



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة  
Université MOULAY Tahar, Saida  
كلية العلوم  
Faculté des Sciences  
قسم البيولوجيا  
Département de Biologie

**Mémoire Elaboré en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

**Spécialité :**

**Microbiologie Appliquée**

**Etude Mycologique et Mycotoxicologique du blé  
(tendre et dure) stocké au niveau de l'OIC  
de la wilaya de Saida**

Présenté par :

- FERHI Fatima Zohra
- BOUAZZA Asmaa

Soutenu le : 27/06/2024

Devant le jury composé de :

<b>Président</b>	Mme :CHALANE Fatiha	MCA Université UMTS
<b>Encadrant</b>	Mme : GHOUTI Dalila	MAA Université UMTS
<b>Examineur</b>	Mme : HOUAMRIA Moufida	MCB Université UMTS

**Année universitaire 2023/2024**

## *Remerciements*

Je remercie avant tout ALLAH tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir

Donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

J'adresse l'expression de mes très vives gratitudee et respects à mon encadreur, madame GHOUTI Dalila pour sa soutient, pour ses conseils utiles et sa gentillesse et pour ses

Appréciations sur ce travail.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération à Président madame Chalane Fatiha

Et Examineurs madame Houamria Moufida

D'avoir accepté de juger ce travail.

Un grand merci à toute l'équipe du **Laboratoire Pédagogique de Université Dr Molay Tahar** de la wilaya de Saida.

# Dédicace

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail  
de fin d'étude :*

*À la mémoire de mes grand parents lakhder et Khalifati Amehamed qui  
pourraient être fiers de moi, J'espère qu'où ils sont maintenant, ils apprécient  
cet humble geste comme preuve de reconnaissance de ma part, je prie toujours  
pour le salut de leurs âmes. Puisse Allah, le tout puissant, les avoir en sa sainte  
miséricorde ! Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce  
qu'ils méritent.*

*À l'homme de ma vie, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours  
sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde, à toi **mon père**, A la lumière de  
mes jours, ma vie et mon bonheur, **maman** que j'adore. Puisse dieu, vous  
accorder santé, bonheur et longue vie.*

*À mes grandes mères chéries dont la sagesse et l'amour ont toujours été une  
source de force*

*À mes frère Abd El Kader Youcef Slimen, Rayan, Dhirare, Lakhder, Abed,  
Mohamed*

*À ma chère tante par alliance pour son affection et mes tantes maternelles et  
paternelles ainsi qu'à mes cousines pour leur amour et leur soutien constant qui  
ont été une source d'inspiration pour moi*

*Et enfin à tous ceux qui m'ont soutenu pour mener à bien ce travail*

**Asmaa**

# Dédicace

*Je dédie ce travail*

***A ma chère mère***

*Qui mérite plus que ce que je peux offrir, ce travail est le résultat de tes sacrifices et de ton rêve réalisé.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'affection que j'ai toujours eus pour toi.*

*Tes conseils, ta bienveillance et tes encouragements m'ont permis de dépasser toutes les difficultés.*

*Je t'aime de tout mon cœur et je remercie Dieu de t'avoir comme maman.*

***À mon cher père***

*Qui a toujours été une source d'inspiration pour moi et un défenseur de la réalisation de mes rêves.*

*Grâce à ton soutien et à tes sages conseils, j'ai réussi à atteindre ce jour avec succès.*

*Je te remercie du fond du cœur pour chaque moment que tu as passé avec moi et pour chaque sacrifice que tu as fait pour moi.*

*Tu es mon père bien-aimé, un exemple d'inspiration et de dévouement.*

*Je suis fière de dire que je suis ta fille. Je t'aime de tout mon cœur.*

***À mon frère A ma chère sœur, son mari et leur fille***

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

***Et enfin, à mon cher fiancé,*** *qui a toujours été mon partenaire et mon ami. Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.*

*Je vous remercie tous pour votre amour et votre encouragement constants.*

*Ce mémoire doit son existence à vos efforts et à votre soutien*

***Fatima Zohra***

## Table de Matériel

Remerciement	
Dédicace	
Liste des Fuguer	
Liste des Tableaux	
Liste des Photo	
Liste Abréviation	
Résume	
Introduction Générale .....	2

### *Partir Bibliographique*

#### **Chapitre I : Généralité sur Blé**

I. 1 Histoire et d'origine de blé.....	5
I.2 Définition du blé .....	5
I.3 Taxonomie du Blé.....	6
I.4 Caractéristiques.....	6
I.5 Structure et composition du grain de blé .....	7
I.6 Déférant type des blés .....	8
I.6.1 Blé tendre .....	8
I.6.2 Blé dur.....	9
I.7 Les utilisations de la céréale du blé .....	10
I.8 Germination .....	11
I.8.1 . Définition .....	11
I.8.2. Morphologie de la germination .....	11
I.8.3 Physiologie de la germination .....	11
I.9 Conditions de la germination .....	11
I.9.1. Conditions internes .....	11
I.9.2. Conditions externes .....	11
I.10 Stockage du blé .....	12
I.10.1 - Stockage traditionnel du blé en Algérie .....	12
I.11 Modes de stockage : .....	13
I.11.1 Le stockage dans des silos souterrains : .....	14
I.11.2 Stockage en sac .....	14
I.11.3 Stockage en vrac (courte durée) .....	15

I.12 Altération d'origine environnementale .....	16
I.12.1 Les altérations enzymatiques : .....	17
I.12.2 Les altérations d'origine mécanique : .....	17
I.12.3 Les altérations d'origine biologique .....	17
I.14 La mycoflore du blé .....	18
I.14.1 Flore des champs.....	18
I.14.2 Flore de stockage .....	19
I.14.3 Flore intermédiaire.....	20
I.15 Procédés de traitement des grains .....	20
I.16 Un marché mondial du blé en progression .....	21
I.16.1 Les prévisions de la FAO concernant la production mondiale de céréales en 2021 .....	22
I.16.2 Le blé en Algérie.....	23
I.16.2.1 L'importation de blé en Algérie .....	23

## **Chapitre II : Etude Mycologique**

II.1 La mycologie .....	25
II.2 Définition des moisissures.....	25
III.3 Caractéristiques générales .....	26
II.4 Morphologie des champignons.....	26
II.5 Principales propriétés des Champignons .....	27
II.6 Développement des champignons filamenteux .....	28
II.6.1 Phase végétatif .....	28
II.6.2 phase reproductive .....	28
II.6.2.1 la reproduction asexuée .....	28
II.6.2.2 : la reproduction sexuée .....	29
II.7 Déférents modes de fécondation en fonction des champignons .....	30
II.8 Culture et identification .....	30
II.8.1 Examen macroscopiques .....	:30
II.8.2 Examen microscopiques .....	30
II.8.3 Compléments d'identification .....	31
II.9 Classification des champignons filamenteux .....	32
II.10 Mode de vie des moisissures .....	32
II.10.1 Le saprophytisme.....	33
II.10.2 Le parasitisme.....	33

II.10.3 La symbiose .....	33
II.11 Conditions de croissance .....	34
II.11.1 Eléments nutritifs .....	34
II.11.2 Facteurs physicochimiques .....	34
II.11.3 Facteurs biologique.....	36
II.12 Les problèmes liés aux champignons filamenteux et à leurs métabolites .....	36
II.12.1 Secteur agro-alimentaire .....	36
II.12.2 Secteur pharmaceutique et médical .....	37
II.13 Les principales moisissures toxigènes .....	37
II.13.1 Le Genre Penicillium .....	37
II.13.2 Le Genre Aspergillus .....	38
II.13.3 Le Genre Fusarium .....	40

### **Chapitre III : Etude Mycotoxicologique**

III.1. La nature et L'origine des mycotoxines .....	43
III.2. Mycotoxines .....	43
III.2.1. Définition Le terme "mycotoxine" .....	43
III.2.2. Production des mycotoxines.....	43
III.2.2.1 Température ( T °)et activités d'eau( AW) optimale .....	44
III.3 Les principales mycotoxines .....	44
III.3.1 Les Aflatoxines .....	44
III.3.2 L'Ochratoxine A .....	46
III.3.3 Les Trichothécènes.....	47
III.3.4 La Zéaralénone .....	47
III.3.5 Les Fumonisines.....	47
III.3.6 La Patuline.....	47
III.4 Synthèse des mycotoxines.....	49
III.4.1 Voies de biosynthèse de mycotoxines.....	49
III.5 Propriétés des mycotoxines .....	49
III.6 Biotransformation et mode d'action des mycotoxines.....	50
III.7 Les voies de pénétration chez l'homme et l'animal .....	51
III.8 Les aliments contaminés par les mycotoxines .....	52
III.9 Les facteurs influençant la production des mycotoxines : .....	52
III.9.1 Facteurs intrinsèques .....	52
III.9.1.1 Les facteurs biologiques.....	52

III.9.2 Facteurs extrinsèques .....	52
III.9.2.1 Facteurs physiques .....	52
III.9.2.2 Facteurs chimiques .....	53
III.10. Prévention.....	54
III.10.1 Les différentes stratégies .....	54
III.10.2 Décontamination et détoxification .....	54
III.11 l'échelle mondial .....	55
III.11.1 En Algérie .....	55
III.12 Méthode de détection des mycotoxines .....	55
III.12.1 Méthode physico-chimique .....	55
III.12.1.1 La chromatographie sur couche mince "CCM": .....	55
III.12.1.2 la chromatographie à haute performance " HPLC " .....	56
III.12.2 Méthode immunochimique .....	56
III.12.2.1 Elisa .....	56
III.12.3 Méthode biologique .....	56

## **Partie Expérimentale**

### **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

#### **Matériel et Méthodes**

IV. 1. Matériel .....	58
IV.1.1 Échantillons utilisés .....	58
IV.1.2 Milieux de culture .....	58
IV.2 Méthodes .....	59
IV.2.1 échantillonnage .....	59
IV.2.2 Analyses physico-chimiques .....	60
IV.2.3 Analyses mycologiques .....	60
IV.2.3.1 Détermination du pourcentage des grains cassées .....	60
IV.2.3.2 Dénombrement de la flore fongique .....	61
IV.2.3.2.1 Méthode directe.....	61
IV.2.3.2.2 Méthode de dilution .....	62
IV.3 Isolements et dénombrement de la flore fongique sur milieux PDA et CDA .....	63
IV.3.1 Identification des isolats.....	63
IV.3.1.1 Identification macroscopique .....	64

IV.3.1.2 Observation Microscopique .....	64
IV.3.2 Repiquage et purification des souches .....	65
IV.3.3 Conservation des isolats .....	65
IV.4 Identification des moisissures: .....	65
IV.4.1 Identification des genres: .....	65
IV.4.1.1 Identification des espèces d'Aspergillus et Penicillium .....	66
IV.5 Analyses mycotoxicologiques .....	67
IV.5.1 Recherche des souches productrices des mycotoxines .....	68
IV.5.2 Ensemencement sur milieu Y.ES.....	68
IV.5.3 Extraction.....	68
IV.6 Analyse chromatographique par C.C.M.....	70
IV.6.1 Séparation chromatographique .....	70

## **Chapitre V : Résultat et discussion**

II. Résultats et discussions. ....	73
II. 1. Résulta physicochimique et mycologique du blé <i>tendre</i> et dure .....	73
II. 1.1. Résulta physicochimique du blé <i>tendre</i> et blé <i>dure</i> .....	73
II. 1.2. Résulta mycologique du blé <i>tendre</i> et dure .....	75
II. 3 Résultats des analyses mycotoxicologiques .....	83
Conclusion Générale .....	86
Référence bibliographie .....	89
Annexe .....	100

## Liste des Figure

Figure 01 : Structure et composition du grain de blé .....	07
Figure 02 : Blé : marché mondial Encyclopædia <i>Universalise France</i> .....	22
Figure 03 : Septomycètes .....	27
Figure 04 : Représentation schématique de l'hyphe .....	28
Figure 05 : les différents modes de sporulation .....	29
Figure 06 : Schéma de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure .....	29
Figure 07: Schéma de classification des champignons filamenteux .....	32
Figure 08 : Aspect microscopique des <i>Penicillium</i> .....	38
Figure 09 : Tête aspergillaire d' <i>Aspergillus ochraceus</i> .....	39
Figure 10 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de <i>Fusarium</i> .....	40
Figure 11 : Métabolisme de l'AF B1 dans le foie (Afssa,2009) .....	45
Figure 12 : Voies métaboliques de l'OTA (Afssa, 2009).. .....	46
Figure 13. Principales voies d'absorption, de distribution, métabolisme et d'excrétion des mycotoxines (Jard, 2009). .....	51
Figure 14. Types d'inoculation dans les différents milieux de culture .....	67
Figure 15 : Protocole de l'extraction de l'aflatoxine (B1,G1) .....	69
Figure 16 Valeur moyenne de l'humidité relative d'échantillons de blé local exprimé en pourcentage .....	73
Figure N° 17: les Valeurs moyenne du pH des différents échantillons analysés :blé tendre local et blé dur local .....	74
Figure N° 18 (a) Pourcentage des grains cassés des différents échantillons de blé (BTL) BDL). (b) Valeur moyenne Globale des grains cassés(en pourcentage) des différents échantillons de blé (BTL , BDL) .....	75
Figure N 19 : Histogramme de germination des différent types de blé .....	77
Figure 20 : Pourcentage de moisissures présente dans chaque échantillon .....	79
Figure N°21 : Pourcentage globale des moisissures .....	80

## Liste des tableaux

Tableaux 01 : La classification botanique.....	6
Tableau 02 : La constitution biochimique du grain du blé .....	8
Tableau 03 : Différences entre un blé tendre et un blé dur .....	10
Tableau 4 : Propriétés principales des champignons .....	27
Tableau 5 : Quelques toxines produites par le genre <i>Penicillium</i> .....	38
Tableau 6 : Quelques toxines produites par le genre <i>Aspergillus</i> .....	40
Tableau 7 : Quelques toxines produites par le genre <i>Fusarium</i> .....	41
Tableau 8 : Les différentes mycotoxines .....	48
Tableau 09. Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement .....	50
Tableau 9 valeurs guides recommandées par le Codex Alimentarius pour les échanges mondiaux de denrée alimentaires destinée a l'homme .....	55
Tableau N 11: Origine et date de prélèvements des échantillons .....	59
Tableau 12. Les résultats de la flore fongique totale dans les trois échantillons .....	78
Tableau n°13 : Aspects macro-microscopique et les caractéristiques des souches .....	81
Tableau N°14 Identification des espèces de <i>Aspergillus</i> et <i>Penicilum</i> par la méthode de « Single spore » .....	83

## Liste des Photo

Photo 01 : grain de blé présente on face.....	6
Photo 02 : Blé Tendre.....	09
Photo 03 : Blé dur.....	09
Photo 04 : Coopérative des Céréales et des Légumes Sec (CCLS) de Saida .....	12
Photo 05 : Représente le stock moderne .....	13
Photo 06 : représente un silo souterrain de stockage.....	14
Photo 07: représente le stockage en sac .....	15
Photo 08 : représente le stockage en vrac.....	15
Photo 09 : Les champignons filamenteux .....	28
Photo 10 : Site de prélèvement Coopératives des Céréales et des Légumes Secs (CCLS) de wilaya de Saida .....	59
Photo 11 : Mesure de pH ed'un échantillon par le pH mètre .....	60
Photo 12 : Méthode d'Ulster ( <i>BDL, BTL</i> ) .....	62
Photo 13 : Méthode d'Ulster modifiée ( <i>BDL, BTL</i> ) .....	62
Photo 14 : Méthode de dilution de deux échantillons étudiés .....	63
Photo 15 : coloration et observation microscopique des isolats.....	64
Photo 16 : conservation d'un isolat dans un tube avis .....	65
Photo 17 : Identification des genres par la méthode HARIS. ....	66
Photo 18: Filtration de biomasse formée sur le milieu YES .....	68
Photo 19 : Extraction et concentration de l'extrait qui contient des métabolites secondaire ..	70
Photo 20 : la chromatographie sur couche mince (CCM ) des mycotoxines .....	71
Photo 21 :la germination du BD et BT selon les deux méthode .....	76
Photo 22 : la fongiques dans les trois échantillonnes (BT , BD , Biofilm) .....	77
Photo n° 23: détection des souches productrices de mycotoxine sous UV .....	83

## Liste Abréviation

**AFB** : aflatoxine b

**Aw** : Activité de l'eau

**BDL** : blé dur local

**BPH** : bonnes pratiques d'hygiène

**BPS** : Le respect des bonnes pratiques de stockage

**BTL** : Blé tendre local

**C°** : degré Celsius

**CCLS** : Coopérative des céréales et des légumes Sacs

**CCM** : La chromatographie sur couche mince

**EIA** : Enzymes Immuno Assay

**DON** : déoxynivalénol

**FAO** : Food and agriculture Organisation

**HACCP** : Hazard Analysis Critical Contrôle point

**HPLC** : chromatographie à haute performance

**OTA** : Ocratoxine

**P** : pincillium

**PAT** : La patuline

**Ph** : potentiel hydrogène

**T** : température

**TCT** : trichothécènes

**TCT** : Trichothécènes

**UV** : rayons ultraviolets

**ZEN** : La zéaralénone

## Résumé

Les maladies d'origine alimentaire constituent à l'heure actuelle l'un des problèmes de santé publique les plus répandus à l'échelle internationale. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes. En plus des virus et des bactéries pathogènes, les champignons toxinogènes constituent un danger réel pour la santé de l'homme et de l'animale par la sécrétion de substances hautement toxiques au cours de leur prolifération dans les aliments d'origine végétale ou animale. Le but de ce travail cadre l'approche problématique de la présence des moisissures sur les céréales et leur contamination éventuelle en mycotoxines. Les céréales occupent une importance sociale, économique et nutritionnelle pour la population.

De ce fait, nous réalisation une étude mycologique et mycotoxicologique comparative sur le blé tendre et dure local stocké et le biofilm dans Coopératives des céréales et des légumes sec (CCLS) de la région de Saida. Les résultats des différentes analyses mycologiques, montrent faible contamination de nos échantillons avec un taux plus élevé pour les échantillons de blé tendre (30%) et beaucoup plus de biofilm (55%) et pour le blé dur (15%). les principaux genres fongiques identifiés dans les échantillons analysés son : *Aspergillus*, *Penicillium*, et *Fusarium*, le genres le plus dominant est *Aspergillus* avec un pourcentage (18%) suivi par *penicillium* (13%) et en dernier genre *Fusarium* avec un pourcentage de contamination (8%) dans la région de la wilaya de Saida .

Cela nécessite la mise en place de bonnes pratiques agricoles et d'hygiène rigoureuses, avec pour objectif de réduire de manière significative la contamination, garantissant ainsi un produit de qualité sanitaire optimale et sécurisé pour le consommateur algérien.

**Mots clés :** Blé tendre, Blé dur, Microorganismes, Stockage, Mycotoxines, Moisissures.

## **Abstract :**

Foodborne diseases currently constitute one of the most widespread public health issues globally. These diseases are caused by various agents, particularly pathogenic microorganisms. In addition to pathogenic viruses and bacteria, toxinogenic fungi pose a real danger to human and animal health by secreting highly toxic substances during their proliferation in plant or animal origin foods. The aim of this study is to address the problem of mold presence on cereals and their potential contamination with mycotoxins. Cereals are of social, economic, and nutritional importance to the population.

Therefore, we conducted a comparative mycological and mycotoxicological study on local soft and hard wheat stored and the biofilm in the Cooperative of Cereals and Legumes (CCLS) in the Saida region. The results of various mycological analyses showed low contamination levels in our samples, with higher rates observed in soft wheat samples (30%) and significantly higher in biofilm (55%) compared to hard wheat (15%). The main fungal genera identified in the analyzed samples were *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Fusarium*, with *Aspergillus* being the dominant genus (18%), followed by *Penicillium* (13%) and *Fusarium* (8%) in the Saida region.

This occurrence was not very frequent across all samples and does not necessarily indicate poor storage conditions.

This requires implementing rigorous agricultural and hygiene best practices, aiming to significantly reduce contamination, thereby ensuring a product of optimal sanitary quality that is safe for Algerian consumers.

