63–72.
- [9] A. Nefzaoui, Contribution à la rentabilité de l'oléiculture par une valorisation optimale des sous-produits, in: M. Allaya (Ed.), *L'économie de l'olivier*, CIHEAM, Paris, 1988, pp. 153–173.
- [10] F. Zaid, N. Hassissene, H. Allouache, M. Kichou, S. Ourdani, K. Rezki, M.M. Bellal, J.-F. Grongnet, H. Youyou, les composés phénoliques, facteurs limitants du grignon d'olive chez les ruminants, *Rev. Med. Vet.* 160 (2009) 67–73.
- [11] A. Roig, An overview on olive mill wastes and their valorization methods, *Waste Manag.* 26 (2005) 960–969.
- [12] A. Khatib, F. Aqra, N. Yaghi, Biological degradation of olive mill solid wastes produced from olive oil extraction, *J. Emerg. Trends Eng. Appl. Sci.* 1 (2010) 79–84.
- [13] I.S. Arvanitoyannis, A. Kassaveti, Current and potential uses of composted olive oil waste, *Int. J. Food Sci. Technol.* 42 (2007) 281–295.
- [14] P.G. Miles, S.T. Chang, Mushrooms: nutritional value medicinal effect and environmental impact, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1977.
- [15] J. Lelley, Les champignons dans notre jardin, culture, récolte, utilisation, Éditions Delachaux et Niestlé, Paris, 1984.
- [16] J. Delmas, Les champignons et leur culture, in: *culture actuelle et potentielle des champignons supérieurs*, La Maison Rustique, Paris, 1989.
- [17] J.M. Olivier, *Champignons*, Tech. Agr. 2170 (1991).
- [18] Z. Bano, S. Rajarathnam, *Pleurotus mushrooms*, Part II, Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 27 (2010) 87–158.
- [19] M.Z. Islam, M.H. Rahman, F. Hafiz, Cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus flabellatus*) on different substrates, *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 4 (2009) 45–48.
- [20] A.S. Daba, S.S. Kabeil, W.A. Botros, M.A. El-Saadani, Production of mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) in Egypt as a source of nutritional and medicinal food, *World J. Agric. Sci.* 4 (2008) 630–634.
- [21] S.T. Chang, Mushroom research and development—Equality and mutual benefit, in: D.J. Royse (Ed.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*, Pennsylvania State University, 1996, pp. 1–10.
- [22] M.A. Velázquez-Cedeño, *Compétition entre Pleurotus ostreatus et Trichoderma sp. en culture sur paille de blé: rôle des communautés bactériennes du substrat et des laccases de Pleurotus*. PhD thesis, Université Paul-Cézanne, Aix-Marseille-3, 2005.
- [23] T.E. Tisdale, S.C. Miyasaka, D.E. Hemmes, Cultivation of the Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on wood substrates in Hawaii, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22 (2006) 201–206.
- [24] A. Gregori, M. Švigelj, J. Pohleven, Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp., *Food Technol. Biotechnol.* 45 (2007) 236–247.
- [25] A.N. Philippoussis, Production of mushrooms using agro-industrial residues as substrates, in: P. Singh nee' Nigam, A. Pandey (Eds.), *Biotechnology for agro-industrial residues utilization*, Springer Science+Business Media B.V., 2009, pp. 163–196.
- [26] A. Philippoussis, G. Zervakis, P. Diamantopoulou, Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp., *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17 (2001) 191–200.
- [27] G. Zervakis, A. Philippoussis, S. Ioannidou, P. Diamantopoulou, Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions of the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates, *Folia Microbiol.* 46 (2001) 231–233.
- [28] Z.A. Shah, M.M. Ashraf, Ch. Ishtiaq, Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (wheat straw, leaves, sawdust), *Pak. J. Nutr.* 3 (2004) 158–160.
- [29] J.M. Olivier, J. Laborde, J. Guimberteau, N. Poitou, G. Houdeau, J. Delmas, La culture des champignons, Éditions Armand-Colin, Paris, 1991.
- [30] J. Laborde, Implications technologiques et économiques de la culture des pleurotes en France, *Bull. FNSACC* 47 (1990) 155–159.
- [31] M. Mansour-Benamar, J.-M. Savoie, L. Chavart, R. Lebsir, Valorisation du marc de café brut par la culture d'une souche locale de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus*, *Sci. Technol. Dev.* 2 (2007) 102–116.