**Keywords:** Soft wheat, Hard wheat, Microorganisms, Storage, Mycotoxins, Molds.

## ملخص

الأمراض الناتجة عن الأغذية تشكل حاليًا واحدة من أكثر المشكلات الصحية العامة انتشارًا على الصعيد العالمي. تُسبب هذه الأمراض من قبل عوامل متعددة، خاصة الكائنات الدقيقة الممرضة. بالإضافة إلى الفيروسات والبكتيريا الممرضة، تشكل الفطريات المسممة خطرًا حقيقيًا على صحة الإنسان والحيوان بإفرازها لمواد سامة بشكل كبير أثناء تكاثرها في الأغذية النباتية أو الحيوانية. يهدف هذا البحث إلى معالجة مشكلة وجود العفن على الحبوب وتلوثها المحتمل بالميكوتوكسينات. تحتل الحبوب أهمية اجتماعية واقتصادية وغذائية كبيرة للسكان. لذلك، قمنا بدراسة ميكولوجية وميكوتوكسيكولوجية مقارنة على القمح الناعم والقاسي المحلي المخزن والفيلم الحيوي في التعاونية للحبوب والبقوليات (CCLS) في منطقة سعيدة. أظهرت نتائج التحاليل الميكولوجية المختلفة مستويات منخفضة من التلوث في عيناتنا، مع معدلات أعلى في عينات القمح الناعم (30%) وبشكل كبير في الفيلم الحيوي (55%) مقارنة بالقمح القاسي (15%). تم التعرف على الأجناس الفطرية الرئيسية في العينات المحللة وهي *Aspergillus*، *Penicillium*، و *Fusarium*، مع *Aspergillus* كونه الجنس السائد (18%)، تليه *Penicillium* (13%)، وأخيرًا *Fusarium* (8%) في ولاية سعيدة. لم تكن هذه الظاهرة شائعة جدًا في جميع العينات يتطلب هذا تنفيذ ممارسات زراعية ونظافة صارمة، بهدف تقليل التلوث بشكل كبير، مما يضمن منتجًا ذا جودة صحية مثالية وأمنة للمستهلك الجزائري

**\*الكلمات الرئيسية\*** : قمح ناعم، قمح قاسي، كائنات دقيقة، تخزين، ميكوتوكسينات، فطريات.

# **Introduction Générale**

## **Introduction Générale**

Les grains de céréales sont cruciaux pour l'alimentation humaine et animale en raison de leur valeur nutritionnelle élevée. Cependant, la production annuelle ne suffit pas à couvrir la consommation continue tout au long de l'année, ce qui rend le stockage indispensable. Malheureusement, divers agents tels que les vertébrés, les insectes, les moisissures et les acariens provoquent la détérioration des récoltes de céréales, entraînant des pertes mondiales estimées entre 5 et 10% en raison des moisissures et de leurs métabolites secondaires. **(Pfohl-Leskowicz , 1999).**

Parmi les céréales, le blé occupe une place de choix dans l'alimentation des populations algériennes **(Merabti, 2015 ; Fellahi, 2017)**

Les moisissures sont des agents de détérioration significatifs en raison de leur capacité à croître sur divers substrats, facilitée par leur large arsenal enzymatique. Elles peuvent altérer la qualité technologique des grains, notamment en réduisant le taux de gluten, et affecter la qualité sanitaire en produisant des allergènes et des agents toxiques responsables d'intoxications graves chez les humains et les animaux. Cela entraîne une réduction de la valeur nutritionnelle, des altérations sensorielles et des implications économiques importantes, comme les coûts associés à la détoxification des grains contaminés ou le rejet des produits affectés **(Gacem ,2012).**

Les techniques traditionnelles pour la transformation et la conservation de blé sont encore utilisées. Ces pratiques sont des conditions optimales pour le développement des moisissures pathogènes : ce qui constitue un sérieux problème pour la santé humaine **(Buissony et al., 2008).**

Les champignons toxigènes posent un grave risque pour la santé humaine et animale en produisant des substances hautement toxiques appelées mycotoxines. Ces toxines sont sécrétées pendant la prolifération des champignons dans les aliments d'origine végétale ou animale, et leur ingestion peut entraîner des intoxications aiguës ou chroniques. Ces effets néfastes soulignent l'importance de surveiller et de contrôler les contaminations par les mycotoxines pour prévenir les risques pour la santé publique et animale. Les mycotoxines, un groupe de substances toxiques produites par environ 200 variétés de champignons toxigènes, sont répandues dans une large gamme de produits alimentaires. À l'échelle internationale, plus de 400 mycotoxines ont été identifiées à ce jour. Leur présence dans les aliments peut constituer un risque pour la santé humaine et animale, nécessitant une surveillance et des mesures de contrôle rigoureuses pour minimiser leur impact sur la sécurité

alimentaire. Les plus inquiétantes sont : les aflatoxines (AFs), l'Ochratoxine A (OTA), les trichothécènes, la zéaralénone, les fumonisine, la patuline, les alcaloïdes de l'ergot et la citrinine (Ismail A, 2019 ; Kebede et al., 2020).

Pour limiter autant que possible la présence des mycotoxines dans l'alimentation, il est crucial de prévenir le développement des moisissures à toutes les étapes de la production et de la transformation des aliments. Cela inclut un contrôle rigoureux de l'humidité et de la température pendant le stockage des récoltes, car ces conditions favorisent la croissance des moisissures productrices de mycotoxines. Les mycotoxines sont des composés très stables qui peuvent résister à de nombreux procédés de préparation et de transformation des aliments. Même lorsque la moisissure responsable de leur production n'est plus visible, les mycotoxines peuvent persister. Cela souligne l'importance de mettre en place des mesures préventives solides pour minimiser la contamination par les moisissures dès le début de la chaîne alimentaire.

L'objectif de ce travail est basé essentiellement sur l'isolement, la purification et l'identification des moisissures à partir des graines de deux types de blé (*Triticumaestivum*), (*Triticumdurum*) stockés et l'évaluation de sa contamination par les champignons toxiques. La principale question de recherche auxquelles nous avons voulu répondre est

- ☒ Quelle est la flore fongique potentiellement productrice de mycotoxines isolée à partir des grains de blé?

Pour répondre à ces questions, le présent travail est structuré en trois parties distinctes

- ☒ Dans la première chapitre intitulé « Généralités sur le blé.
- ☒ Le deuxième chapitre, est consacré pour la partie expérimentale, Parlez-nous des champignons filamenteux, de leurs caractéristiques et de certains types des moisissures.
- ☒ Le troisième chapitre est consacré une étude mycotoxicologie
- ☒ Le quatrième chapitre de notre étude, illustre le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les résultats obtenus
- ☒ Enfin, une conclusion finale, qui récapitule notre étude et met en valeur les principaux résultats obtenus avec quelques perspectives

# **Chapitre I**

## **Généralité de Blé**

## **I.1 Histoire et d'origine de blé**

L'histoire du blé commence il y a 500.000 ans, avec la cueillette de graminées sauvages. Puis, vient le temps de la domestication, il y a 10.000 ans environ. L'homme cultive les premières céréales qu'il a repérées, issues de croisements spontanés entre graminées sauvages. Parmi ces céréales cultivées : l'engrain et l'amidonner. C'est un récit captivant de la façon dont la sélection humaine a façonné l'évolution du blé. La rencontre entre l'amidonner et l'*Aegilops squarrosa* pour former le *Triticum aestivum*, ainsi que l'évolution ultérieure vers les blés tendres et durs, illustre l'ingéniosité de l'agriculture et son impact sur la diversité des cultures céréalières. (Asmaa, B. R., et al 2021).

## **I.2 Définition du blé**

« Blé » est un terme générique qui désigne plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum*. Ce sont des plantes annuelles de la famille des graminées ou Poacées, cultivées dans de très nombreux pays. Le terme blé désigne également le grain (caryopse) produit par ces plantes.

Le blé occupe une place centrale dans l'alimentation humaine, surtout dans les régions occidentales et au Moyen-Orient. Sa récolte mondiale importante et sa forte consommation en font l'une des céréales les plus essentielles pour l'humanité, aux côtés du maïs et du riz. La domestication du blé à partir d'une graminée sauvage dans le Proche-Orient souligne son importance historique et culturelle. (GHANMI et al 2022)

### I.3 Taxonomie du Blé

--La classification botanique de cette plante est la suivante :

**Tableaux 01** : La classification botanique

Classification classique		Classification phylogénétique	
Règne	Plantae	Ordre	Poales
Sous –règne	Tracheobionata	Famille	Poaceae
Division	Magnoliophyta	<b>Espèces de range inférieur</b>	
Classe	Liliopsida	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Triticumaestivum</i> • <i>Triticumaethiopicum</i></li> <li>▪ <i>Triticumararaticum</i> • <i>Triticumboeoticum</i></li> <li>▪ <i>Triticumcarthilicum</i> • <i>Triticumcompactum</i></li> <li>▪ <i>Triticumdicoccoides</i> • <i>Triticumdicoccon</i></li> <li>▪ <i>Triticumdurum</i> • <i>Triticumispahanicum</i></li> <li>▪ <i>Triticumkaramyshevii</i> • <i>Triticummacha</i></li> <li>▪ <i>Triticummilitinae</i> • <i>Triticummonococcum</i></li> <li>▪ <i>Triticumpolonicum</i> • <i>Triticumsinskajae</i></li> <li>▪ <i>Triticumspelta</i> • <i>Triticumsphaerococcum</i></li> <li>▪ <i>TriticumTimopheevii</i> • <i>Triticumturanicum</i></li> </ul>	
Sous Classe	Commelinidae		
Ordre	Cyperales		
Famille	Poaceae		
Sous –Famille	Pooideae		
Tribu	Triticeae		

### I.4 Caractéristiques

- Longueur : 1 à 9 mm
- Longueur : 1 à 9 mm
- Epaisseur : 4 à 5 mm
- Poids : 30 à 50 mg

Le grain de blé présente sur sa face dorsale un germe à l'extrémité inférieure et la « brosse » à l'autre extrémité, et sur sa face ventrale un sillon longitudinal courant sur toute la longueur du grain.



**Photo 01** : grain de blé présente on face

## I.5 Structure et composition du grain de blé

### • Structure

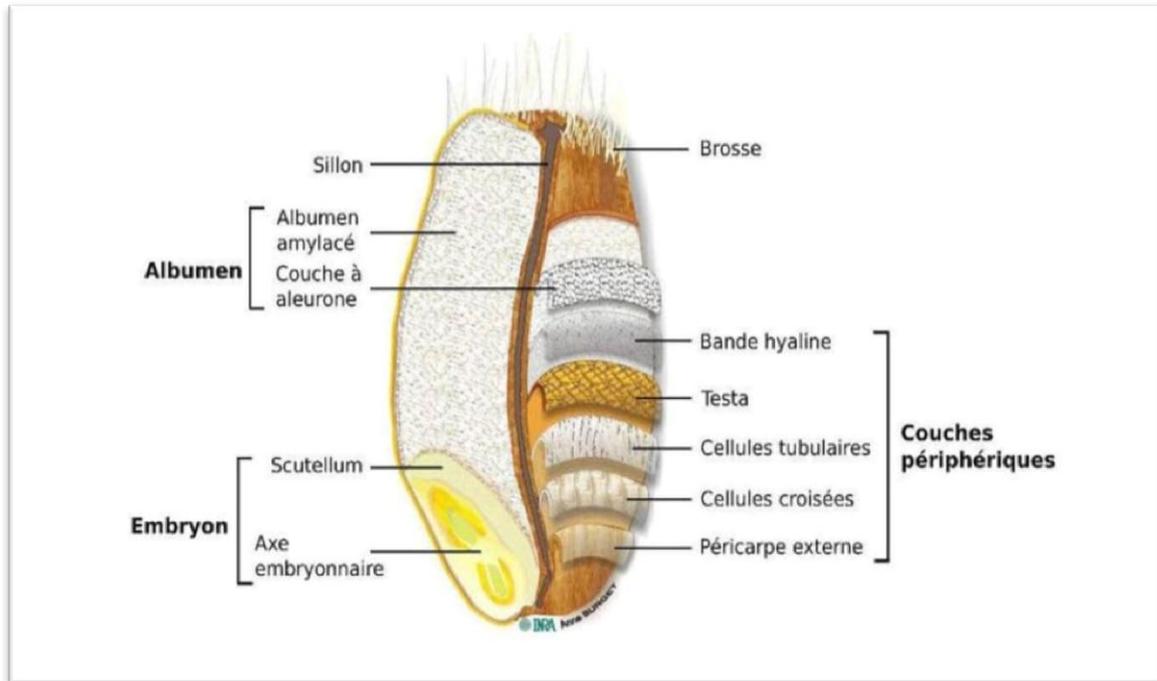


Figure 01 : Structure et composition du grain de blé (**Guide-silo**).

#### ▪ Composition histologique du grain de blé

Le grain de blé est de forme ovoïde plus ou moins allongée, son examen révèle : -une face dorsale plus ou moins bombée. -une face ventrale, comportant un sillon profond. – à sa partie supérieure, de courts poils forment la brosse. – à sa partie inférieure, le germe est visible sur la face dorsale. C'est intéressant de voir à quel point le grain de blé peut varier en forme et en couleur en fonction de différents facteurs tels que le sol, la culture et le climat. Ces variations ajoutent à la richesse et à la diversité des variétés de blé cultivées dans le monde. (**Leslie Jacquemin, 2012**).

**Tableau 02** : La constitution biochimique du grain du blé (Hacini, 2014).

Composition macromolécules (éléments majeurs)	Composition micromolécules ( élément mineurs )
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Les protéines : 10-15%, soit structurale ou fonctionnaire, simple ou complexe, contient certains acides aminés nécessaires tels que tryptophane, méthionine, lysine et thréonine. Le gluténines et les gliadines forment 80- 95% des protéines du grain du blé, le tout donne un gluten, le reste donne l'albumen et la globuline (protéine soluble).</li> <li>▪ Les glucides : généralement ils sont complexes tels que l'amidon à 70% L'amidon est un polysaccharide essentiel grâce à son pouvoir fixateur d'eau et son pouvoir gélifiant. Les lipides : 2%, localisés au niveau du germe et en assise protéique.</li> <li>▪ Eau: Toujours présent, dans certaines situations, il dépasse certains seuils, ce qui permet l'attaque fongique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pigments et vitamines : les pigments sont des complexes chimiques, localisés au niveau du germe et du péricarpe. Des fois, ils sont liés aux vitamines (pigments caroténoïdes).</li> <li>▪ Les enzymes : sont des composés complexes à très faible quantité, ils causent la transformation de substrats, on citera : amylases, lipases, protéase et lipoxydases.</li> <li>▪ Les minéraux : (&lt;0.4%) ils se trouvent à faible quantité sur la couche extérieure du germe (Zinc, calcium, magnésium, manganèse, potassium, fer, cuivre, sulfate). Ils sont liés où sous forme des sels, avec des concentrations inégales dans les différentes parties du grain du blé</li> </ul>

## I.6 Déferant type des blés

Oui, le blé est en effet l'une des cultures les plus anciennes et importantes au monde. Les céréales, comme le blé, constituent une part essentielle de l'alimentation humaine, fournissant des glucides, des protéines et d'autres éléments nutritifs importants. Et la distinction entre le blé tendre et le blé dur est cruciale dans de nombreuses applications culinaires

### I.6.1 Blé tendre

Le blé *tendre* (*Triticumaestivum*), ou blé panifiable, est de loin de plus cultivé. Il se caractérise par une forte teneur en protéines et en gluten, et par un albumen de texture plus ou moins *dure*. Ses Débouchés sont :

- 20% vers la meunerie (fabrication du pain, des pâtisseries et des biscuits)
- 20% vers l'amidonnerie
- 10% vers l'alimentation animale
- 50% exportée.



**Photo 02 : Blé Tendre**

### **I.6.2 Blé dur**

Le blé *dur* (*Triticum Durum*) ou blé pastifiable est connu pour sa dureté, sa forte teneur en protéines, sa couleur jaune intense, son goût de noisette et ses excellentes qualités de cuisson. 25 à 30 millions de tonnes de blé *dur* sont produites chaque année, soit 4 % de la production mondiale de blé.



**Photo 03 : Blé dur**

**Tableau 03** : Différences entre un blé tendre et un blé *dur* (Aidani, 2015).

Caractère	Blé tendre	Blé dur
Aspect génétique	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 3 génome A.B et D</li> <li>▪ <math>2n = 42 = 3x(2x7)</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 2 génomes A et B</li> <li>▪ <math>2n = 28 = 2x(2x7)</math></li> </ul>
Prédominance	De l'amidon	Des protéines
Aspect de la plante	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Feuilles très étroite</li> <li>▪ Maturation rapide</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Feuilles large</li> <li>▪ Maturation très longue</li> <li>▪ Moisson tardive exigeante du point de vue sol et climat.</li> </ul>
Forme	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Texture opaque</li> <li>▪ Structure de l'amande farineuse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Texture vitreuse</li> </ul>
Utilisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Obtention de la farine utilisée dans la fabrication du pain et des biscuits</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Obtention de la semoule à partir de laquelle on fabrique de la galette, du couscous et des pâtes alimentaires</li> </ul>

## I.7 Les utilisations des graines du blé

La céréale du blé est cultivée principalement pour son grain, mais également pour sa paille, utilisée comme litière, fumier et alimentation. Elle est aussi souvent cultivée pour la récolte en vert (en épis) (Moule, 1971).

La majorité des utilisations du blé concerne l'alimentation humaine et animale. Dans l'alimentation humaine, le blé *dur* est destiné à la biscuiterie, à la fabrication de semoule et de pâtes. Le blé *tendre*, quant à lui, est principalement utilisé en meunerie pour obtenir de la farine nécessaire à la production de pain, de viennoiseries et de pâtisseries.

En dehors de ces usages traditionnels, de nouvelles applications industrielles du blé ont émergé ces dernières années, comme la fabrication de bioplastiques à base de gluten ou d'amidon. Ces bioplastiques, utilisés pour des sacs plastiques, des plastiques agricoles, des emballages et certains produits d'hygiène, sont biodégradables et renouvelables, offrant un avantage sur leurs homologues d'origine fossile. L'amidonnerie, le troisième secteur valorisant le blé en France, utilise l'amidon pour fabriquer des épaississants alimentaires.

L'amidon a également de multiples usages dans l'industrie chimique, par exemple dans la pharmacie où il sert de dragéfiant, de liant ou de principe actif tel que le sorbitol. L'amidon transformé est aussi employé dans la fabrication de papier, de carton et de détergents. De plus, l'amidon de blé *tendre* est utilisé depuis plusieurs années comme matière première pour la fabrication de biocarburants (Debiton, 2010).

## **I.8 Germination**

### **I.8.1. Définition**

La germination est le premier stade du cycle de vie des plantes pour produire une nouvelle génération (Aya *et al*, 2011).

La germination est le processus par lequel une graine, une semence, une spore ou une endospore commence à se développer pour former une cellule végétative lorsque les conditions environnementales sont favorables. Cela implique souvent l'absorption d'eau par la graine, suivie de la croissance et de la division cellulaires pour former une jeune plante

### **I.8.2. Morphologie de la germination**

La germination commence par l'imbibition d'eau par la graine, ce qui la fait gonfler. Ensuite, le tégument se fend et la radicule émerge, se dirigeant vers le sol grâce à un géotropisme positif, également appelé gravitropisme .Ensuite, la tige émerge et s'allonge vers le haut. Les téguments de la graine se dessèchent et tombent. Ce processus marque le début de la croissance de la plante à partir de la graine (Meyer *et al*, 2004)

### **I.8.3 Physiologie de la germination**

Pendant la germination, la graine se réhydrate et utilise de l'oxygène pour oxyder ses réserves afin de fournir l'énergie nécessaire à la croissance. La perméabilité du tégument et le contact avec les particules du sol influent sur l'absorption d'eau et la pénétration de l'oxygène. Les réserves de la graine, sous forme de nutriments divers, sont ensuite digérées pour fournir les substances nécessaires à la croissance de la jeune plante (Meyer *et al*, 2004)

## **I.9 Conditions de la germination**

### **I.9.1. Conditions internes**

Plusieurs causes peuvent empêcher la germination des graines même dans des conditions optimales. La dormance de l'embryon et les inhibitions de germination sont deux facteurs possibles. La dormance peut être due à des facteurs internes ou externes à la graine, tandis que les inhibitions de germination peuvent résulter de conditions environnementales inappropriées ou de la présence de substances inhibitrices. Pour que la germination soit réussie, les graines doivent être vivantes, mûres, aptes à germer (non dormantes) et en bonne santé (Djennde *et Attalaoui*, 2019).

### **I.9.2. Conditions externes**

La graine exige la réunion des conditions extérieures favorables à savoir l'eau, l'oxygène, la température et la lumière.

## I.10 Stockage du blé

C'est une pratique essentielle pour garantir la sécurité alimentaire et assurer la disponibilité de semences pour la prochaine saison de plantation. Le stockage adéquat des grains est crucial pour préserver leur qualité et leur valeur nutritive, ainsi que pour garantir des récoltes futures réussies. Les silos offrent un moyen efficace de stocker les grains tout en préservant leur qualité pour une utilisation ultérieure comme semences (**Druvefors, 2004**). Plus le taux d'humidité du grain à la récolte est élevé, plus les conditions de croissance microbienne sont favorables (**Molinie et al., 2005**).

Le but de la conservation est de maintenir l'intégrité des principales qualités des grains par des méthodes appropriées, qui ne peuvent pas être améliorées pendant le stockage. C'est intéressant de voir comment les premiers systèmes de stockage étaient basés sur des matériaux naturels disponibles localement, comme les roseaux, l'argile et la paille. Ces méthodes traditionnelles ont sans aucun doute été innovantes pour leur époque, mais les silos modernes offrent maintenant des avantages supplémentaires en termes de préservation et de gestion des récoltes (**Druvefors, 2004**).



**Photo 04** : Coopérative des Céréales et des Légumes Sec (CCLS) de Saida

### I.10.1 - Stockage traditionnel du blé en Algérie

Les agriculteurs algériens conservent principalement les produits de leurs champs d'orge et de blé dans les hauts plateaux, en les creusant avec de l'argile, qui est appelée « Matour » ou stockée dans des sacs en toile de jute. Dans divers endroits, entrepôts ou hangars. L'humidité excessive et les infiltrations d'eau sont les principaux inconvénients de ce mode de

stockage, qui favorise la croissance des moisissures et la fermentation bactérienne. Aujourd'hui, les silos permettent de stocker différents types de céréales en même temps. Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en acier inoxydable.

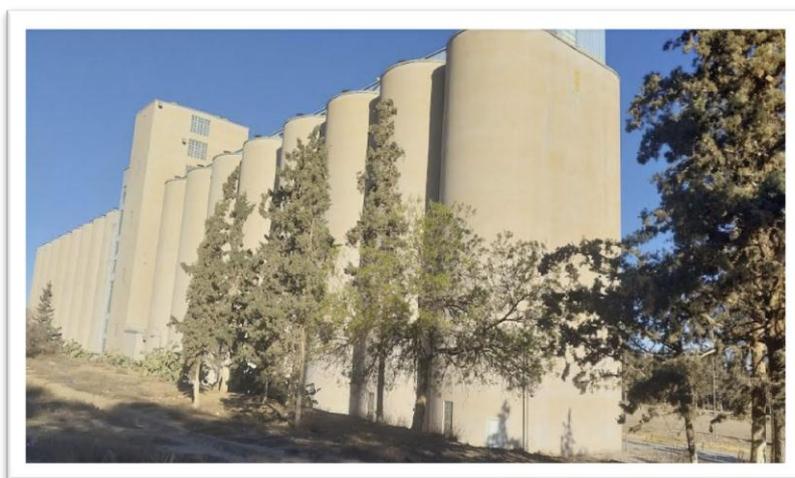
L'utilisation de silos réduit le travail, augmente la zone de stockage et élimine l'utilisation de sacs coûteux (**Gacem, 2011**).

### **I.11 Modes de stockage :**

Le stockage des graines est crucial pour assurer leur conservation. Les systèmes traditionnels de stockage se sont développés en fonction des ressources locales disponibles, et ils varient en fonction des régions et des cultures. Cette adaptation aux conditions locales est essentielle pour garantir l'efficacité et la durabilité du stockage des récoltes (**Kossou & Aho, 1993**).

Les conditions d'entreposage jouent un rôle crucial dans la préservation des graines, car des conditions inadéquates peuvent entraîner la germination et la croissance de moisissures. Éviter la ré-humidification des graines et le chauffage biologique est essentiel pour maintenir leur qualité. Comme vous l'avez mentionné, il existe une grande diversité de méthodes de stockage, chacune adaptée aux besoins et aux ressources disponibles localement.

Cette diversité reflète l'ingéniosité des agriculteurs dans la préservation de leurs récoltes. (**Multon, 1982**). Les céréales sont stockées à plusieurs endroits, et cela en fonction des besoins. Généralement on distingue deux infrastructures de stockage : traditionnelles dans les greniers pour les petits producteurs et celles modernes dans les magasins pour les grands producteurs.



**Photo 05 :** Représente les silos de stockage.

### I.11.1 Le stockage dans des silos souterrains :

La description que vous donnez illustre parfaitement les méthodes traditionnelles de stockage utilisées par les agriculteurs algériens, en particulier sur les hauts plateaux. Ces enceintes creusées, appelées "Elmatmoura", étaient souvent construites dans des zones sèches à partir de sols argileux, offrant ainsi un moyen rudimentaire mais efficace de stocker les récoltes. Bien que cette technique soit considérée comme archaïque, elle peut encore être utilisée dans certaines régions isolées où les ressources et les infrastructures modernes sont limitées. (Doumaïndji A et al, 1989)



**Photo 06** : représente un silo souterrain de stockage

#### ▪ **Avantage**

Ce mode de stockage est intéressant du fait de sa relative facilité de construction, de son faible coût, de sa bonne isolation thermique, de la protection qu'il apporte contre les attaques de rongeurs, de la diminution de l'activité des insectes et de la protection contre une infestation grâce à l'étanchéité relative à l'air qui réduit les échanges gazeux avec l'extérieur.

#### ▪ **Les inconvénients**

Les inconvénients Les principaux inconvénients de ce type de stockage sont : La difficulté à vider la fosse, les dommages causés par l'humidité et la condensation d'eau, ainsi que la possibilité de prolifération de champignons en surface, ce qui peut réduire la concentration en oxygène de l'atmosphère interstitielle et affecter la conservation du reste du stock. (SHEJBAL J., et BAISLAMBERT JN, 1982).

### I.11.2 Stockage en sac :

Est une méthode courante pour conserver les grains, utilisant des sacs en toile de jute ou en polypropylène, souvent de manière temporaire. Lorsque les locaux de grande capacité sont saturés en raison d'une forte production, des hangars et des magasins annexes sont utilisés pour entreposer les sacs supplémentaires. (Doumaïndji A et al, 1989).



**Photo 07:** représente le stockage en sac

▪ **Avantage :**

Le stockage en sac présente l'avantage d'utiliser des bâtiments existants, et les sacs de jute favorisent une bonne aération des grains, ce qui contribue à leur conservation. (Matouk, S. 2019).

▪ **Les inconvénients :**

D'après (CRYZ et al, 1988) le stockage en sac présente quelques inconvénients majeurs, notamment la faible isolation des sacs contre l'humidité, la température et les déprédateurs, ainsi que la nécessité d'une main-d'œuvre qualifiée et importante, ce qui peut augmenter les coûts. De plus, les opérations de chargement et de déchargement peuvent être difficiles

**I.11.3 Stockage en vrac (courte durée)**

le stockage en tas dans des hangars ouverts à charpente métallique expose les grains à différents risques. Les contaminations restent possibles en raison des espaces entre les murs et le toit, permettant le passage des nuisibles tels que les souris, les rats, les oiseaux et les insectes. De plus, l'influence des intempéries demeure, favorisant le développement de moisissures et de bactéries, ce qui peut compromettre la qualité des grains stockés. (DOUMAINDJI et al, 2003).



**Photo 08 :** représente le stockage en vrac

La topographie des lieux est essentielle pour le stockage des grains, qu'il soit en vrac ou en sac. Il est préférable d'éviter les zones basses et inondables, en privilégiant les points hauts d'où les eaux de pluie peuvent s'évacuer facilement. L'accessibilité est également cruciale, avec des voies d'accès praticables par tous les temps et capables de supporter des véhicules lourds. L'implantation près des voies de communication limite l'élévation de température due au rayonnement solaire. L'orientation du magasin est également importante, idéalement est-ouest pour éviter l'exposition directe au soleil, avec les portes opposées dans l'axe des vents dominants pour favoriser la ventilation (**CRYZ et al, 1988**)

## **II.12 Altération d'origine environnementale**

### **• L'humidité**

la teneur en humidité est cruciale lors du stockage des grains. Un contenu d'humidité élevé favorise la croissance d'insectes et de champignons, entraînant des pertes importantes. C'est pourquoi le contrôle de l'humidité est essentiel pour préserver la qualité des grains (**Vasquez et al.,2008**). une teneur élevée en humidité favorise la respiration des grains, ce qui entraîne la libération de chaleur à l'intérieur des grains stockés. Cette accumulation de chaleur peut aggraver les problèmes de conservation en favorisant la croissance de micro-organismes et en accélérant la détérioration des grains (**Cruz et al.,2002**)

### **▪ La température :**

La température est un facteur essentiel dans la conservation des grains. Des conditions de température appropriées peuvent prévenir la détérioration et prolonger la durée de conservation des grains. (**Cruz et al., 2002**). la croissance des microorganismes peut être rapide dans des conditions de température favorables (**Multon,1982**).

Elle est le facteur le plus important qui affecte la qualité du grain au cours de stockage (**Kusinska, 2001**).

La température influence directement la valeur de l'activité de l'eau ( $A_w$ ) ainsi que la vitesse des réactions chimiques et enzymatiques. Ces facteurs sont cruciaux car ils déterminent la croissance des microorganismes, et donc la qualité et la durée de conservation des grains (**Richard-Molard, 1998**).

Plus la température est élevée, plus les réactions biologiques des microorganismes se déroulent rapidement, ce qui peut entraîner une détérioration plus rapide des grains pendant le stockage. C'est pourquoi il est important de maintenir une température appropriée pour prolonger la durée de conservation des grains (**Multon, 1982**)

### **I.12.1 Les altérations enzymatiques :**

Les altérations enzymatiques, causées par les enzymes naturellement présentes dans les grains, se manifestent de diverses manières. Ces enzymes, telles que les hydrolases, agissent sur les protéines, les lipides et les glucides, produisant des produits qui peuvent se dégrader davantage par d'autres voies. (Multon, 1982). C'est ainsi que Les lipases sont des enzymes qui catalysent la libération d'acides gras à partir des lipides présents dans les grains. Ces acides gras peuvent ensuite être oxydés par une enzyme appelée la lipoxygénase, ce qui peut entraîner une détérioration supplémentaire des grains. il est essentiel de ne pas négliger ces altérations enzymatiques, car elles peuvent entraîner la formation de produits potentiellement toxiques, tels que ceux issus de la fermentation. De plus, les réactions de Maillard, qui se produisent entre les sucres et les protéines en présence de chaleur, génèrent de nombreux composés intermédiaires, dont certains ont une activité physiologique reconnue. À un stade avancé, ces réactions conduisent à la formation de composés brunâtres et à la destruction des vitamines B1, E et des caroténoïdes, affectant ainsi la valeur nutritionnelle des grains (Afnor, 1986).

### **I.12.2 Les altérations d'origine mécanique :**

Les altérations d'origine mécanique résultent de chocs qui entraînent des cassures et favorisent d'autres formes d'altération. L'utilisation de radiations telles que les rayons gamma et les rayons ultraviolets (UV) peut également provoquer des altérations radiochimiques, telles que la pyrolyse, la redistribution de l'eau dans le grain et l'adhésion de l'amidon et des constituants protéiques (Afnor, 1986)

### **I.12.3 Les altérations d'origine biologique**

#### **▪ Les micro-organismes :**

Divers petits vertébrés tels que les souris, les rats et les oiseaux peuvent se nourrir des stocks de grains mal protégés, ce qui peut entraîner des pertes importantes (Multon, 1982). De plus, ils peuvent agir comme vecteurs de germes pathogènes, provoquant des contaminations et des lésions physiques dans les tissus végétaux, favorisant ainsi la pénétration des spores de champignons (Jouany et al. 2002) La présence d'arthropodes, en particulier d'acariens, est souvent le signe de mauvaises conditions de conservation. Les acariens vivant sur les grains moisiss peuvent transporter des spores de champignons sur leur corps, dans leur tube digestif et dans leurs fèces. Beaucoup d'acariens se nourrissent également de moisissures, préférant les espèces les plus abondantes (Molinie et al, 2005). Les insectes peuvent endommager l'enveloppe des grains, facilitant ainsi la pénétration des moisissures à l'intérieur de la graine. Certains insectes peuvent également disséminer des

espèces de champignons producteurs de mycotoxines. Lorsque les insectes et les rongeurs sont contrôlés, les moisissures sont souvent la principale cause de détérioration (**Magan et al., 2003**)

#### ▪ Les microorganismes

Les grains fraîchement récoltés offrent un environnement favorable à plusieurs types de bactéries. La population bactérienne est principalement composée d'eubactéries, parmi lesquelles les entérobactéries sont très présentes, notamment les coliformes, qui sont abondants sur les céréales (**Withlow et al., 2001**).

### I.14 La mycoflore du blé

Plus de 150 espèces de moisissures filamenteuses ont été identifiées comme contaminants extérieurs sur les grains de céréales. Les graines sont naturellement exposées aux spores fongiques avant, pendant et après la récolte, ainsi que durant le transport et le stockage. La croissance des moisissures est influencée par divers paramètres physico-chimiques, notamment la quantité d'eau libre ( $A_w$ ), la température, la présence d'oxygène, la nature du substrat et le pH (**Jouany et al., 2002**). Les moisissures des champs nécessitent une humidité élevée (20 à 25%) pour se développer, tandis que celles de stockage peuvent croître sur des substrats contenant de 10 à 18% d'humidité (**Molinie et al., 2005**). Les moisissures colonisant les grains sont classées en trois groupes : les moisissures de champ, les moisissures de stockage et la flore intermédiaire (**Magan et al., 1988**).

#### I.14.1 Flore des champs

Les grains de blé sont contaminés par des microorganismes présents dans le champ, principalement des moisissures (**Deak, 2008**). Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (**Dendy et al., 2000**). Les genres les plus courants incluent *Alternaria* (le plus fréquent), *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium* (moins fréquents), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (**Sauer et al., 1982 ; Zillinsky, 1983**).

Ces moisissures sont bien adaptées aux changements rapides des conditions dans le champ et nécessitent des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale (**Adams et al., 2008**). Selon les conditions spécifiques, ces champignons peuvent mourir lentement pendant le stockage ou survivre pendant de longues périodes. Leur survie est prolongée à basse température et à faible humidité (**Roberts, 2005**).

☞ **Le genre *Alternaria*** : Il est fréquemment rencontré, même dans le blé cultivé dans des zones arides (**Dendy et al., 2000**). Les espèces les plus courantes sont : - *Alternaria alternata*, connue pour produire des mycotoxines. - *Alternaria tenuissima*, capable

de produire des toxines telles que l'acide ténuazonique (**Andersen et al., 2002**). - *Alternaria infectoria*, qui cause la décoloration et la dévalorisation du grain sans être toxigène (**Webley et al., 1997**).

☞ **Le genre *Fusarium*** : Il comprend des espèces à la fois pathogènes et saprophytes. Les espèces fréquemment rencontrées sont : - *Fusarium culmorum* - *Fusarium graminearum* – *Fusarium avenaceum* – *Fusarium poae* (**Van der Burgt et al., 2009**). Les champignons du genre *Fusarium* ont la capacité de produire des mycotoxines.

#### **I.14.2 Flore de stockage**

Les facteurs environnementaux peuvent exercer une pression sélective influençant la structure de la communauté et la dominance de certaines espèces mycotoxigènes (**Magan et al., 2003**).

Les moisissures des grains de blé stockés sont présentes sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe ou de spores en dormance à la surface du grain. Cependant, un certain nombre de moisissures sont aussi superficiellement associées aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leur capacité à se développer sur divers substrats et dans une large gamme de températures et d'humidité (**Mathew et al., 2011**).

##### ☞ **Le genre *Aspergillus*** :

Chaque espèce de moisissure de stockage a ses propres conditions de développement (**Christensen et al., 1969**). Dans le blé stocké, les moisissures du genre *Aspergillus* se multiplient d'autant plus rapidement que la température (jusqu'à 40°C) et l'activité de l'eau sont élevées (**Feillet, 2000**).

Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées dans le blé stocké sont *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* (**Mathew et al., 2011**). Si le blé est stocké avec une teneur en humidité de 14 à 15% et à une température d'environ 70°C, il sera lentement envahi par d'autres espèces comme *Aspergillus restrictus*, qui prédomine dans le blé stocké pendant quelques mois si l'humidité est inférieure à 15%. Au-dessus de 15% d'humidité, d'autres espèces peuvent apparaître telles que *Aspergillus repens*, *Aspergillus amstelodamii* et *Aspergillus ruber*, qui conservent leur dominance même à des teneurs en humidité supérieures à 18% (**Christensen et al., 1969**).

##### ☞ **Le genre *Penicillium*** :

Les moisissures de ce genre sont moins fréquentes avant la récolte mais commencent à croître rapidement pendant le stockage, lorsque les conditions appropriées sont réunies. Elles se développent même lorsque la teneur en eau est relativement basse, mais elle doit être au-

dessus d'un seuil d'environ 14% et d'un taux d'humidité de 75% (Neergaard, 1977; Boudreau et al., 1992). Les espèces les plus communes sont *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium hordei*, *Penicillium frei*, *Penicillium melanoconidium*, *Penicillium polonicum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* et *Penicillium crustosum* (Dijksterhuis et al., 2007).

Les espèces *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* peuvent causer la pourriture de la tige et la brûlure de l'épi du blé. Ces infections de champ peuvent entraîner une altération post-récolte plus importante si le blé est stocké avec une activité de l'eau trop élevée (Adams et al., 2008).

#### I.14.3 Flore intermédiaire

Cette catégorie présente un comportement plus diversifié et regroupe des germes capables d'un développement limité au début du stockage, surtout dans des conditions particulières comme sur des grains insuffisamment secs. Les genres les plus couramment rencontrés incluent *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Absidia*, et *Mucor* (Godon et al., 1997).

### I.15 Procédés de traitement des grains

Protéger les grains contre les altérations implique de prendre un ensemble de mesures applicables à toutes les étapes de leur vie, depuis la récolte (et même avant) jusqu'à leur utilisation (Multon, 1982). La qualité initiale des grains, la maîtrise de la température, de l'humidité et de la composition du milieu ambiant, ainsi que les traitements physiques et chimiques, sont essentielles pour contrôler l'activité microbienne (Multon, 1982). Plusieurs méthodes de traitement des grains existent pour atteindre ces objectifs.

#### a. La lutte chimique

Les acides organiques de faible poids moléculaire, tels que l'acide propionique, l'acide acétique et l'acide formique, ainsi que leurs sels, sont couramment utilisés pour conserver les grains (Magan et al., 2004). Cependant, ces substances présentent de nombreux inconvénients : leur efficacité est limitée dans le temps, elles sont corrosives, peuvent détruire la viabilité des graines et nécessitent des précautions spéciales pour éviter l'inhalation. Dans certains cas, l'utilisation d'acides peut même augmenter la production de mycotoxines dans les grains traités, car certains champignons utilisent ces acides comme source de carbone (Tatsadjieu et al., 2009).

Actuellement, il existe une tendance mondiale à minimiser, voire interdire, l'utilisation de pesticides dans les produits agricoles, ce qui rend urgent la recherche de méthodes alternatives de conservation des grains (Bankole, 1997 ; Tatsadjieu et al., 2009). Le traitement des

grains humides avec de l'ammoniac gazeux ou en solution, visant à inhiber le développement de la microflore, suscite un intérêt croissant (Multon, 1982). Certaines substances chimiques, comme l'oxyde d'éthylène et le bromure de méthyle, présentent un risque toxique significatif (Leyral et al., 2003), induisant des phénomènes de résistance chez les champignons pathogènes et une accumulation de résidus (Flamini et al., 2003).

L'aldéhyde formique a été utilisé avec succès pour lutter contre le développement des moisissures dans les grains, mais son emploi présente également de nombreux problèmes, tels que des odeurs, des changements de couleur et une perte d'activité enzymatique (Flamini et al., 2003).

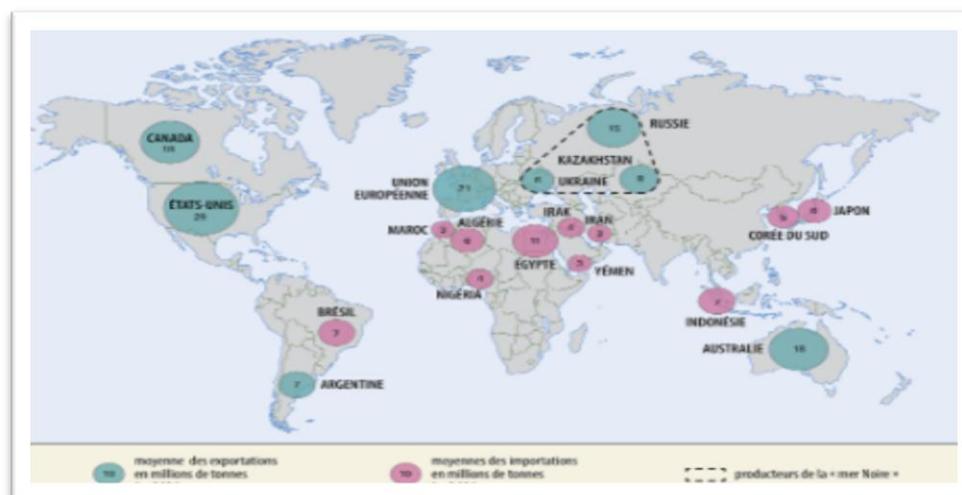
#### **b. La lutte biologique**

De nombreuses levures et bactéries se sont révélées efficaces pour contrôler les produits agricoles frais après la récolte. Les mécanismes par lesquels la croissance fongique et la production de mycotoxines peuvent être empêchées dans un environnement concurrentiel incluent la compétition pour les nutriments, l'induction de mécanismes de défense et les interactions hyper parasitiques. Bien que le contrôle biologique ne soit pas encore viable pour les grains, un avantage potentiel des études sur les champignons antagonistes pourrait être la découverte de composés inhibiteurs de la production de champignons et/ou de mycotoxines de stockage (Magan et al., 2004).

La majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne, près de la moitié étant synthétisée par les actinomycètes, en particulier par le genre *Streptomyces*, le plus répandu dans l'environnement (Eckwall et al., 1998).

### **I.16 Un marché mondial du blé en progression**

Les échanges internationaux de blé sont en effet significatifs, représentant environ 20 % de la production mondiale, avec une moyenne de 135 millions de tonnes par an. Bien que le blé reste la céréale la plus échangée sur les marchés internationaux, les volumes échangés ont connu une augmentation notable, augmentant d'un tiers entre le début des années 2000 et le début des années 2010, après s'être stabilisés dans les années 1980 et 1990.



**Figure 02:** Blé : marché mondial Encyclopédie *Universalise France*

Les principaux pays importateurs se trouvent en Afrique du Nord (Égypte, Algérie...), au Moyen-Orient (Irak...) ainsi qu'en Asie orientale (Japon, Corée du Sud...) et sud-orientale (Indonésie...).

Face à une demande qui provient de plus de 160 pays, l'offre apparaît très concentrée économiquement et géographiquement : un petit groupe de cinq exportateurs (États-Unis, Canada, Argentine, Australie et Union européenne) réalise les deux tiers des exportations mondiales de blé. Loin de s'accorder entre eux, afin de stabiliser le marché international du blé, ils s'y affrontent pour conserver ou accroître leurs parts de marché. Les réformes de la Politique agricole commune de 1992, 1999 et de 2003 ainsi que l'envolée des cours du blé font que l'Union européenne peut exporter aujourd'hui du blé sur le marché mondial sans « restitutions », c'est-à-dire sans aides à l'exportation. La compétition entre les grands exportateurs « traditionnels » de blé est devenue d'autant plus vive qu'un nouvel exportateur majeur est apparu depuis les années 2000 : l'ensemble formé par les « pays de la mer Noire » (Russie, Ukraine, Kazakhstan), ensemble désormais capable d'exporter certaines années davantage de blé que les États-Unis.

### **I.16.1 Les prévisions de la FAO concernant la production mondiale de céréales en 2021**

Les prévisions de la FAO pour la production mondiale de céréales en 2021 indiquent une légère baisse des estimations pour le blé ce mois-ci. Cette révision est due aux conditions météorologiques sèches au Proche-Orient, qui ont réduit les perspectives de rendement. Par conséquent, la production mondiale de blé en 2021 a été abaissée de 1 million de tonnes, s'établissant maintenant à 784,7 millions de tonnes. Malgré cette réduction, cela représente encore une augmentation de 1,2 % par rapport à l'année précédente.