- [32] J. Laborde, J. Delmas, Le pleurote, un nouveau champignon comestible cultivé, *Rev. Hortic.* 145 (1974) 39–46.
- [33] M. Benamar, L. Chavant, Guide illustré de la culture d'un champignon comestible: le pleurote en huître, Éditions El Amel, Tizi-Ouzou, Algérie, 2010.
- [34] S. Djadouf, A. Tahakourt, N. Chelouah, D. Merabet, Étude de l'influence des ajouts (grignon d'olive et foin) sur les caractéristiques physico-mécaniques de la brique de terre cuite, *COST 9* (2011) 1–7.
- [35] V. Manios, C. Balis, Respirometry to determine optimum conditions for the biodegradation of extracted olive press-cake, *Soil Biol. Biochem.* 15 (1983) 75–83.
- [36] P. Maréchal, Analyse des principaux facteurs impliqués dans le fractionnement combiné de pailles et de sons de blé en extrudeur bi-vis-Obtention d'agro-matériaux. PhD thesis, INP, Toulouse, 2001.
- [37] Comité national des coproduits, Fiche n° 1 – Co-produits riches en ligno-cellulose. Paille des céréales, ADEME.
- [38] G.G. Mata, P. Delpech, J.-M. Savoie, Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted to efficient mycelia growth on wheat straw, *Rev. Iberoam. Micol.* 18 (2001) 118–122.
- [39] A.Y. Gibriel, M. Ahmed, N. Rasmy, I. Rizk, N.S. Abdel-Rehem, Cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus spp.*): evaluation of different media and organic substrates, in: D.J. Royle (Ed.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*, Pennsylvania State University, 1996, pp. 415–421.
- [40] N. Alam, J.S. Lee, T.S. Lee, Mycelial growth conditions and molecular phylogenetic relationship of *Pleurotus ostreatus*, *World Appl. Sci. J.* 9 (8) (2010) 928–937.
- [41] M.I. Bhatti, M.M. Jiskani, K.H. Wagan, M.A.M.R. Pathan, Magsi, growth, development and yield of Oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq Ex. Fr.) Kummer as affected by different spawn rates, *Pak. J. Bot.* 39 (2007) 2685–2692.
- [42] R. Zhang, X. Li, J.G. Fadel, Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw, *Bioresour. Technol.* 82 (2002) 277–284.
- [43] N. Chalaux, S. Libmond, J.-M. Savoie, A practical enzymatic method to estimate wheat straw quality as raw material for mushroom cultivation, *Bioresour. Technol.* 53 (1995) 277–281.
- [44] V.P. Mane, S.S. Patil, A.A. Syed, M.M.V. Baig, Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural waste into edible protein by *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer, *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 8 (2007) 745–751.
- [45] R.C. Upadhyay, R.N. Verma, S.K. Singh, M.C. Yadav, Effect of organic nitrogen supplementation in *Pleurotus species*, in: J.E. Sánchez (Ed.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*, Pennsylvania State University, 2002, pp. 225–232.
- [46] S. Yildiz, Ü.C. Yildiz, E.D. Gezer, A. Temiz, Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom, *Process Biochem.* 38 (2002) 301–306.
- [47] M.A. Velázquez-Cedeño, G. Mata, J.-M. Savoie, Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignolytic enzymes, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 18 (2002) 201–207.
- [48] K. Periasamy, K. Natarajan, Role of lignocellulosic enzymes during basidiomata production by *Pleurotus djamor var roseus*, *Ind. J. Biotechnol.* 3 (2004) 577–583.
- [49] A.A. Sherief, A.B. El-Tanash, A.M. Temraz, Lignocellulolytic enzymes and substrate utilization during growth and fruiting of *Pleurotus ostreatus* on some solid wastes, *J. Environ. Sci. Technol.* 3 (2010) 18–34.
- [50] H.J. Kwon, Oyster mushroom cultivation guide for beginners: cultivation on straw bales, 2001 <http://www.mushworld.com> Accessed 14/03/2005.
- [51] S.H. Muhammad Iqbal, C.H. Abdul Rauf, M. Iqbal Sheikh, Yield performance of Oyster mushroom on different substrates, *Int. J. Agric. Biol.* 07 (2005) 900–903.
- [52] J.-M. Savoie, N. Chalaux, J.-M. Olivier, Variability in straw quality and mushroom production: Importance of fungicide schedules on chemical composition and potential degradability of wheat straw, *Bioresour. Technol.* 41 (1995) 161–166.
- [53] M. Rahman, E.A. Odhano, M.Z. Haq, S. Gul, Conversion of lignocellulosic wastes into Oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*), *J. Chem. Soc. Pak.* 29 (2007) 251–255.
- [54] A. Norouzi, G. Peyvast, J.J. Olfati, Oilseed rape straw for cultivation of oyster mushroom, *Maejo, Int. J. Sci. Technol.* 2 (2008) 502–507.