### **I.16.2 Le blé en Algérie**

Le blé est un produit de base dans les pays arabes, avec l'Algérie se distinguant comme l'un des plus grands consommateurs, atteignant près de 600 grammes par personne par jour (**Abis, 2012**).

Selon Rastoin et Benabderrazik (2014), la production de blé en Algérie se divise en blé dur (70 % en 2012) et blé tendre (30 %), avec une variabilité interannuelle importante. Le blé dur reste la céréale prédominante et constitue la base de l'alimentation en Algérie, principalement sous forme de semoule et de pâtes. Cependant, la consommation de blé tendre, utilisé pour le pain, la biscuiterie et la pâtisserie, augmente rapidement en raison de l'occidentalisation des habitudes alimentaires.

La production de blé dur, bien adaptée aux conditions agro-climatiques locales, progresse au même rythme que celle du blé tendre, atteignant 19 millions de quintaux entre 2008 et 2012, contre 8 millions de quintaux pour le blé tendre (**Rastoin et Benabderrazik, 2014**).

#### **I.16.2.1 L'importation de blé en Algérie**

Sur le marché mondial, l'Algérie reste l'un des principaux importateurs de céréales, notamment de blé dur et de blé tendre, en raison de l'incapacité de la production nationale à satisfaire les besoins croissants de la population (**Ammar, 2014**). Au cours des cinq dernières années, l'Algérie a importé entre 6 et 7 millions de tonnes de blé par an. En 2015, le blé tendre représentait environ 80 % du total des importations, tandis que le blé dur en représentait seulement 20 %. Cela est dû à une production domestique plus faible de blé tendre par rapport au blé dur, et malgré l'augmentation des rendements grâce à une stratégie agricole, la production nationale ne parvient pas encore à répondre à la demande. La France est le principal fournisseur de blé pour l'Algérie, représentant 54 % des importations en 2015, principalement en blé tendre. L'Algérie importe également du blé dur du Canada, du Mexique et des États-Unis (**Hales et Rush, 2016**).

# **Chapitre II :**

## **Etude mycologique**

## II.1 La mycologie

La mycologie est la science qui étudie les champignons ou mycètes. Elle se divise en trois grands domaines : -

- Mycologie générale : étude botanique des champignons. –
- Mycologie industrielle : étude des champignons utilisés dans diverses fermentations industrielles, notamment dans la fabrication du pain, des fromages, etc.
- Mycologie médicale : étude des champignons pathogènes, vénéneux ou parasites. Les champignons vénéneux agissent par leurs toxines, tandis que les champignons parasites sont responsables des mycoses.

Dans le cours de mycologie, seules les principales mycoses des animaux domestiques causées par des champignons parasites pathogènes seront abordées.

## II.2 Définition des moisissures

Les champignons, ou mycètes, sont des organismes unicellulaires ou pluricellulaires, englobant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), présentant une apparence filamenteuse ou levuriforme. Les champignons sont omniprésents dans la nature, jouant un rôle crucial dans la biodégradation et le recyclage des matières organiques. Ce sont des microorganismes hétérotrophes nécessitant une source de carbone et d'azote pour se développer. Dans la classification du vivant, les mycètes forment un règne distinct de celui des végétaux et des animaux (**Chabasse et al., 2002**).

Leur particularité morphologique réside dans leur connexion étroite avec leur substrat nutritif via un réseau mycélien très développé. Leur reproduction est également notable, car ils produisent un grand nombre de spores, favorisant leur diffusion ou contamination. Ces spores peuvent provenir de la reproduction sexuée ou asexuée. Les micromycètes deviennent parfois visibles lorsqu'ils forment des agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères, appelés moisissures (**Chabasse et al., 2002**).

Contrairement aux macromycètes, les micromycètes sont souvent responsables de mycoses et peuvent causer des infections chez les animaux et les plantes. Les champignons interagissent avec les espèces animales et végétales sous diverses formes : saprobie, parasitisme, commensalisme et symbiose. Leur pouvoir pathogène peut se manifester de différentes manières. Ils peuvent infecter les humains ou les animaux, provoquant des maladies appelées mycoses. En produisant des toxines, ils peuvent entraîner des intoxications alimentaires ou des mycotoxicoses suite à la consommation d'aliments contaminés. Toutefois, certains champignons sont bénéfiques et offrent des avantages économiques intéressants pour l'Homme. Ils sont utilisés dans l'industrie pour améliorer les propriétés organoleptiques et

technologiques des produits, comme le *Penicillium camembertii* le *Penicillium roqueforti* dans l'affinage des fromages, ou encore le *Penicillium jensenii* et le *P. nalgiovense* en salaisonnerie. D'autres sont exploités pour la production d'enzymes (par exemple, la protéase et la pectinase produites par *A. niger*), d'acides organiques (acide citrique et gluconique produits par des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*) et d'antibiotiques (pénicilline produite par *P. chrysogenum*) (Kiffer & Morelet, 1997 ; Perry et al., 2004).

### III.3 Caractéristiques générales:

**\*Structure cellulaire:** Les champignons sont des organismes macroscopiques unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryotes).

**\*Mode de nutrition :** Ils se nourrissent par absorption et utilisent le carbone organique comme source de carbone (hétérotrophe).

**\*Paroi cellulaire :** Leur paroi cellulaire contient typiquement de la chitine et du glucane.

**\*Reproduction :** Ils peuvent se reproduire de manière sexuée et/ou asexuée.

**\*Appareil végétatif:** Le thalle, appareil végétatif des champignons, est formé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés appelés hyphes.

**\*Mycélium :** Lorsque la croissance est suffisante, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu, apparaissant comme une sorte de feutrage à la surface colonisée (Nicklin et al., 2000).

**\*Substrat de développement :** Les moisissures ne peuvent se développer que sur des substrats organiques. La structure filamenteuse du thalle les rend particulièrement aptes à coloniser des substrats solides.

**\*Impact écologique et physiologique :** En raison de leurs aptitudes écologiques et physiologiques, les moisissures sont de loin les microorganismes les plus redoutables pour les grains stockés (Multon, 1982).

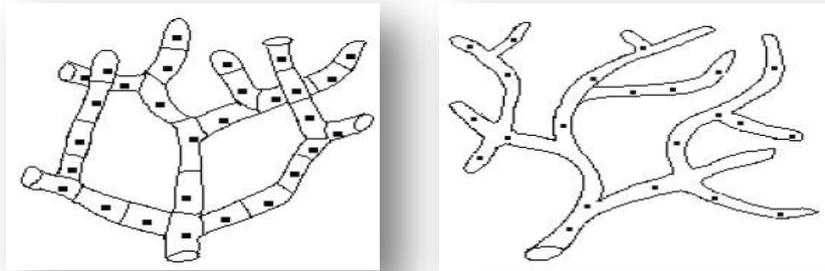
### II.4 Morphologie des champignons

Le thalle de la majorité des espèces de champignons est constitué d'un enchevêtrement de nombreux filaments très fins et ramifiés, formant un mycélium. Ces filaments peuvent être cloisonnés, appelés hyphes, ou non cloisonnés, désignés comme siphons ou coenocytes.

Cette différence morphologique au niveau du thalle permet de distinguer deux groupes principaux :

**\*Septomycètes :** Incluant les ascomycètes et les basidiomycètes, qui possèdent un mycélium cloisonné.

\***Siphomycètes** : Comprenant les trichomycètes, les phycomycètes et les zygomycètes, qui possèdent des siphons.



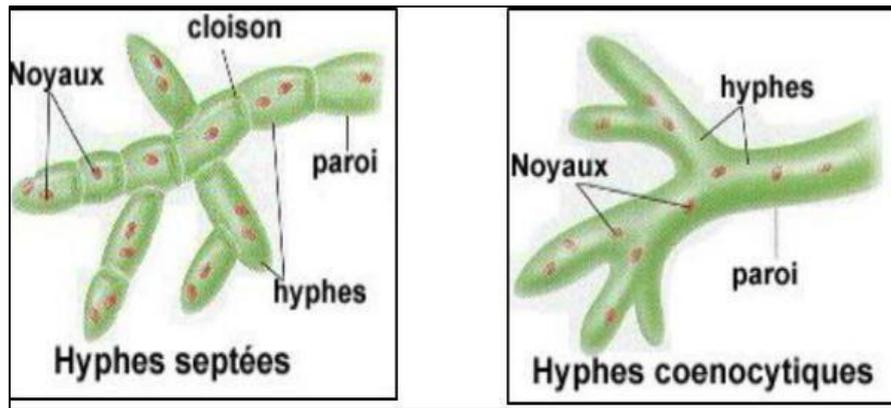
**Figure03:** a) Septomycètes, b) Siphomycète

## II.5 Principales propriétés des Champignons

Les principales propriétés des champignons sont résumées dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Propriétés principales des champignons (**Camille, 2014**).

<b>La morphologie</b>	- Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septes ou siphons - Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité ( <b>Camille, 2014</b> ).
<b>La Croissance des hyphes</b>	- Leur appareil végétatif (le thalle) est constitué des filaments ramifiés et cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Si la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'oeil nu ( <b>Bourgeois et al, 1989</b> ).
<b>Le Métabolisme</b>	- Chimiohétérotrophe. - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques suivant les espèces, peuvent lyser des polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines, des lipides... ( <b>Camille, 2014</b> ).
<b>Le Métabolisme spécifique</b>	- Fabrication de métabolites fongiques toxiques (exotoxines) appelées mycotoxines, ces molécules sont toxiques pour l'homme, les animaux et même les plantes ( <b>Camille, 2014</b> ).
<b>Habitats naturels et pathogénicité</b>	- Air, eaux, sols ...vivent en saprophytes ou parasites. - Champignons pathogène pour l'homme comme <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. nomius</i> et <i>A. parasitica</i> connus pour leur production d'aflatoxine ( <b>Guiraud, 1998</b> ). - Matières premières alimentaires, aliment... pouvant être contaminés par des moisissures toxigènes ( <b>Camille, 2014</b> ).



**Figure 04 :** Représentation schématique de l'hyphe (Decocq, 2011).

## II.6 Développement des champignons filamenteux :

En deux phase : Une phase végétatif, une phase reproductive

### II.6.1 Phase végétatif : correspond :

- phase de croissance, de nutrition.
- l'appareil végétatif colonisé le substrat par extension et ramification des hyphes, par dichotomie, par bourgeonnement
- l'hyphe absorbant à travers leur paroi.
- dégradant le substrat par émission d'enzymes et d'acides.
- la forme mycélienne en expansion qui constitue une phase active de développement.
- la phase végétatif est responsable de la dégradation et de l'altération du substrat.



**Photo 09 :** Les champignons filamenteux

### II.6.2 phase reproductive : comprend deux types de reproduction :

#### II.6.2.1 la reproduction asexuée :

-correspond à la forme anamorphe.

-sans fusion de gamètes, la dispersion de spores asexuée, propagation des moisissures à fin de coloniser d'autre substrats.

Appelée =la sporulation

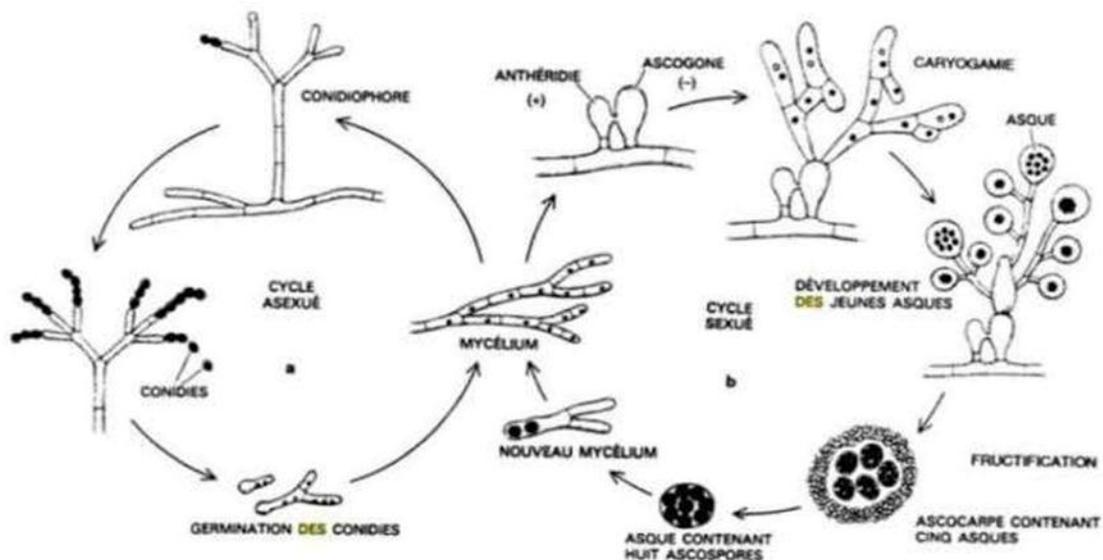
**Spores** : petites cellules déshydratés au métabolisme réduit, entourées d'une paroi protectrice les isolant du milieu environnant, produit en grande quantité par de structures spécialisés développées à partir du mycélium. Diamètre : 2 à 250 um



**Figure 05 : les différents modes de sporulation**

**II.6.2.2 : la reproduction sexuée** : correspondant à la forme téléomorphe.

- la fusion de 2 gamètes haploïdes  $n$  = un zygote diploïde  $2n$ .
- une structure positive à  $n$  chromosome rencontré une autre structure négative.
- la fusion des cytoplasmes donne nouveau mycélium  $2n$  chromosome.



**Figure 06:** Schéma de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure

## II.7 Déférents modes de fécondation en fonction des champignons:

- **planogamie:** fusion de gamètes complémentaires et flagellés
- **oogamie , siphonogamie:** fécondation des gamètes femelles dans la ( sporocyste) femelle des gamètes flagellés provenant des ( gamétocyste ) mâle par l'intermédiaire d'un siphon.
- **trichogamie:** fusion des parois du gamètes mâle nom flagellé (spermatie)et l'organe femelle (ascogone) puis l'injection du noyau mâle .
- **somatigamie:** fusion de 2 mycélia compatibles.
- **cytogamie:** émission d'un diverticule par deux mycélia compatible, accollement des deux diverticules et production d'une coloisiongamétocyste permettent le mélange des cytoplasmes.

## II.8 Culture et identification:

L'identification des mycètes repose sur des critères macroscopiques (aspect et couleur des colonies) et microscopiques (observation des filaments végétatifs, des organes de fructification et des spores). Certaines données comme la température et la vitesse de croissance peuvent être des compléments d'identification.

### II.8.1 Examen macroscopiques :

- **Aspect des colonies :** La forme, la texture (veloutée, poudreuse, cotonneuse, etc.) et les marges des colonies de mycètes sont des éléments importants pour l'identification.
- **Couleur des colonies :** La couleur peut varier selon les espèces et peut inclure des teintes comme le blanc, le noir, le vert, le jaune, etc. La couleur peut aussi changer au cours de la croissance.

### II.8.2 Examen microscopiques :

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait en prélevant un ou plusieurs fragments de la culture, qui sont ensuite bétalés entre lame et lamelle. En général, l'utilisation de l'objectif 40 est suffisante pour identifier les éléments diagnostiques essentiels (**Chabasse et al., 2002**).

- **Le thalle végétatif :** Tous les champignons possèdent un appareil végétatif composé de filaments appelés hyphes, formant ensemble le thalle ou mycélium. On distingue deux types de thalle :
  - Thalle siphonné ou coenocytique: Composé d'éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier, sans cloisons. Ces filaments sont caractéristiques des

champignons inférieurs, tels que les Zygomycètes et Chytridiomycètes (**Chabasse et al., 2002**).

➤ Thalle septé ou cloisonné : Présent chez les champignons dits "supérieurs" : Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes filamenteux. Ces filaments ont un diamètre étroit et régulier, avec des bords parallèles, et sont divisés par des cloisons ou septa en segments uni- ou pluricellulaires (**Chabasse et al., 2002**).

• **Organes de fructification** : Les structures produisant les spores, comme les conidiophores ou les sporangiophores, sont caractéristiques de chaque genre et espèce de mycète.

• **Aspect des spores**: l'examen des spores et de leur organisation est essentiel pour l'identification des moisissures (**Campbell et al., 1996**). La forme des spores et leurs éventuelles septations constituent la base de la classification des Deutéromycètes. Selon leur apparence, on distingue cinq groupes de spores chez les champignons (**Chabasse et al., 2002**) :

- Amérospores: Spores unicellulaires de petite taille (exemple : *Penicillium, Aspergillus*).
- Didymospores: Spores bicellulaires (exemple : *Trichothecium*).
- Phragmospores : Spores pluricellulaires avec des cloisons transversales (exemple : *Drechslera, Bipolaris, Curvularia*).
- Dictyospores: Spores pluricellulaires avec des cloisons transversales et longitudinales (exemple : *Alternaria, Ulocladium*).
- Scolécospores : Spores étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversalement (exemple : *Fusarium*).

### II.8.3 Compléments d'identification :

• **Température de croissance** : Chaque espèce de mycète a une température optimale de croissance, et certaines peuvent croître à des températures extrêmes (très basses ou très élevées).

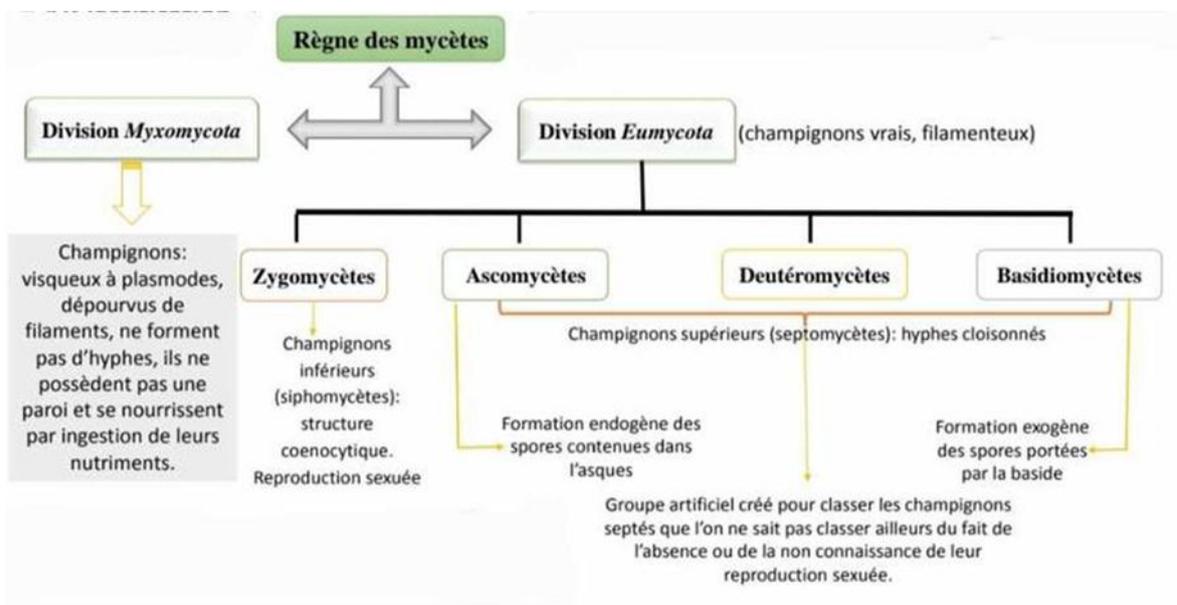
• **Vitesse de croissance** : La vitesse de croissance des cultures fongiques peut varier considérablement, allant de rapide, comme chez les *Aspergillus*, à lente, comme chez les *Penicillium*. Cette vitesse dépend également de la densité de l'inoculum, croissant plus rapidement avec un inoculum plus riche. L'apparence des colonies est un autre critère de distinction. Les champignons le vuri formes forment des colonies lisses, glabres, humides, et d'aspect brillant ou mat, parfois rugueuses. En revanche, les champignons filamenteux présentent une texture différente : duveteuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse (**Chabasse et al., 2002**).

• **Le mode de groupement des conidies** : Les conidies se regroupent généralement à l'extrémité de la cellule conidiogène, et ce mode de groupement constitue également un critère d'identification (**Chabasse et al., 2002**). On distingue plusieurs types de groupements :

- En grappes : *Beauveria*, *Trichothecium*
- En masses : *Botrytis*
- En têtes ou « balles » : *Acremonium*, *Trichoderma*
- En chaînes basipètes : *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Penicillium*
- En chaînes acropètes : *Cladosporium*, *Alternaria*

## II.9 Classification des champignons filamenteux :

Une classification simple basée essentiellement sur des caractères morphologiques : hyphes cloisonnés ou siphonnés et les types de spores.



**Figure 07:** Schéma de classification des champignons filamenteux :

## II.10 Mode de vie des moisissures :

Les champignons, ou plus précisément les mycètes, se distinguent du règne végétal par l'absence de chloroplastes (et donc de chlorophylle) qui permet aux plantes de produire des matières organiques nécessaires à leur alimentation. En conséquence, les mycètes ont développé trois modes de nutrition pour extraire les matières organiques essentielles à leur survie directement de leur environnement (**Oei et van Nieuwenhijzen, 2005**).

### II.10.1 Le saprophytisme:

Du grec *sapros*, pourriture et *phyton*, plante) (**Kachour, 2005**). Les champignons Saprophytes sont considérés comme de grand nettoyeurs de la nature ; Ils se nourrissent des Matières organiques mortes d'origine végétale (feuilles et débris végétaux) ou animale (cadavres), ils représentent la majorité des macro mycètes (**Senn-Irlet et al., 2012**) en jouant Un rôle primordial dans la dégradation de la matière organique en matière minérale , qui se trouve dans diverses applications comme dans le domaine médicale (*Penicillium* a donné la Pénicilline), et agroalimentaire (les levures permettant à la pâte à pain de lever) (**Lamaison et Polese, 2005**)

Selon le substrat qu'ils décomposent, il existe plusieurs types de champignons saprophytes : Humicoles (décomposant la matière organique du sol). Lignicoles (décomposent la matière organique du bois mort).

Herbicoles (sur les plantes herbacées). Fongicoles (sur d'autres champignons). Coprophiles (vivant sur les excréments). Les saprophytes de la litière (décomposant les feuilles mortes, brindilles et autres Débris végétaux) (**Moreau et al., 2002**)

### II.10.2 Le parasitisme:

Le parasitisme (du grec "par", à côté, et "sitos", aliment) (**Kachour, 2005**) est une relation biologique entre deux êtres vivants dans laquelle l'un profite de l'autre, que ce soit en se nourrissant, en s'abritant ou en se reproduisant. Ce type de relation peut se produire avec des organismes animaux, entraînant des mycoses, ou avec des organismes végétaux, provoquant des maladies telles que la rouille, l'oïdium et l'antracnose (**Cassier et al., 1998 ; Combes, 2001**).

### II.10.3 La symbiose:

Selon **Marouf et Reynaud (2007)**, la symbiose est une association étroite et durable entre des organismes de différentes espèces, voire de différents règnes, qui vivent en équilibre les uns avec les autres et tirent des bénéfices mutuels de cette union, bien qu'ils puissent aussi vivre séparément.

- Les lichens : Les lichens sont constitués d'une association entre un champignon (principalement du phylum Ascomycota) et une cyanobactérie. L'algue, capable de photosynthèse, fournit les molécules organiques carbonées au champignon, qui, en retour, fournit les éléments minéraux à l'algue.
- Les mycorhizes : Les mycorhizes sont formés par l'association entre un champignon et la racine d'une plante. Cette forme de symbiose est la plus répandue à l'échelle planétaire, avec environ 90 % des végétaux qui établissent spontanément cette relation. Les champignons

développent un réseau de filaments mycéliens à partir des racines et jouent un rôle crucial dans la nutrition minérale des plantes. Cette association symbiotique est d'ailleurs considérée comme ayant permis aux plantes de coloniser les milieux terrestres (Nasraoui, 2006).

## **II.11 Conditions de croissance :**

### **II.11.1 Eléments nutritifs :**

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes, ce qui signifie qu'elles ont besoin des éléments nutritifs de base tels que le carbone, l'azote et les ions minéraux pour leur croissance. Elles possèdent une large gamme d'enzymes qui leur permettent d'exploiter de manière très efficace des substrats complexes, même plus efficacement que les bactéries. La digestion des substrats commence généralement à l'extérieur de la cellule par des enzymes excrétées (extracellulaires) ou liées à la paroi, car seules les molécules de petite taille peuvent traverser les parois et atteindre le cytoplasme (Davet, 1996).

#### **a- Source de carbone et d'énergie :**

Pratiquement tous les composés organiques peuvent servir de source de carbone et d'énergie pour les moisissures. La plupart d'entre elles sont capables de métaboliser le glucose et le saccharose, ainsi que certains polysaccharides tels que l'amidon et la cellulose (Nicklin et al., 2000).

#### **b- Source d'azote :**

La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels ( $\text{NH}_4^+$ ), ce qui réprime l'utilisation d'autres sources azotées telles que les nitrates, les acides aminés ou les protéines. L'ammoniaque est ensuite transformée en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (Boiron, 1996).

#### **c- Eléments minéraux :**

La présence d'ions minéraux et de métaux dans le milieu de culture est nécessaire à la croissance et à la reproduction de plusieurs espèces fongiques. Ces éléments comprennent essentiellement le sulfate, le magnésium, le potassium, le sodium et le phosphore, avec des concentrations variables selon les espèces (Uchicoba et al., 2001).

### **II.11.2 Facteurs physicochimiques :**

Les facteurs physicochimiques exercent une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que sur leur germination. Nous examinerons successivement quelques paramètres importants.

**a- Aération :**

Les champignons sont des organismes aérobies. Cependant, certains d'entre eux tolèrent des quantités relativement faibles d'oxygène (anaérobies facultatifs) et peuvent même se développer en l'absence totale de ce gaz (anaérobies stricts) (Alexopoulos et al., 1996).

**b- PH :**

La plupart des champignons préfèrent des milieux acides. En général, ils se développent dans une plage de pH allant de 4,5 à 8, avec un optimum entre 5 et 6. Certaines espèces, comme *Aspergillus Niger*, peuvent même pousser dans des conditions très acides, jusqu'à un pH de 1,7 à 2 (Dix et Webster, 1995).

**c- Activité d'eau (Aw) :**

La quantité d'eau disponible dans le substrat et l'environnement joue un rôle crucial dans la croissance des moisissures. Généralement, elles nécessitent une activité d'eau (Aw) plus faible par rapport aux bactéries. La limite inférieure de l'Aw pour la croissance de *Penicillium martensii* et *Aspergillus nidulans* est de 0,8 ; celle d'*A. candidus* est de 0,75 (Carlile et Watkinson, 1996).

**d- Lumière :**

Les radiations du spectre visible (380 – 720 nm) n'ont généralement pas d'action sur la croissance végétative des champignons, mais peuvent influencer la sporulation. La plupart des moisissures n'ont pas besoin de lumière pour leur croissance ou la germination de leurs spores (Botton et al., 1999).

**e-Température :**

La plupart des moisissures sont des organismes mésophiles qui se développent normalement à des températures comprises entre 5°C et 35°C. Leur croissance est interrompue et elles sont détruites à partir de 40°C. Cependant, il existe une autre catégorie de champignons filamenteux qui peuvent se développer à des températures supérieures à 50°C. Ils sont appelés thermophiles ou thermotolérants. D'autres champignons préfèrent les basses températures et sont considérés comme psychrophiles ou psychrotolérants (Dix et Webster, 1995).

**f-L 'oxygène :**

La quantité d'oxygène disponible est un facteur crucial pour le développement des moisissures, la plupart étant aérobies. Les espèces les plus exigeantes en oxygène se trouvent dans les régions périphériques des substrats, tandis que les moins exigeantes peuvent se développer en profondeur, comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus* (Bourgeois, 1989 ; Botton et al., 1999).

### II.11.3 Facteurs biologique

- **Interactions microbiennes**

La compétition pour les nutriments et l'espace est un phénomène courant dans le monde vivant. Lorsque plusieurs espèces de micro-organismes coexistent dans le même environnement, différentes interactions entre ces espèces se produisent. Les conditions environnementales favorisent certaines espèces tout en défavorisant d'autres. Par exemple, les Mucoraceae, caractérisées par un taux de croissance élevé, peuvent envahir rapidement l'environnement et inhiber le développement d'espèces à croissance plus lente. De plus, la synthèse et l'accumulation de substances toxiques (mycotoxines) dans le milieu peuvent avoir un effet inhibiteur sur le développement d'autres espèces (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

- **Présence d'insectes :**

Les insectes sont le principal vecteur des spores de moisissures dans les champs et les lieux de stockage (Pfohl-Leszkowicz, 2001). En dégradant les parois des grains, ils favorisent la contamination fongique et la production de mycotoxines. Les acariens, en particulier, sont des vecteurs importants de spores, habitant sur les grains moisissés et transportant les spores sur la surface de leur corps et dans leur tube digestif (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Les larves, présentes dans un environnement céréalier, transportent également les spores des champignons des champs vers les zones de stockage des céréales (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

### II.12 Les problèmes liés aux champignons filamenteux et à leurs métabolites:

Impliqués dans différents domaines : ex: l'industrie agro-alimentaire, pharmaceutique

#### II.12.1 Secteur agro-alimentaire :

- **Effet bénéfique :** certain

-production de fromage (camembert) *Penicillium camemberti*

- synthèse d'acide organique (A citrique), (A gluconique), (additifs alimentaires) *Aspergillus Niger*.

- synthèse d'enzymes : maltase...

Transformer le maltose, l'amidon en alcool *Rhizopusoryzae* (formation alcoolique).

- **Effet néfaste :** Altérations de la qualité des denrées alimentaires :

- **Qualité marchande :** modification favorable des caractéristiques organoleptiques (aspect, texture, l'odeur, saveur....)
- **Qualité sanitaire :** diminution de l'innocuité des aliments, risques pour la santé humaine et animale.

### II.12.2 Secteur pharmaceutique et médical :

➤ **Effet bénéfique :**

- Synthèse des médicaments : antibiotiques
- Pénicilline : *Penicillium chrysogenum*.
- céphalosporines : *Cephalosporium acremonium*.

➤ **Effet néfaste :** Deux types de contamination chez l'homme.

1. **Contamination alimentaires :** contenant des mycotoxines responsable d'une intoxication alimentaire.

Mycotoxicose • aiguë ; ingestion forte dose.

• chronique ; faible dose.

2. **Contamination infectieuse (fongiques):** se fait principalement par ingestion (spores) , inoculation, peuvent être d'origine nosocomiale.

#### 2.1 Les infections fongiques invasive

• **Chez les patients immunodéprimés:**

1/ Aspergillose : *ssp Aspergillus* 80 à 90% *Aspergillus fumigatus*.

- porte d'entrée : respiratoire.
- les gens plus touchés : qui présente neutropénie profonde, sous corticothérapie.

2/ Mucor mycoses : mucorales.

- porte d'entrée : respiratoire, digestif.
- les gens plus touchés : patients d'hémopathies, diabétiques.

3/ *Fusarium* ou *scodosporium* .

Responsable d'infection invasive sévère chez les patients immunodéprimés .

• **Chez les patients immunocompétents :**

Contamination cutanée et ingestion.

- Aspergillose : irritations, l'asthme, fièvre
- Fusarium, Aspergillus*: dermatophytes , kératites
- Fusarium, Aspergillus, Alternaria*: onychomycoses
- Aspergillus*: otomycoses.

### II.13 Les principales moisissures toxigènes :

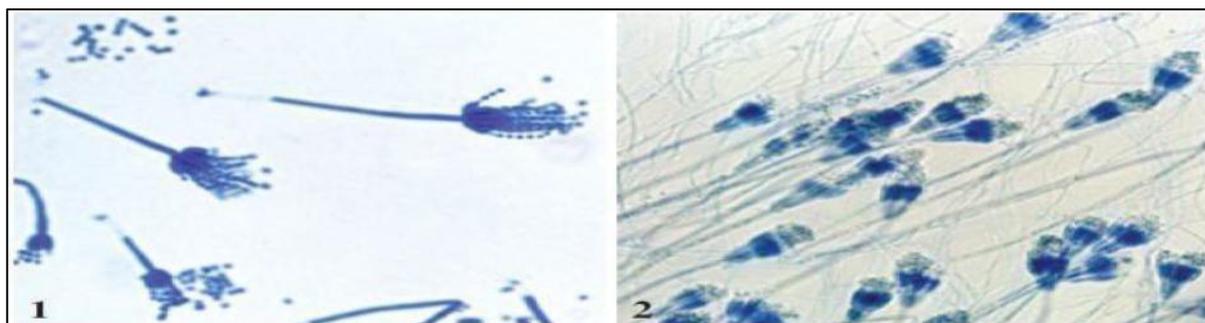
Deux groupes de moisissures toxigènes peuvent être distingués. Le premier groupe est constitué de moisissures qui envahissent leur substrat et produisent des mycotoxines sur des plantes sénescents ou stressés, ce sont les toxines de champ. Le second groupe regroupe les moisissures qui produisent des toxines après la récolte, appelées toxines de stockage. Les champignons du sol ou des débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur les plantes

ou les grains, puis proliférer pendant le stockage si les conditions sont favorables (Afssa, 2006).

### II.13.1 Le Genre *Penicillium* :

Le genre *Penicillium* comprend entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous-genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphes de certaines de ces espèces sont connues et appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes, dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces* (Pitt, 1987).

Les colonies de *Penicillium* présentent un aspect duveteux voire poudreux, de couleur vert-de-gris et, plus rarement, blanche. Morphologiquement, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau (*Penicillius* en latin). Le thalle cloisonné porte les conidiophores, simples ou ramifiés, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonnes de conidiophores). Les phialides (cellules conidiogènes) sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores (Figure 08) (Botton et al., 1990).



**Figure 08** : Aspect microscopique des *Penicillium* : 1-*Penicillium* monoverticille 2-*Penicillium* bi verticille (Chabasse et al., 2002).

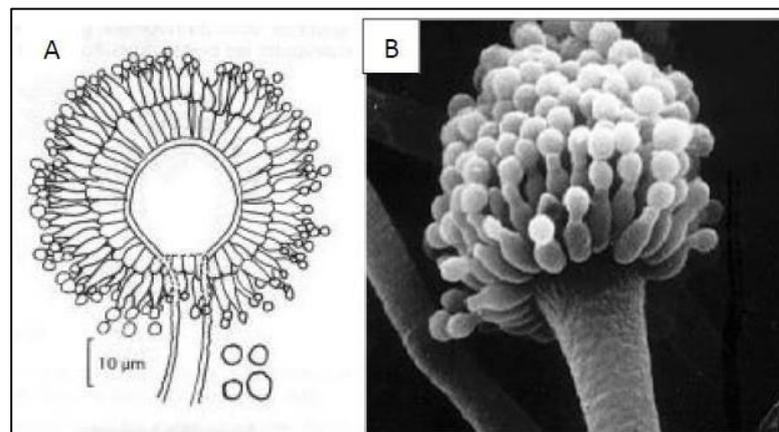
Les espèces appartenant au genre *Penicillium* produisent un certain nombre de mycotoxines, (le Tableau 5) représente quelques toxines produites par le genre *Penicillium*.

**Tableau 5** : Quelques toxines produites par le genre *Penicillium* (Norholt et al, 1979 ; Pitt, 2000 ; Bennett et Klich, 2003).

Espèces	Toxines produites
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Acide cyclopiazonique, Roquefortine C
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium nordicum</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium roqueforti</i>	Acide pénicillique, Roquefortine C
<i>Penicillium expansum</i>	Citrinine, Patuline, Roquefortine C
<i>Penicillium viridicatum</i>	Ochratoxine A, Citrinine

### II.13.2 Le Genre *Aspergillus* :

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. Comme pour les Penicillia, certaines formes sexuées d'*Aspergillus spp* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, avec des genres notables tels que *Eurotium* et *Emericella*. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus* (Gams et al., 1986). Les colonies d'*Aspergillus spp*, duveteuses ou poudreuses, se développent rapidement et présentent des couleurs vives et variées. L'appareil végétatif d'*Aspergillus spp* est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Sur ces filaments végétatifs se dressent les conidiophores, qui se terminent par une vésicule de forme variable, spécifique à chaque espèce. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule, formant une « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parle de « tête bisériée ». L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (Figure 9). Les spores, insérées en chaîne sur les phialides, sont unicellulaires, de forme globuleuse ou elliptique, et de couleurs variables (Raper et Fennel, 1965).



**Figure 9:** Tête aspergillaire d'*Aspergillus ochraceus*(A),  
En microscopie électronique (B) (ElKhoury, 2011).

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* produisent un certain nombre de mycotones, le Tableau ci dessous (Tableau 6) représente quelques toxines produites par le genre *Aspergillus*.

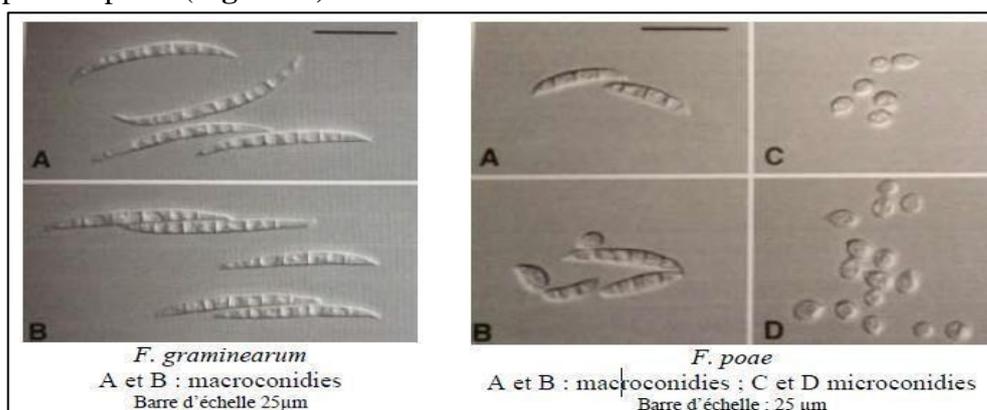
**Tableau 6** : Quelques toxines produites par le genre *Aspergillus* (Pitt, 2000).

Espèces	Toxines produites
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1 et B2, Acide aspergillique, Acide cyclopiazonique, Acide kojique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumigaclavine, Fumagiline, Fumitoxine, Fumitremorgine A et C, Gliotoxine
<i>Aspergillus niger</i>	Malformine, Naftoquinone
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Acide kojique, Ochratoxines, Acide pénicillique, Acide sécalonique A
<i>Aspergillus terreus</i>	Citrinine, Patuline, Territrem, Terréine, Terrétonine
<i>Aspergillus versicolor</i>	Stérigmatocystine

### II.13.3 Le Genre *Fusarium* :

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux appartenant au genre Deutéromycète. Ce genre comprend entre 50 et 100 espèces anamorphes. Le nom *Fusarium* vient du latin "*fusus*", qui signifie fuseau, en référence à la forme des conidies. Ces champignons se développent rapidement et produisent des colonies planes, d'aspect cotonneux voire floconneux, avec des couleurs claires telles que crème, blanc, saumon, violet, brun et jaune (Chermette et Bussieras, 1993).

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (Messiaen et Cassini, 1968). Les *Fusarium* se caractérisent par trois types de spores (Figure10).



**Figure 10** : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006).

Les espèces appartenant au genre *Fusarium* produisent un certain nombre de mycotoxines, le tableau ci-dessous (Tableau7) représente quelques toxines produites le genre *Fusarium*.

**Tableau 7** : Quelques toxines produites par le genre *Fusarium*(Pitt, 2000).

<b>Espèces</b>	<b>Toxines produites</b>
<i>Fusariumculmorum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone, Culmorine, Fusarine C
<i>Fusariumavenaceum</i>	Moniliformine, Fusarine C
<i>Fusariumgraminearum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone
<i>Fusariumoxysporum</i>	Acide fusarique, Moniliformine, Oxysporine
<i>Fusariumpoae</i>	Trichothécènes A, Fusarine C

**Chapitre III :**  
**Etude mycotoxicologique**

### III.1. La nature et L'origine des mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites toxiques secondaires produits par certaines moisissures qui se développent dans divers produits agricoles sous des conditions environnementales spécifiques (Krska, 2009). Ces substances sont de faible poids moléculaire, variant entre 200 et 10 000 daltons. Actuellement, on connaît entre 300 et 400 mycotoxines (Pamel et al., 2010). Ces molécules sont caractérisées par leur faible solubilité dans l'eau, leur faible volatilité, et leur difficulté à être métabolisées par les organismes. De plus, elles sont très stables en présence d'acidité et de chaleur (Ruppel et al., 2004).

Les sources chimiques des mycotoxines sont variées. Certaines dérivent de l'acide polyformique, comme les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA), la patuline, entre autres. D'autres proviennent d'acides aminés, tels que les alcaloïdes de l'ergot, l'acide aspergillique, et le ciclopirox. Enfin, certaines mycotoxines sont des dérivés terpéniques, comme le déoxynivalénol et la diacétoxyrosinone (Leclerc et al., 2005).

### III.2. Mycotoxines

#### III .2.1. Définition Le terme "mycotoxine"

Est une combinaison du mot grec "mykos" (champignon) et du mot latin "toxicum" (poison). Sont des métabolites fongiques (secondaires) sécrétés par les moisissures (champignons filamenteux) qui se développent sur certaines denrées alimentaires, en particulier sur les céréales.

Parmi les milliers des genres et d'espèces des champignons, il n'en existe que cinq genres des champignons toxigènes qui est produites les toxines :

- *Aspergillus* .- *Fusarium* .- *Penicillium* .- *Alternaria* .- *Claviceps* . Présentes dans l'eau, l'air et dans le sol .Ne jouantes aucun rôle dans le développement des champignons contrairement au métabolites primaire. Une fois ingérer, inhaler, absorbés par la peau ,il provoque des effets néfastes, les maladies ou la mort pour l'homme et l'animal . S'installer à toutes les stades :Champ, récolte, stockage, produit à consommé.

#### III. 2.2. Production des mycotoxines

Les mycotoxines sont générées par cinq genres de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Les mycotoxines les plus significatives comprennent les aflatoxines, les ochratoxines, les trichothécènes, la stérigmatocystine, la zéaralénone, la citrinine, la patuline, l'acide pénicillique et les fumonisines (Dieme et al., 2017) .

Il est également important de noter que, dans la plupart des cas, les consommateurs humains et animaux sont exposés à plusieurs mycotoxines simultanément. Cette situation s'explique par trois raisons principales : (i) une mycotoxine peut être produite par plusieurs espèces de champignons différentes, (ii) une même espèce de champignon peut produire plusieurs mycotoxines en même temps, et (iii) les repas (ou rations pour les animaux) sont généralement composés de divers aliments ou d'aliments préparés à partir de plusieurs matières premières, chacune pouvant être une source différente de toxines (**Binder et Krska, 2012**).