Résumé:

Le grignon d'olive (GOB) et le marc de café (MC) sont deux résidus lignocellulosiques produits en grandes quantités en Algérie. Le premier est produit une fois par an et est issu de l'oléiculture et le second de la consommation du café (boisson). L'objectif principal de cette thèse est de valoriser ces deux résidus par la culture de champignons comestibles. Pour un pays comme l'Algérie où la démographie est toujours croissante, ces champignons vont constituer une source de protéines. La pleuroculture étant une technologie simple et peu onéreuse, notre choix s'est fixé sur la culture de deux souches de Pleurote en huître, une locale (POL) et l'autre commerciale (POC). Les premiers rendements obtenus sur GOB et MC seuls étaient trop faibles même si les carpophores récoltés étaient de bonne qualité. Pour y remédier, nous avons fractionné GOB par tamisage, et ajouté du CaCO_3 pour tamponner le milieu et de la paille de blé pour améliorer la structure des substrats. L'estimation de la croissance mycélienne en boîte de Pétri, le dosage des activités hydrolases globales et la mesure des efficacités biologiques des deux souches de pleurote ont permis de voir que POL a présenté les mêmes comportements que POC sur les substrats de culture utilisés. De plus, le dosage des activités cellulases, protéases et laccases dans le grignon d'olive a révélé les potentialités de POL à dégrader les substrats lignocellulosiques. L'addition de la paille et l'optimisation du pH, ont permis une amélioration significative de la croissance mycélienne et des rendements en carpophores des deux souches de pleurote. En outre les analyses statistiques ont montré que l'addition de 10% de paille de blé et 2% de CaCO_3 était nécessaire et suffisante pour améliorer l'efficacité biologique de POC et POL sur le grignon d'olive et ses fractions. Pour l'Algérie la pleuroculture est une orientation nouvelle qui mérite son développement à l'échelle commerciale et industrielle.

Mots clés : Grignon d'olive- Marc de café – valorisation - champignons comestibles – *Pleurotus* local- *Pleurotus* commercial

Summary:

Solid olive mill wastes (SOMW) and coffee grounds (CG) are two lignocellulosic residues produced in large quantities in Algeria. The first is produced annually and is derived from olive industry and the second is from consumption of coffee. The main purpose of this thesis is to add value to these two residues by cultivation of edible mushrooms. For a country like Algeria where demography is still growing, these mushrooms will be a significant source of protein. Since Oyster mushroom cultivation is a simple and an inexpensive technology, we have chosen to cultivate two strains of Oyster mushroom, a local one (LPO) and a commercial one (CPO). The early yields on SOMW and CG alone were too low even if harvested fruiting bodies had a good quality. In order to improve the yields, we have fractionated SOMW, and add CaCO_3 for buffering the medium, and add wheat straw to improve the substrates structure. We observed that LPO presented the same behavior as CPO on the cultivated substrates thanks to mycelial growth estimation in Petri dish, and determination of total hydrolases activities and biological efficiencies of both oyster strains. In addition, determination of cellulase and laccase and protease activities in SOMW revealed LPO ability to degrade lignocellulosic substrates. Wheat straw addition and pH optimization enabled a significant improvement in mycelial growth and yields in Oyster mushroom of the two strains. Statistical analysis showed that the addition of 10% of wheat straw and 2% CaCO_3 was necessary and sufficient to improve the biological efficacy of CPO and LPO on the SOMW and its fractions. Oyster mushroom cultivation would certainly be a new kind of agriculture in Algeria that would gain from being developed at the industrial and commercial level.

Key words: solid olive mill wastes - coffee grounds – valorization – edible mushrooms - *Pleurotus* local strain – *Pleurotus* commercial strain