### III.2.2.1 Température ( T °)et activités d'eau( AW) optimale:

- *Aspergillus flavus* ,*A parasiticus* (Aflatoxine 33 C° , 0.99.
- *A. Ochraceus* (Ochratoxine 30 C° , 0.98.
- *Fusariumgraminearum*( zearalenone ) = 25 -30 C° , 0.98 .
- *penicilliumexpansum*( patulin ) = 0- 25 C° , 0.95 - 0.99 .

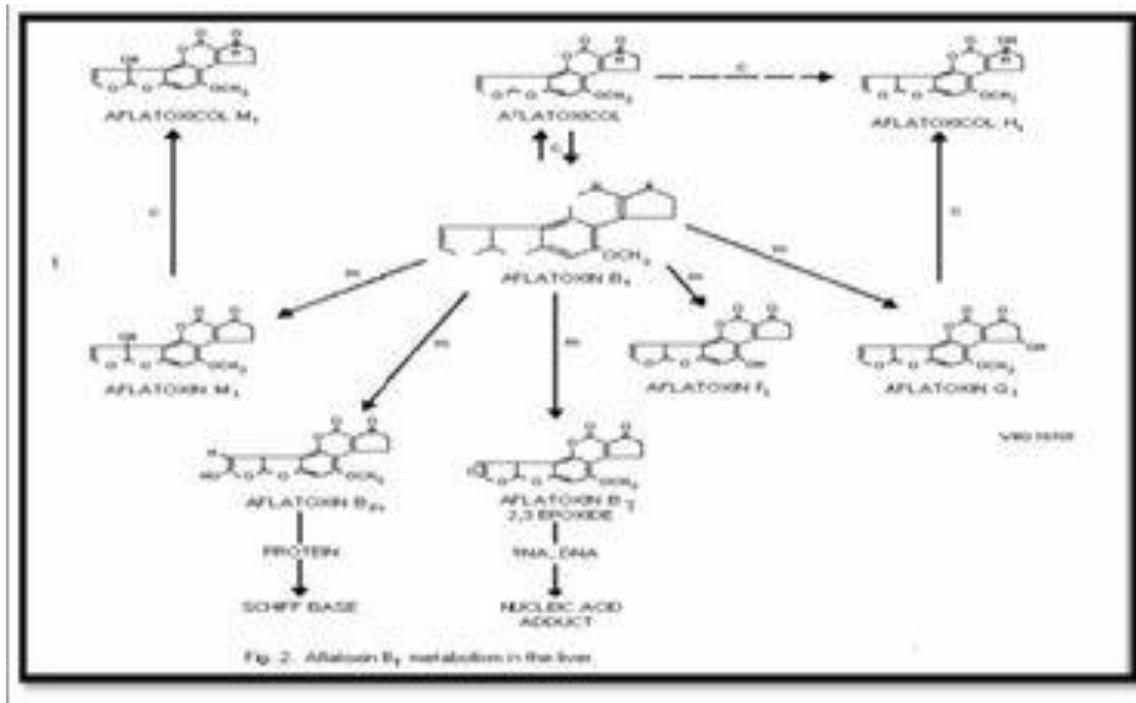
## III.3 Les principales mycotoxines

### III.3.1 Les Aflatoxines

Les aflatoxines (AFs) sont des métabolites secondaires produits par des champignons tels qu'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius* (**Kensler et al., 2011**). Ces contaminants naturels, présents dans les aliments pour humains et animaux, sont à l'origine de divers problèmes, notamment des carences nutritionnelles, une immunosuppression, un cancer du foie, ainsi que des effets mutagènes et tératogènes (**Wagacha et Muthomi, 2008**).

Elles ont été découvertes pour la première fois en Angleterre en 1960, après des cas d'intoxication dans un élevage de dindonneaux (**Adams et al., 2002 ; Chapeland et al., 2005**). Ces champignons prolifèrent principalement dans les régions chaudes et humides. On les retrouve dans divers aliments tels que les noix (arachides, pistaches, noisettes), les grains (maïs, millet, sorgho), le coton, les épices et le lait (**Brochard et le Bacle, 2009**).

Les conditions idéales pour la croissance et la production d'aflatoxines nécessitent une faible activité en eau, entre 0,84 et 0,86, ainsi qu'une température comprise entre 25 et 40°C (**Alban, 2016**).



**Figure 11** : Métabolisme de l'AF B1 dans le foie (Afssa,2009).

• **Propriétés toxicologiques et effets sur la santé** Par ordre de toxicité décroissante, on retrouve : AFB1, AFM1, AFB2 et AFG2. Actuellement, l'AFB1 est la seule mycotoxine identifiée comme cancérigène, et est classée par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer dans le groupe 1 comme un cancérigène potentiel chez l'homme et les animaux. Tandis que le potentiel cancérigène expérimental de l'AFM1 est 10 fois moindre que celui de l'AFB1. Le maïs, le blé, le riz, les épices, fruits secs et noix des régions tropicales et subtropicales. Malgré sa toxicité aiguë et son potentiel cancérigène, AFM1 est considérée comme un produit de désintoxication (Brochard G,2009 ;Bouti et al., 2018 ; Ortega-Beltran A, et al., 2019). L'AF B1 est la mycotoxine la mieux étudiée et la plus répandue et l'agent cancérigène naturel le plus puissant (Ait Mimoune et al., 2018),

Elle présente à la fois des propriétés cancérigènes, mutagènes, tératogènes, hépatotoxiques, et immunotoxiques. Cette AF a été étudiée de manière approfondie en ce qui concerne son pouvoir létal et sa létalité in vivo chez divers animaux de laboratoire (Brochard G,2009)

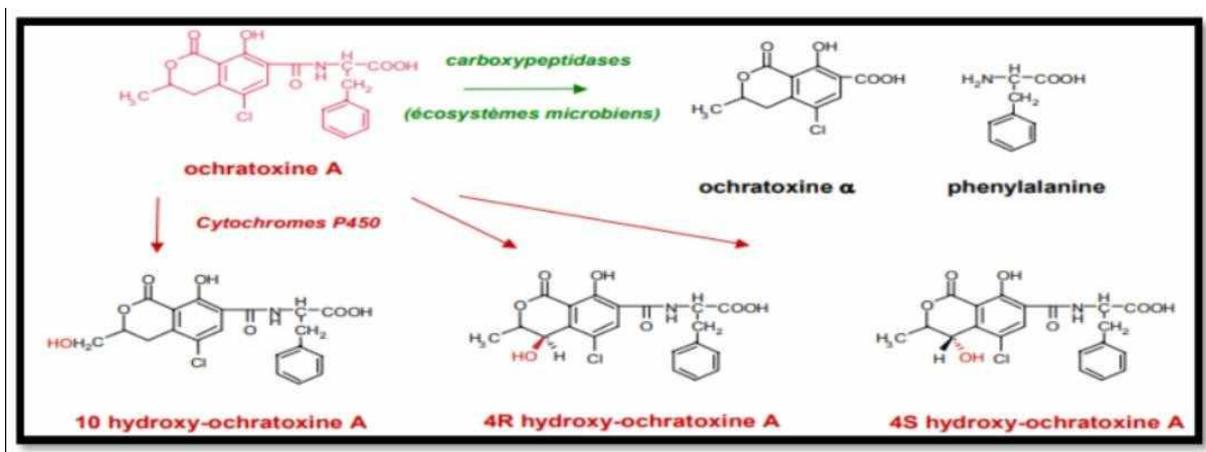
Les maladies causées par la consommation d'AFs sont désignées par aflatoxicose. Une aflatoxicose aiguë entraîne la mort et l'aflatoxicose chronique entraîne le cancer, une suppression immunitaire et d'autres conditions pathologiques « lentes ». L'hépatotoxicité est la caractéristique majeure de l'AF B1. Il existe des différences substantielles dans la sensibilité des espèces. Autrement dit, au sein d'une espèce donnée, l'ampleur de la réponse

est influencée par l'âge, le sexe, le poids, le régime alimentaire, l'exposition à des agents infectieux et la présence d'autres mycotoxines et de substances pharmacologiquement actives (**Bennett JW, Klich M, 2003**).

### III.3.2 L'Ochratoxine A

Les ochratoxines, incluant les types A, B et C, sont une famille de mycotoxines produites par des moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. L'ochratoxine A (OTA) est la plus répandue et la mieux connue (**Rkiba, 2020**).

Découverte en 1965 par une équipe sud-africaine lors de recherches systématiques sur les mycotoxines, l'OTA est un métabolite secondaire de champignons. Elle est réputée pour ses effets néphrotoxiques puissants, ses propriétés tératogènes, ainsi que ses effets immunotoxiques.



**Figure 12.** Voies métaboliques de l'OTA (**Afssa, 2009**).

- **Propriétés toxicologiques et effets sur la santé.**

La toxicité de l'OTA est due à sa structure chimique ; son atome de chlore et son groupement phénolique, ainsi que sa partie isocoumarinique jouent un rôle important. L'OTA est connue pour sa néphrotoxicité chez toutes les espèces animales étudiées à ce jour. De plus, cette toxine est dotée d'un pouvoir tératogène et carcinogène puissant, elle est également immunotoxique, neurotoxique, et hépatotoxique (**Moularat S, 2006 ; Bennett JW, 2003**).

L'OTA est une molécule chimique, classée dangereuse à cause des effets toxiques qu'elle représente aussi bien chez l'homme que chez l'animal ainsi que sa présence dans divers types d'aliments. À la suite de la découverte des néphropathies spontanées humaines et animales, des études expérimentales ont été menées afin de démontrer l'implication de l'OTA dans ces maladies. Des études toxicologiques réalisées sur des animaux du laboratoire (**Rosa 2002**) ont montré que cette toxine peut avoir plusieurs effets, tels que des effets néphrotoxiques,

génotoxiques, immunosuppresseurs, tératogènes, neurotoxiques et cancérigènes. Sa toxicité reste cependant très variable et dépend du sexe, de l'espèce et du type cellulaire (O'Brien, 2005).

### III.3.3 Les Trichothécènes

Les trichothécènes (TCT) sont des mycotoxines produites par diverses espèces de *Fusarium*, notamment *Fusariumculmorum*, *Fusariumgraminearum*, *Fusariumpoae* et *Fusariumsporotrichioides*. Les mycotoxines les plus étudiées dans ce groupe sont le déoxynivalénol (DON) ainsi que les toxines T-2 et HT-2 (Oms, 1980).

Les trichothécènes provoquent divers effets toxiques, principalement gastro-intestinaux, tels que des vomissements, des diarrhées et des inflammations intestinales. De plus, ces mycotoxines sont généralement immunosuppressives (Whitlow et al., 2001).

### III.3.4 La Zéaralénone

La zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine produite par certaines espèces de *Fusarium*, telles que *Fusariumgraminearum*, lorsqu'elles infectent diverses céréales pendant la récolte, la transformation commerciale et le stockage (Zinedine et al., 2007). La ZEN peut provoquer des problèmes de reproduction chez les animaux comme les bovins, les porcs et les volailles, et potentiellement chez les humains. On trouve fréquemment la ZEN dans le maïs, les produits dérivés du maïs, le sorgho et le seigle dans le monde entier (Jonathan et al., 2015).

### III.3.5 Les Fumonisines

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines produites par certaines espèces de *Fusarium*, telles que *Fusariumverticillioides* et *Fusariumproliferatum* (Xing et al., 2014), qui infectent les cultures de céréales dans des conditions climatiques spécifiques. La fumonisine B1 est la plus courante dans les aliments destinés au bétail et aux humains (Ducret, 2000). Chez les animaux, l'ingestion de FB1 peut entraîner une leucoencéphalomalacie, un œdème pulmonaire, ainsi que des maladies du foie et des cancers comme l'hépatocarcinome. Chez l'homme, elle est associée à un risque accru de cancer de l'œsophage (Jonathan et al., 2015).

### III.3.6 La Patuline

La patuline (PAT) est un métabolite toxique secondaire produit par de nombreuses espèces des genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Elle est considérée comme un contaminant alimentaire naturel, particulièrement présent dans les fruits avariés, notamment les pommes et leurs dérivés (Ake et al., 2001). Les études expérimentales sur la PAT révèlent qu'elle est une neurotoxine et qu'elle provoque des altérations pathologiques sévères dans les organes internes (Damien, 2015).

**Tableau 8** : Les différentes mycotoxines

Mycotoxines	moisissure	nombres	pathologie	Les aliments contaminés	Pont satiation
Aflatoxines	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Aspergillus flavus</i></li> <li>▪ <i>Aspergillus parasiticus</i></li> </ul>	20 mais 6 type plus érudite : <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ AFB1, AFB2</li> <li>▪ AFG1, AFG2</li> <li>▪ AFM1, AFM2</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hépatotoxique</li> <li>▪ Mutagène</li> <li>▪ Cancérogène</li> <li>▪ Immunotoxique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Blé</li> <li>- farine</li> <li>- Pain</li> <li>- , mais</li> <li>- Cheps</li> <li>- , noix</li> <li>- vende</li> <li>- fromage</li> <li>- cacao,</li> <li>- Café</li> </ul>	Stage de stockage
Ochratoxines	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Aspergillus ochraceus</i></li> <li>▪ <i>penicillium verrucosum</i></li> <li>▪ <i>penicillium mordicum</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ OTA</li> <li>▪ OTB</li> <li>▪ OTC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Néphrotoxique</li> <li>▪ Cancérogène</li> <li>▪ Mutagène</li> </ul>		Stage de stockage
Patuline	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Aspergillus SSP</i></li> <li>▪ <i>Penicillium SSP</i></li> </ul>	▪	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Neurotoxique</li> <li>▪ mutagène (<i>in vitro</i>)</li> </ul>		
Fumonisine	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>fumonisineproliferation</i></li> <li>▪ <i>fumonisinverticillioides</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ FB1</li> <li>▪ FB2</li> <li>▪ FB3</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Neurotoxique</li> <li>▪ Hépatotoxique</li> <li>▪ Immunotoxique</li> <li>▪ Cancérogène</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Blé</li> <li>▪ farine</li> <li>▪ Pain</li> <li>▪ , mais</li> <li>▪ Cheps</li> </ul>	
Zéaralénone	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>fusariumequiseti</i></li> <li>▪ <i>fusariumsenitelorum</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ZEA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Ostrogénique</li> </ul>		Le champ (le sol)

### III.4 Synthèse des mycotoxines:

La synthèse des mycotoxines se produit à la fin de la phase active et directement dans la phase stationnaire. Un ralentissement de certains métabolites, l'accumulation des molécules, conversion des molécules en métabolites secondaires. Nécessite une souche toxigène (souche reproductrice). Possédant des enzymes spécifiques de conversion me génome culster. Le génome culster s'exprime lorsque un ensemble des conditions environnementales se trouvent : pH, T°, CO<sub>2</sub>, Aw, composition des substrats

#### III.4.1 Voies de biosynthèse de mycotoxines

Les mycotoxines sont classées en trois catégories principales selon leur origine biosynthétique : les terpènes, les polypeptides et les peptides cycliques non ribosomiques (Joanna en 2015).

a). La voie des acides aminés: fait référence aux unités constituant les protéines, caractérisées par la présence des groupes -COOH et -NH dans leur structure chimique. Les dérivés des acides aminés comprennent les alcaloïdes de l'ergot du seigle, l'acide aspergillique, la roquefortine, les sporidesmines, l'acide cyclopiazonique, la slaframine, la tryptoquivaline et la gliotoxine (Alban en 2016).

b). La voie des polycétoacides, également connue sous le nom de polyacétates, englobe des composés essentiels au métabolisme énergétique des cellules de tous les organismes vivants. Des toxines telles que les ochratoxines, les aflatoxines, la zéaralénone, la stérigmatocystine, la citrinine, la patuline et les rubratoxines résultent de la métabolisation des polycétoacides.

c) La voie des terpènes consiste en des composés organiques principalement dérivés des résines produites par les végétaux. Des toxines telles que la Toxine T2, le Déoxynivalénol, la Fusarénone, les Roridines et les Verrucarines sont des exemples de dérivés des terpènes.

### III.5 Propriétés des mycotoxines :

- ❖ Molécules de faible poids moléculaire (< 1000da) ;
- ❖ Peu solubles dans l'eau;
- ❖ Difficilement métabolisées par les organismes vivants;
- ❖ Peu volatils ;
- ❖ Très stables: à Ph et Uv;
- ❖ Thermostable " résistance jusqu'à 180 C°" ;
- ❖ Soluble dans Les solutions organiques ;
- ❖ Sont des substances biologiques active ;

la plus part peuvent présenter diversité structurale chimique et souvent complexes, leur effet biologiques différents (cancérogène, mutagène, tératogène, Neurotoxique, immunosuppressif.....)

### III.6. Biotransformation et mode d'action des mycotoxines

Comme tous les xénobiotiques, les mycotoxines subissent une biotransformation dans les organismes animaux ou humains. Ces transformations se produisent principalement dans le foie et le tractus gastro-intestinal, grâce à l'action d'enzymes tissulaires ou de la microflore. Les métabolites résultants sont souvent des produits d'oxydation d'origine hépatique, tels que les hydroxyaflatoxines (AFs M1, P1, Q1) ou l'hydroxyocratoxine. L'estérase est impliquée dans la formation de nombreux dérivés hydrolysés des trichothécènes ou des fumonisines B1. Pour la zéaralénone, le principal dérivé est le zéaralénol, formé par l'action de l'hydroxystéroïde déshydrogénase dans le foie.

Les transférases hépatiques et intestinales jouent un rôle dans la liaison des métabolites, et sont généralement considérées comme des enzymes de détoxification, facilitant l'élimination des toxines sous forme de composés hydrosolubles : désacétyltrichothécènes ou conjugués de l'acide glucuronique avec les hydroxyaflatoxines. Ces enzymes se lient également à l'époxyde actif du glutathion (AFs, acide pénicillique) (**Tableau 09**) (**Tannous, 2015**).

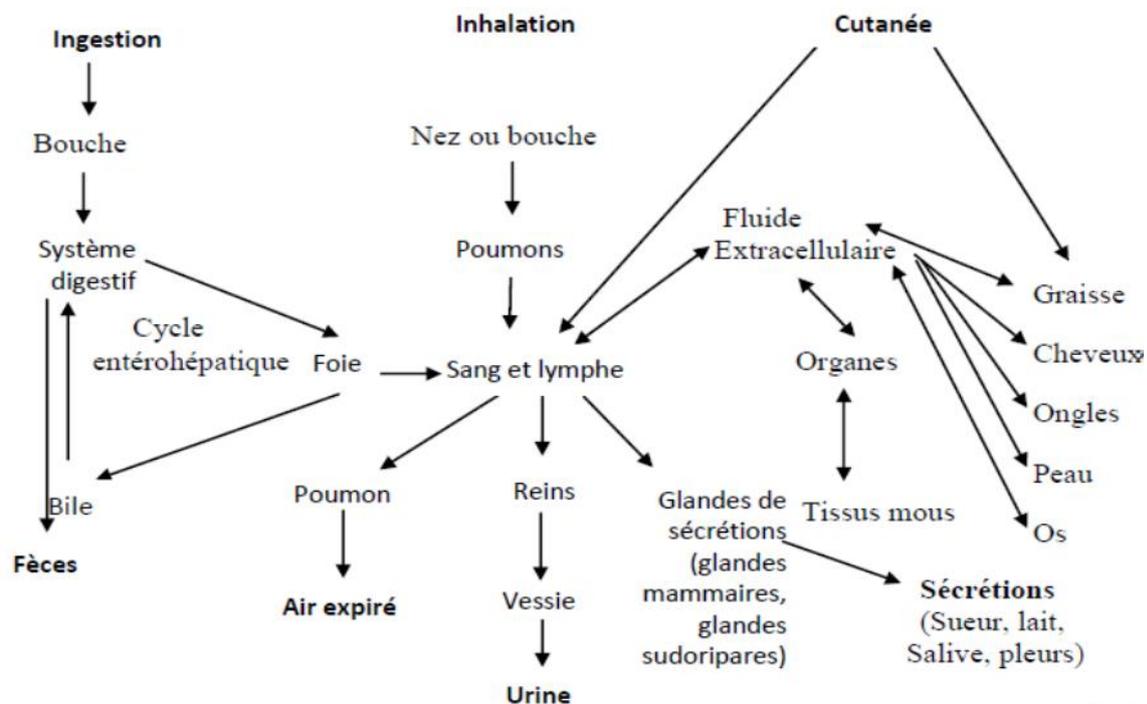
**Tableau 09.** Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement (**AFSSA, 2006**).

Toxine	Effets	Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires
AFs B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par cytochromes P450 Conjugaison aux GS-transférases
OTA	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases

### III.7 Les voies de pénétration chez l'homme et l'animal

Les trois principales voies d'absorption des mycotoxines sont : l'inhalation, l'ingestion d'aliments contaminés et, plus rarement, le contact avec des plaies. Dans le milieu professionnel, la contamination se fait essentiellement par les voies respiratoires. Des études ont montré que les mycotoxines peuvent prédisposer ou aggraver des conditions telles que l'alvéolite allergique, le cancer du poumon, du foie, des reins et d'autres maladies. L'activité physiopathologique des mycotoxines est influencée par divers facteurs, tels que leurs propriétés chimiques, leur concentration, la durée d'exposition et la sensibilité de l'individu ou de l'espèce exposée. Une fois inhalées, les particules organiques et les poussières contaminées par les mycotoxines se dissolvent dans le liquide des alvéoles pulmonaires et pénètrent dans la circulation sanguine. Toutefois, ce type de contamination n'est pas contagieux. Pour les agriculteurs, le risque de contamination par inhalation est particulièrement élevé dans l'environnement de travail, notamment en présence de toxines dans les poussières de céréales (Heit, 2015).

Avant de passer par les voies urinaires et/ou fécales, les mycotoxines passent par différentes étapes métaboliques et excrétrices, en fonction de leurs propriétés physiques et chimiques (Figure 13) (Jard, 2009).



**Figure 13.** Principales voies d'absorption, de distribution, métabolisme et d'excrétion des mycotoxines (Jard, 2009).

### III.8 Les aliments contaminés par les mycotoxines :

Peuvent être classés en deux groupes:

#### ▪ Les aliments d'origine végétale :

Les céréales présentent le plus grand facteur de risque, compte tenu de leur consommation importante, Les autres produits d'origine végétale sont les fruits et légumes secs, les épices, le café, le cacao et les jus de fruits et leurs produits de fermentation.

#### ▪ Les aliments d'origine animale.

Parmi les produits et aliments d'origine animale, le lait, les viandes, les abats et tout ce qui en dérive.

### III.9 Les facteurs influençant la production des mycotoxines :

La formation de mycotoxines est largement influencée par une interaction complexe entre plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques.

#### III.9.1 Facteurs intrinsèques:

##### III.9.1.1 Les facteurs biologiques :

la présence de gène cluster responsable de l'enzyme de conversion.peuvent être liés à l'espèce fongique, à la spécificité de la souche et à l'instabilité des propriétés toxiques. Une même toxine peut être produite par différentes espèces, parfois appartenant à différents genres, et une même espèce peut produire plusieurs mycotoxines. De plus, la présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet inhibiteur sur la production de toxines, en raison de la compétition pour le substrat et du potentiel de certaines souches à dégrader les toxines (**Le baras et al. , 1987**) .

#### III.9.2 Facteurs extrinsèques :

##### III.9.2.1 Facteurs physiques:

- **Température :**

La température joue un rôle prépondérant sur la croissance et la physiologie des moisissures et en outre sur la compétition entre les espèces. La plupart des champignons sont mésophiles avec des optima de croissance variant de 25 °C à 35°C. Pour d'autres, ils sont psychrophiles ou psychrotolérantes(**Botton et al., 1990**).

La température permettant une toxigénèse optimale est en général voisine de la température optimale de croissance (**Pfohl-Leszkowicz,1999**). Par ailleurs, les mycotoxines peuvent être élaborées à des températures généralement inférieures à celle de la croissance (**Samson et al., 2004**). En ce qui concerne les *Aspergillus* de la section *Nigri*, de façon générale,

la production d'OTA se fait dans un très large intervalle de température (**Esteben et al., 2004**).

- **Activité de l'eau ( Aw):**

Quelle que soit la nature de l'aliment, aucun micro-organisme ne peut se développer à une Aw inférieure à 0.65. Il s'agit d'un paramètre dont l'influence est déterminante sur le développement des moisissures ainsi que sur la production de mycotoxines (**Belli et al., 2004**).

- **pH:**

Le pH du milieu est un facteur important pour la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des moisissures croissent dans des pH acides et peuvent tolérer des valeurs de pH très basses (**Le baras et al. , 1987**).

- **Endommagement des grains**

Les grains cassés, fissurés ou altérés par les insectes et les acariens constituent des foyers favorables pour le développement des moisissures qui, après leur envahissement libèrent les toxines (**Le baras et al .,1987**).

### III.9.2.2 Facteurs chimiques:

- **Composition gazeuse :**

C'est exact. La plupart des moisissures prospèrent en présence d'oxygène, mais une réduction de la pression partielle en oxygène et une augmentation de la teneur en dioxyde de carbone peuvent inhiber leur croissance et leur capacité à produire des toxines. (**Derache, 1986**). Effectivement, une fois exposées à l'air libre ou à une ventilation, les moisissures peuvent réagir en produisant rapidement des toxines, souvent en réponse au stress causé par le changement d'environnement. C'est pourquoi il est crucial de gérer les moisissures avec précaution, en prenant des mesures appropriées pour éviter une exposition excessive aux toxines. (**Le baras et al., 1987**).

- **Traitements agricoles:**

Plusieurs facteurs peuvent influencer la production de mycotoxines dans les champs. Le labour, la rotation des cultures, l'utilisation de fongicides, la variété des plantes et les conditions géographiques peuvent tous jouer un rôle dans la prévalence et la concentration des mycotoxines dans les cultures. C'est pourquoi une approche intégrée est souvent nécessaire pour minimiser les risques liés aux mycotoxines dans l'agriculture (**Le baras et al. , 1987**).

- **Nature du substrat:**

Latoxigénèse est fortement liée au substrat sur lequel les moisissures se développent. Sur les denrées alimentaires, une espèce dominante peut souvent être associée à la production de ses toxines spécifiques. Cependant, en général, la production d'aflatoxines et d'OTA (ochratoxine A) est d'abord favorisée par la présence de glucides dans le substrat, suivie par les lipides, puis par les protéines. Cela souligne l'importance de contrôler non seulement les moisissures elles-mêmes, mais aussi les conditions environnementales et la composition du substrat pour réduire les risques liés aux mycotoxines. (Lund et al., 2003).

### **III.10. Prévention :**

Pour empêcher la formation des mycotoxines sur les céréales avant la récolte ou stockée après la récolte :

#### **III.10.1 Les différentes stratégies :**

##### **a) le respect des bonnes pratiques agricoles "BPA" :**

- Assurer à la récolte sur pied de bonnes conditions écologiques, irrigation suffisant, apport de minéraux... Et éviter les conditions écologiques favorables à l'infection fongiques
- Eviter les résidus de plants intoxiques afin d'empêcher le risque de contamination à la récolte suivante ou aux autres plantes (Quilien,2000).
- Respecterla rotation des cultures pour réduire le tranfert de moisissures d'une année sur vautre , il faut récolter des grains arrivés à maturité (Jean, 2007).
- Le matériel de récolte doit être propre, on évitant l'incorporation de terre lors de la récolte qui apporte des contaminants avec elle (Boudra, 2003).

##### **b) Le respect des bonnes pratiques de stockage "BPS ":**

- Les lieux de stockage doit être : frais, propre, secs,aérés, T° contrôlée.
- Éviter les points d'échauffement lors du transport et du stockage, et effectuer un pré -tri avant le séchage et l'entreposage, pour retirer les contaminations superficiels apportées par les débris de végétaux et la terre
- Ainsi il convient d'appliquer les bonnes pratiques d'hygiène "BPH " pour assurer la sécurité sanitaire des aliments et du consommateur(Blay et Carre ,2005).

#### **III.10.2Décontamination et détoxification:**

- **Méthode physique:** simple, demandent beaucoup de temps et le tri permettant d'eliminar une part des mycotoxines sans altérer les propriétés nutritives, ni l'aspect des denrées .0(Berthier et valla, 2001 ; Gallotti et al ,2006).

- **Méthode chimique** : ajouter une variété des agents chimiques tels que les acides et les base (ammoniaque soud ), mes agents oxydant ( peroxyde d'hydrogène, ozone), les agents réducteur (bisulfites ),les agents chlorés( hypochlorite de sodium)(**Jenimli, 1977**).

- **Méthode biologique** : ajouter les micro-organismes ayons le potentiel de dégradation des mycotoxines : Bactéries lactique, Bifidobacterie..... Car elles possèdent des structures pariétal capable de se lier aux mycotoxines. Flavobactériaceas peut fixer l' AFB 1 et la rendre inactive.

-Nouveau stratégie de lutte : HazardAnalysisCritical Contrôle point "HACCP"

Réglementation (**Quilien, 2002**).

### III.11 l'échelle mondial

**Tableau 10** : valeurs guides recommandées par le Codex Alimentarius pour les échanges mondiaux de denrée alimentaires destinée a l'homme

Mycotoxine	Denrées	Teneurs maximales admissibles
Aflatoxine B1	Alimentation infantile	1
Aflatoxine M1	Lait	0.5
Ochratoxine A Patuline	Céréales Pommes (jus et produits à base de )	5 50

#### III.11.1 En Algérie :

Arrêté du 11 octobre 2006 - Rendant obligatoire la méthode de dosage de l'aflatoxine B1 et la somme des aflatoxines B1, B2, G1 et G2 dans les céréales, les fruits à coque et les produits dérivés. -Domaine d'application: pour la détermination des teneurs en aflatoxines >8 µg/kg - Extraction par le méthanol et dosage par CLHP/fluorescence et dérivation post-colonne à l'iode .

### III.12Méthode de détection des mycotoxines :

#### III.12.1 Méthode physico-chimique :

##### III.12.1.1 La chromatographie sur couche mince "CCM":

Séparer les toxines à l'aide d'une phase liquide migrant sur phase solide apolaire ou polaire fixées sur une plaque de verre. En fin de migration, la lecture de la plaque peut s'effectuer à l'aide d'une lampe UV pour les mycotoxines fluorescent naturel ou avec réactif chimique. bonne étape de criblage des échantillons mais la quantification est difficile (**Arbeault et Daussant, 2006**).

**III.12.1.2 la chromatographie à haute performance " HPLC ":**

Plus sophistiquée que la CCM , Séparer efficacement les mycotoxines. - utilise une phase mobile migrant à travers une phase solide granuleuse polaire ou apolaire placée dans une colonne. la détection des mycotoxines réalisée dans UV, ou fluorescence. Requier l'acquisition d'instruments onéreux et peut être automatisée, facilitant ainsi l'analyse successive de plusieurs échantillons sans la présence de l'opérateur(**Dragcci et Vremy, 1999 ;Arbeault , 2006**).

**III.12.2 Méthode immunochimique :****III.12.2.1 Elisa :**

technique de dosage de type immunoenzymatique EIA Enzymes ImmunoAssay plus répondu. très dépendants de l'anticorps utilisé dont les caractéristiques variant selon l'immunogène .limite le nombre restreint d'expérience, elle souligne cependant les variations notables selon l'immunogénr utilisé. - s'effectue sur mince titration de 96 puits**Arbeault,2001 ; Atanasova-penichon, 2006**).

**III.12.3 Méthode biologique :**

Utilisent les propriétés de ATB de la majorité des mycotoxines à l'égard : *Saccharomyces cervisiae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*(**Tarr,1996**).

# **Chapitre IV**

## **Matériel et Méthodes**

## Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au Laboratoire de Pédagogique de Université Dr Molay Tahar de la wilaya de Saida, dans une période de 4 mois (février-mai), l'objectif de ce travail porte sur :

- Collecte des échantillons du blé *dur* et blé tendre stockés et le biofilm au niveau de CCLS de la wilaya de Saida.
- Isolement et identification de moisissures .
- Détermination du pouvoir toxigènes des isolats sur des milieux sélectifs pour chaque genre.
- Détection des mycotoxines présents par chromatographie sur couche mince (CCM).

### IV. 1. Matériel

#### IV.1.1 Échantillons utilisés

Au cours de ce travail, nous avons collecté des échantillons du blé *dur* (*Triticum durum*) et du blé *tendre* (*Triticum aestivum*) stockés et le biofilm au niveau de Coopérative des Céréales et des Légumes Sec (CCLS) de Saida. Le stocke date de la saison de récolte de l'année 2023 .

#### IV.1.2 Milieux de culture

Les milieux de cultures utilisés pour l'isolement et l'identification morphologique des principaux genres et espèces fongiques ainsi que pour la production des mycotoxines sont les suivants :

- Milieu Potato, Dextrose, Agar (PDA) (**Raper et Fennell, 1965**)
- Milieu Czapek, Yeast, Agar (CYA) (**Pitt et Hocking, 1997**)
- Milieu extract Malt Agar (MEA) (**Riddish 1919**)
- Milieu 25ar% Glycerol Nitrat Agar (G25N)
- Milieu Czapek Dox Agar (CDA)

La composition chimique de ces milieux est donnée en **annexe1**.

## IV.2 METHODES

### IV.2.1 échantillonnage

Les analyses effectuées ont porté sur les grains du blé dur et du blé tendre non traités et stockés qui nous ont été fournis par les Coopératives des Céréales et des Légumes Secs (CCLS) de wilaya de SAIDA (**photo 10**). Trois échantillons représentatifs de 1 à 2 kg pour chaque types de blé (*dur*, *tendre*) et 1 pour le biofilm prélevée en différent période selon les normes de l'UE (EC2006) et sont réparti comme suit (**Tableau 11**).



**Photo 10** : Site de prélèvement Coopératives des Céréales et des Légumes Secs (CCLS) de wilaya de Saida.

**Tableau N 11: Origine et date de prélèvements des échantillons**

N°	échantillons	Date de prélèvements	Poids (g)	origine
1	Blé dur local 1	04.02.2024	2000	<b>Adresse</b> : Zone industrielle Rebahia . Rout National N° 06 Wilaya de Saida <b>Localisation</b> : 34°51'27.5"N 0°08'49.0"E
	Blé tendre local 1		2000	
	Biofilm 1		500	
2	Blé dur local 2	11. 02.2024	2000	
	Blé tendre local 2		2000	
3	Blé dur local 3	25. 02.2024	2000	
	Blé tendre local 3		2000	

## IV.2.2 Analyses physico-chimiques :

### a. Détermination de l'humidité

C'est une méthode qui consiste à effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque échantillon à une température de 105 °C pendant 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant, par la suite on calcule l'humidité de chaque échantillon par la formule suivante (**Multon, 1982 ; Gacem et al., 2011**) :

Humidité % = poids avant séchage - poids après séchage / poids avant séchage x10.

### b. Détermination du pH:

L'estimation de l'acidité ou l'alcalinité de nos échantillons on prépare une solution à base de 45 ml d'eau distillée et de 5 g d'échantillon broyé. Après agitation et repos d'une heure, la mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH mètre. Chaque mesure repérée 3 fois et en prend la valeur moyenne (**Rashdi,2004**).



**Photo 11** : Mesure de pH ed'un échantillon par le pH mètre .

## IV.2.3 Analyses mycologiques:

### IV.2.3.1 Détermination du pourcentage des grains cassés :

(état physique des grains)

L'enveloppes des grains constitue un barrière contre les agression biologique, de ce fait, toutes atteintes mécaniques du grain sont favorables à l'entrée et aux développement des champignons en cours de stockage et à l'attaque d'insectes, ainsi les grains endommagés deviennent un terrain favorable à l'infestation par *A. flavus* et *A.parasiticus* et à la pénétration de l'inoculum à l'intérieur de la graine (**Hesseltine et al.,1981**). Il est important donc de minimiser le taux des grains brisés

Il s'agit donc de comptabiliser le taux des grains cassés par rapport à une prise d'essai de 100 g de chaque échantillon de blé tendre.

#### **IV.2.3.2 Dénombrement de la flore fongique :**

Chaque germe viable forme un thalle après incubation en milieu ensemencé. Le nombre de thalles correspond donc au nombre, de germes viables présents dans l'inoculum. Compte tenu de la dilution, ce nombre pourra être ramené au nombre de germes contenu, dans 1g de produit analysé(**Botton *et al.*,1990**).

Les méthodes de dénombrement des moisissures les plus sollicitées dans le cas des grains et graines sont :

- La méthode d'Ulster, ou méthode « directe », qui ne s'applique qu'aux grains entiers,
- La méthode classique « des dilutions -ensemencement » qui concerne également les produits fractionnés. (**Cahagnier, 1988**).

##### **IV.2.3.2.1 Méthode directe:**

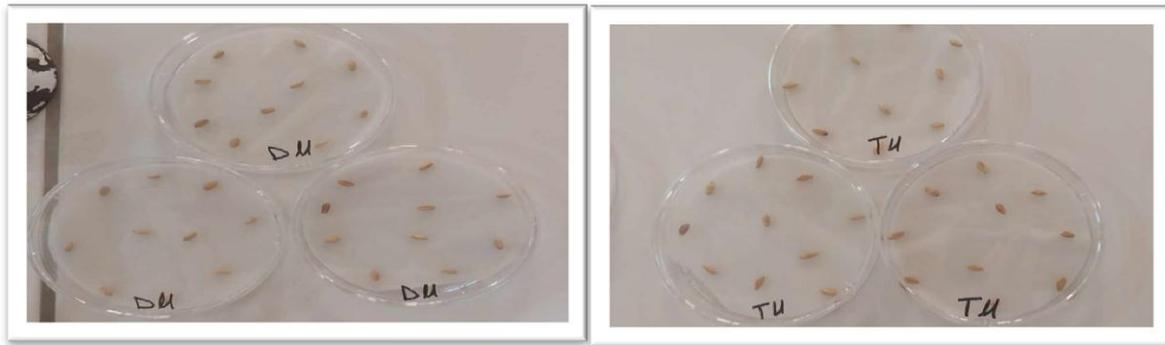
La méthode directe est la méthode préférée pour détecter, évaluer et isoler des mycètes des nourritures particulières telles que des grains et des noix.

Une céréale saine possède des capacités supérieures à 90%. Le pouvoir germinatif sert de mesure pour évaluer l'aptitude au stockage d'une céréale. Ce processus est plus efficace pour étudier la qualité mycologique inhérente, et permet également une bonne évaluation de la présence potentielle des mycotoxines. Les résultats des analyses par ensemencement direct sont exprimés en taux de particules contaminés.

Elle permet éventuellement de localiser les éléments actifs de la microflore qui donne des colonies visibles sur les grains et détermine dans un lot de grains donné le pourcentage de grains contaminés par tel ou tel genre et espèce de moisissures. (**Cahagnier, 1988**).

##### **a. Méthode d'Ulster (M.U) :**

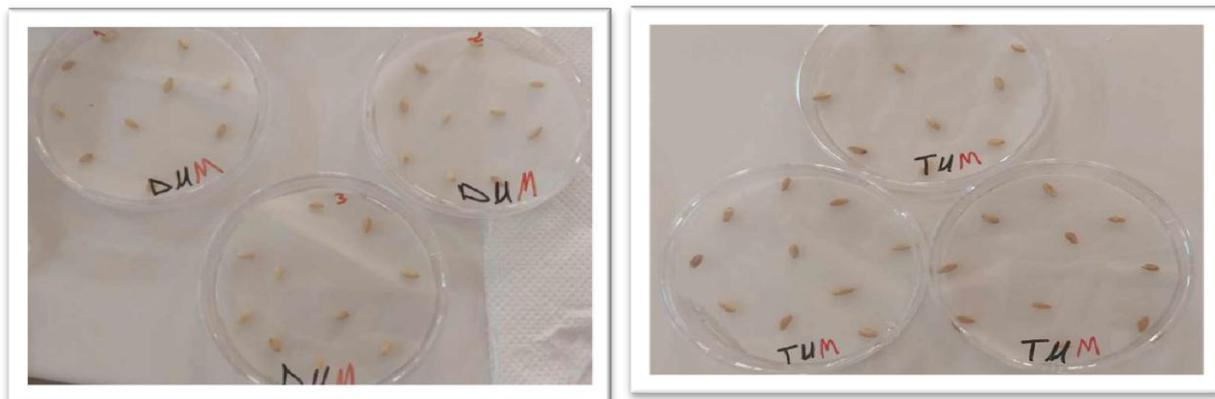
C'est une méthode de mise en évidence des moisissures de surface et de profondeur des grains. Elle consiste à déposer 100 grains de chaque échantillon, pris au hasard, dans des boîtes de Pétri stériles tapissées de papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile à raison de 10 grains par boîte. Les boîtes sont incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 5 à 7 jours.



**Photo 12** : Méthode d'Ulster (*BDL, BTL*)

**b. Méthode d'Ulster modifiée (M.U.M) :**

C'est une méthode de mise en évidence des moisissures de profondeur des grains. Nous avons procédé à la désinfection superficielle des grains en utilisant l'hypochlorite de sodium ( $\text{NaCl}_2\text{O}_3$ ), 100 grains de chaque échantillon, pris au hasard, sont introduits dans l'eau de javel à 6° pendant 3 min, ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile trois fois de suite, puis déposés dans des boîtes de Pétri stériles tapissées de papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile à raison de 10 grains par boîte. Les boîtes sont incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 5 à 7 jours



**Photo 13** : Méthode d'Ulster modifiée (*BDL, BTL*)

**IV.2.3.2.2 Méthode de dilution :**

La méthode de dilution est utilisée pour l'analyse mycologique des nourritures liquides ou en poudre après les avoir mis en suspension dans une solution physiologique. L'intérêt de cette méthode réside dans le fait que les propagules fongiques sont dénombrées à partir de la même suspension mère, et qu'elle intègre les flores internes et externes. (Larpent, 1997)

On a utilisés deux milieux pour le dénombrement de ces propagules fongiques :

- ▣ **PDA** (Potatoes Dextrose Agar acidifiée) ;
- ▣ **CDA** (Czapek Doxtrose Agar) ;

A partir des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-6}$  de chaque échantillon blé (*Dur, tendre*), deux boîtes de chaque dilutions sont ensemencées avec 1ml d'inoculum étalé en surface l'incubation se fait à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours.

**NB :** afin d'éviter la contamination bactérienne, le milieu PDA est acidifié jusqu'à un pH de 4,5 – 5 en ajoutant 1 ml d'acide lactique à 25% par flacon de milieu. On peut également utiliser le rose Bengal pour inhiber la croissance bactérienne, et limite la taille des moisissures dans la boîte pétri ce qui facilite le comptage (**Larpent, 1990**).

En vue de l'obtention d'isolats purs, plusieurs repiquages successifs sur milieu PDA a ont été réalisés. Les isolats sont repris sur des tubes de PDAA inclinés et incubés à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant une semaine ou plus. Afin d'assurer leur conservation, les tubes sont gardés à  $4^{\circ}\text{C}$



**Photo 14 :** Méthode de dilution de deux échantillons étudiés

### **IV.3 Isolements et dénombrement de la flore fongique sur milieux PDA et CDA**

Dans notre étude nous avons utilisé la méthode de suspension-dilution pour l'isolement de la microflore fongique. Pour chaque échantillon ( blé dur ,blé tendre , biofilm ) 1g de blé broyés a été additionné à 9ml d'eau physiologique stérile, la suspension est agitée pendant 10 min, ce qui correspond à la solution mère. A partir de cette dernière, une série de dilutions décimales est réalisée jusqu'à  $10^{-6}$ . Pour chaque dilution, un volume de 0,1 ml est ensemencé en surface sur une gélose PDA et CDA (**Annexe 1**), cette opération est réalisée en duplicata. Les boîtes sont en suite, incubées à  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours.

#### **IV.3.1 Identification des isolats**

L'identification des isolats est faite à l'aide de clés dichotomiques et d'ouvrages d'identification, en faisant essentiellement appel aux caractères cultureux comme la forme, la couleur, la pigmentation et le diamètre, et aux caractères morphologiques microscopiques

(mycelia et conidies), des moisissures isolées à l'état pure (**Botton et al., 1990**).

#### IV.3.1.1 Identification macroscopique

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après ensemencement des souches pures sur les deux milieux de cultures spécifiques PDA et CDA (Annexe), et incubée à 25°C pendant 5 à 7 jours. L'identification se fait à l'oeil nue et elle se base essentiellement sur les caractères suivants :

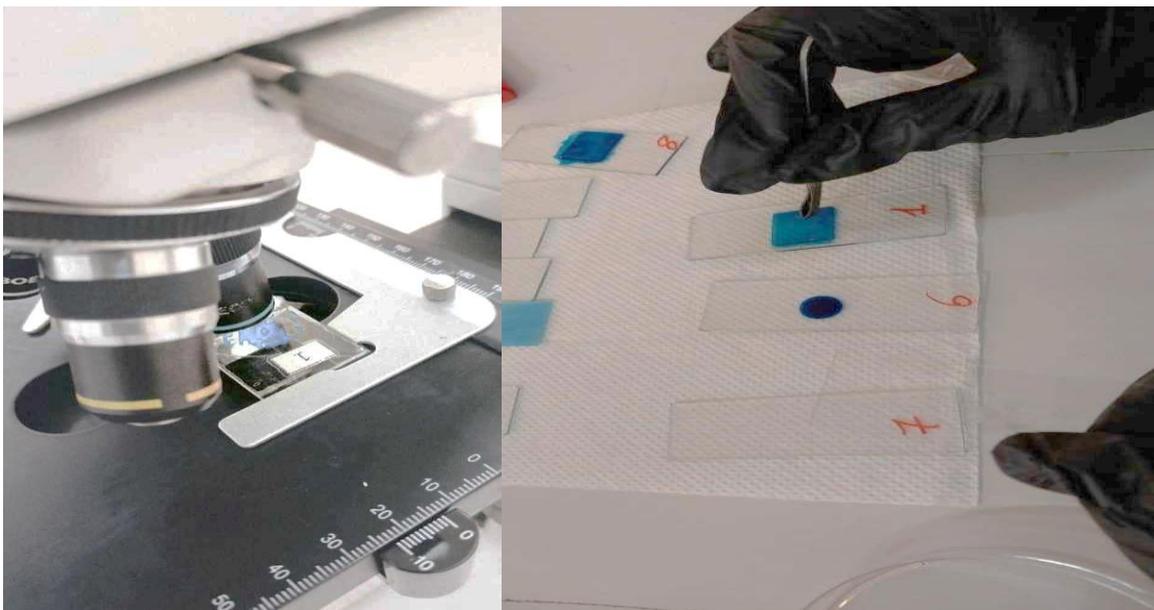
- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)
- La texture des colonies.
- La couleur des colonies.
- La couleur du revers de la culture.

#### IV.3.1.2 Observation Microscopique

L'observation microscopique a été réalisée par la technique du scotch qui consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène. Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour du scotch avec une feuille de papier absorbant. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40 (**Chabasse et al., 2002**).

L'étude microscopique du mycélium est basée sur.

- L'absence ou présence de cloisons ;
- Couleur des filaments mycéliens ;
- Mode de ramification des cloisons ;
- Différenciation des thallospores ;



**Photo 15** : coloration et observation microscopique des isolats.

### IV.3.2 Repiquage et purification des souches

Après incubation, les souches obtenues sont repiquées sur le PDA et CDA(Annexe1) jusqu'à obtention des souches pures. Pour la purification des souches, il suffit de prélever avec une anse stérile quelques spores ou un fragment mycélien à la marge du thalle de chaque colonie et de transférer l'inoculum sur un milieu neuf. Pour obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation a été réalisée en un seul point et non en stries c'est le cas pour les bactéries en déposant la bouture au centre d'un milieu en boîte de Pétri (Botton *et al.*, 1990). Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 5 à 7 jours.

### IV.3.3 Conservation des isolats

Les moisissures purifiées sont conservées à 4°C après avoir être ensemencées sur gélose PDA inclinées et incubées à 25°C pendant 5 à 7 jours.



**Photo 16** : conservation d'un isolat dans un tube avis

### IV.4 Identification des moisissures:

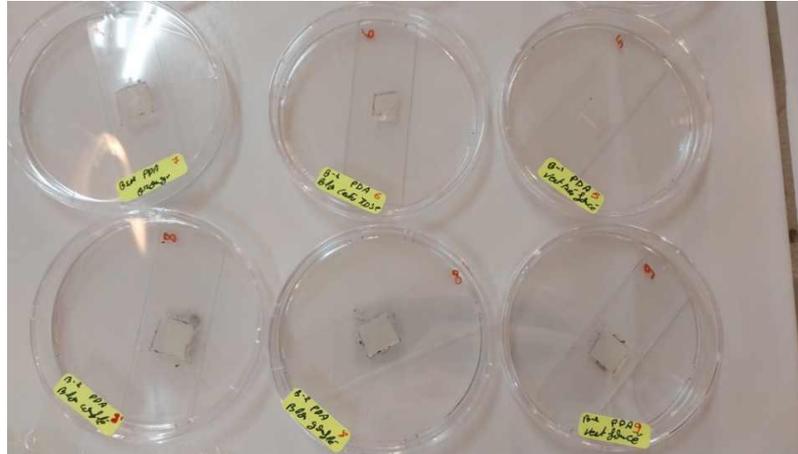
Leur identification repose essentiellement sur l'observation des caractères de développement, complétées par une description des caractères cultureux tels qu'ils se présentent dans des conditions précises (vitesse de croissance, texture des thalles, coloration en se référant à un code des couleurs, revers des cultures, etc...). (Larpen, 1997)

#### IV.4.1 Identification des genres:

Technique De Micro culture Décrite par HARIS (1989) Cette technique consiste à inoculer les spores des moisissures sur des lames menées de petits carrés de PDAac (PDA acidifier) solidifiés et les recouvrir par des lamelles. Les spores sont ensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer.

L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubée à 25 C° pendant 3 à 5 jours. Après incubation, les lamelles aux quelles s'adhèrent le mycelium sont,

transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol ou bleu de coton pour l'observation microscopique aux grossissements x10, 40, 100. Les genres sont déterminés par les caractères culturels et microscopiques en se référant au manuel de **BARNETT** (1972).



**Photo 17** : Identification des genres par la méthode HARIS.

#### IV.4.1.1 Identification des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*

L'identification des moisissures est effectuée en utilisant un schéma taxonomique basé sur les caractères morphologiques. Selon **PITT**(1973) et **RAMIREZ** (1982), cette méthode est dite single spore , basée sur la relation entre l'*aw* du milieu de culture et la température d'incubation. Elle consiste à l'inoculation de quelques spores d'une culture jeune dans des tubes à hémolyse contenant une suspension semi solide à base de 0,2% d'agar et 0,05ml de Tween 80.

##### ☒ Identification des espèces d'*Aspergillus*

L'identification des espèces d'*Aspergillus* se fait sur trois milieux différents à ,savoir :

- ☒ Malt Extract Agar (MEA) à 25°C, nous informe sur la couleur de thalle;
- ☒ Glycérol Nitrate Agar (G25N) à 25°C, milieu à base de glycérol (25%) ou l'*aw* est faible;
- ☒ Czapek Yeast Extract Agar (CYA) utilisé à deux températures de 5 et 37°C

##### c. Identification des espèces *Penicillium*

- ☒ Czapek Dextrose Agar (CDA) à 25°C
- ☒ Malt Extract Agar (MEA) à 25°C
- ☒ Glycérol Nitrate Agar (G25N) à 25°C,
- ☒ Czapek Yeast Extract Agar (CYA) utilisé à températures de 37°C  
donnent une croissance variant selon l'*aw* à des températures variables.

Les différents isolats d'*Aspergillus* et *Penicillium* sont inoculés comme le montre la figure suivante :



**Figure 14** : Types d'inoculation dans les différents milieux de culture

Types d'inoculation dans les différents milieux de culture Les boîtes incubées à 37°C doivent être enfermées dans des sacs en polyéthylène pour empêcher l'évaporation, donc l'assèchement du milieu. À moins que l'humidité soit très basse, les boîtes à 25°C ne subissent pas d'évaporation excessive en 7 jours. Examen des cultures Pour toutes les cultures obtenues après 7 jours, l'identification est fondée sur la technique de Pitt selon les caractéristiques suivantes (**Pitt, 1973**).

Diamètres de colonie On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètres sur le fond de la boîte. La croissance ou la germination microscopique à 5°C est évaluée par analyse en microscopie à faible grossissement, en mettant la boîte de Pétri de 5°C sur le champ optique du microscope et en examinant la lumière transmise. (**Bolton et al, 1990**) Caractères de colonie L'aspect de la colonie est examiné à l'oeil nu ou sous une loupe. Pour déterminer les couleurs des colonies, on les examine à la lumière du jour ou sous lumière fluorescente.

#### **IV.5 Analyses mycotoxiques :**

Les extraits purifiés sont déposés sous un volume de 40 µl et la solution étalons (AFB, et AFG pure) un volume de 10 µl.

La migration se déroule dans une cuve de verre en présence d'un mélange de chloroforme/acétone (1/1, v / v) La détection qualitative de l' \* AFB et l'AFG1 se réalise par absorption de la plaque de chromatographie sous une lampe UV à la longueur d'onde ( $\lambda = 360\text{nm}$ ) dans ces conditions, l'AFB, se visualise par une tache de fluorescence bleue et l' \* AF\*G\_{1} se visualise par une tache de fluorescence vert. La détection semi quantitative de l' AFB, et l'AFGI peut s'obtenir par mesure visuelle en comparant l'intensité des taches correspondant à la solution étalon déposée.

#### IV.5.1 Recherche des souches productrices des mycotoxines

Toutes les souches d'*Aspergillus niger* ; *Penicilium ssp* ; *Fusarium culmorum*. Identifiées des prélèvements analysés sont cultivées sur milieu P.D.Aac pendant 5 jours à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  et sont soumises aux analyses mycotoxicologiques.

#### IV.5.2 Ensemencement sur milieu Y.ES:

Les souches d'*Aspergillus niger* ; *Penicilium ssp* ; *Fusarium ssp* et sont réensemencées sur milieu Y.E.S (Yeast Extract Sucrose), riche en vitamines B complexes, ce milieu favorise la métabolisation secondaire et induit les réactions anabolisantes. L'incubation se fait à  $30^\circ\text{C}$  pendant 14 jours

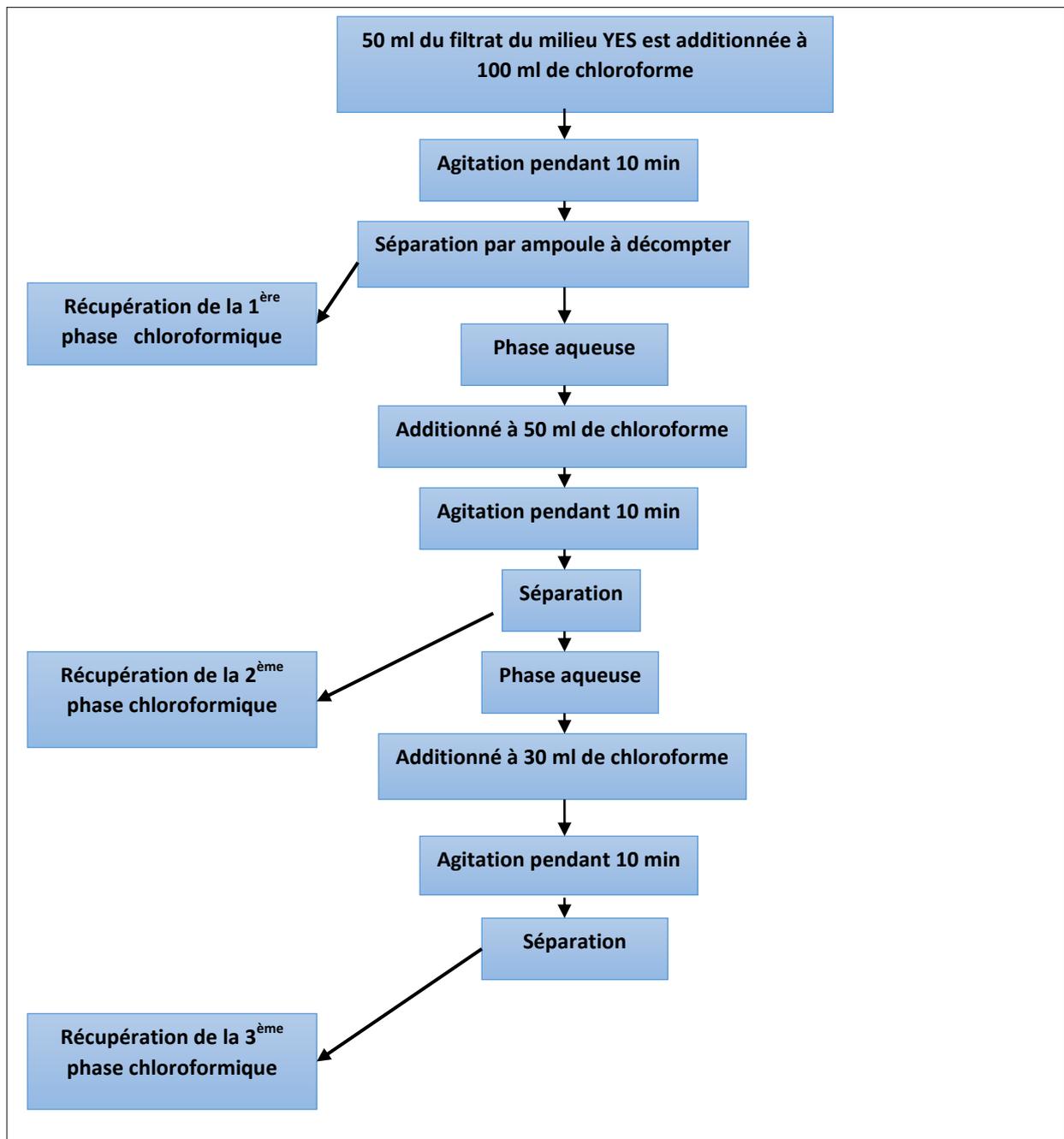


**Photo 18:** Filtration de biomasse formée sur le milieu YES

(a) : *fusarium ssp* (b) : *penicilium ssp* (c) : *aspergillus ssp*

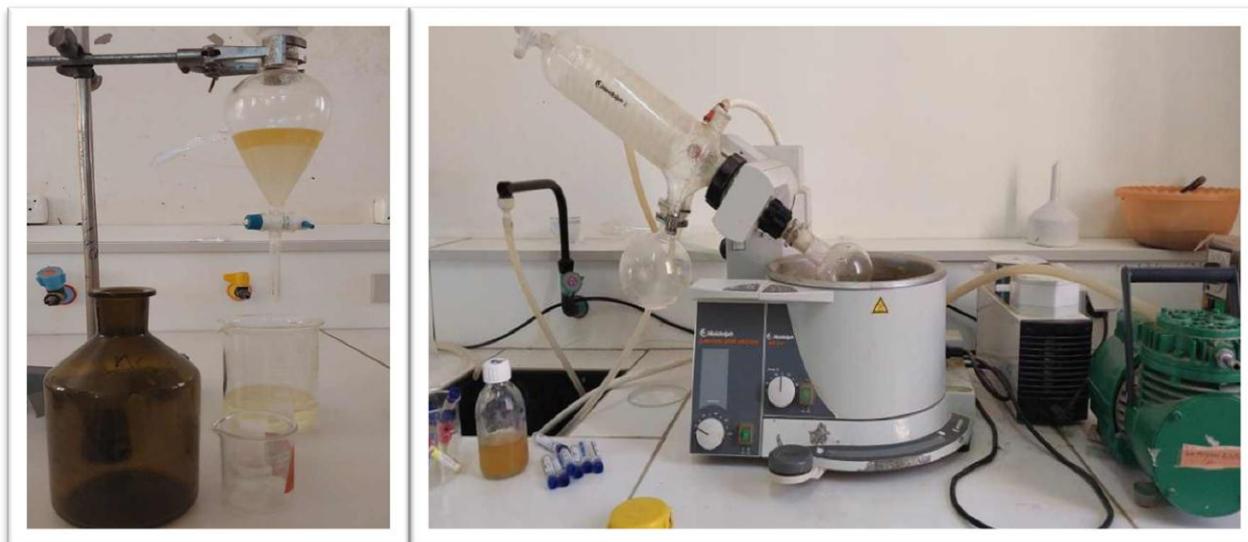
#### IV.5.3 Etraction

Après élimination de la biomasse formée sur le milieu YES (photo 18) , par filtration, l'extraction des mycotoxines à partir du filtrat se fait suivant le protocole suivant ;



**Figure 15.** Protocole de l'extraction de l'aflatoxine (B1,G1)

Les 3 phases chloroformiques ainsi obtenues sont mélangées. Après évaporation, l'extrait purifié est alors soumis à une séparation chromatographique.



**Photo 19 :** Extraction et concentration de l'extrait qui contient des métabolites secondaire

#### **IV.6 Analyse chromatographique par C.C.M:**

Extraction des aflatoxines: Après 14 jours d'incubation, on se débarrasse de la biomasse formée en filtrant le milieu Y.E.S à travers du papier filtre. 50 ml du filtrat obtenu sont additionnés à 180 ml de chloroforme, le tout est vigoureusement agité pendant 30 min, on laisse ensuite le mélange décanté en utilisant une ampoule. (Ampoule à décantation).

La phase chloroformique ainsi obtenue est filtrée sur du papier filtre plissé puis concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'un rota vapeur jusqu'à un volume de 2 à 3 ml.

##### **IV.6.1 Séparation chromatographique:**

La chromatographie sur couche mince constitue la méthode de base. Elle permet une séparation efficace des produits, leur identification et leur quantification avec une bonne précision. (**Frayssinet et Cahagnier, 1982**) Elle se fait sur une plaque de sélicagel sur laquelle sont déposés deux spots de 20  $\mu$ l et 40  $\mu$ l de chaque extrait à analyser et 5  $\mu$ l de chaque solution standard d'aflatoxines.

La plaque est ensuite placée dans une cuve chromatographique et trempée dans un solvant d'éluion constitué de Toluène, Acétaldéhyde et acide formique de volume respectivement.



**Photo 20** : la chromatographie sur couche mince (CCM ) des mycotoxines

# **Chapitre V**

## **Résultat et discussion**

## II. Résultats et discussions.

### II. 1. Résultats physicochimique et mycologique du blé *tendre* et *dure*

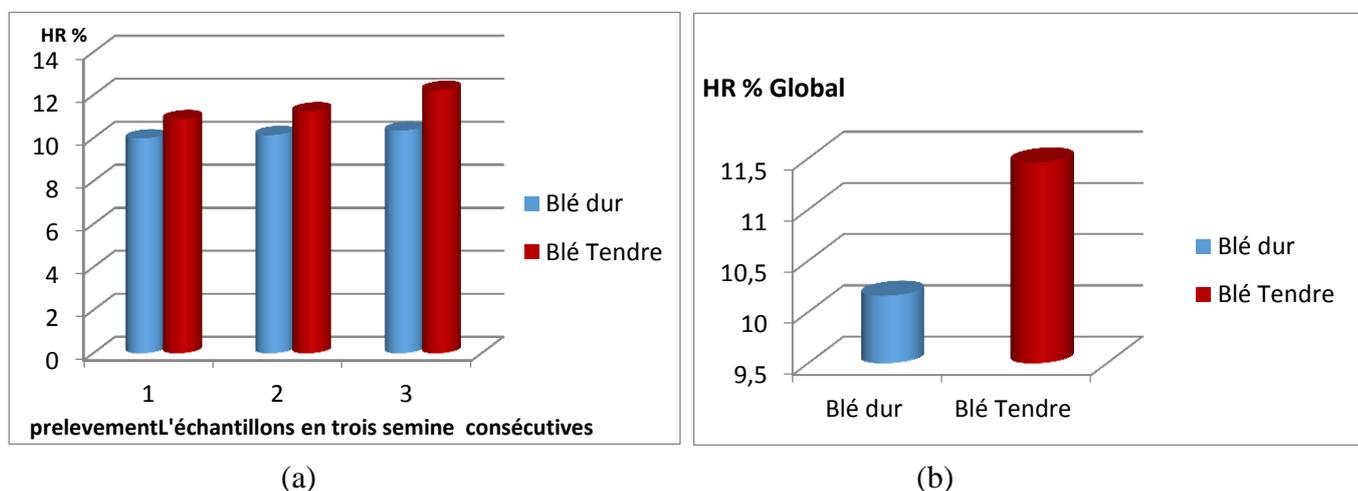
Durant cette première partie, l'étude est portée sur le contrôle (qualitatif et quantitatif) du blé *tendre* et *dur* stocké. A cet effet, les analyses effectuées visent de près l'aspect physicochimique, microbiologique et mycotoxique du blé *tendre* et *dure* utilisé.

#### II. 1.1. Résultats physicochimique du blé *tendre* et blé *dure*

##### a- Humidité (H)

C'est un paramètre très important parce qu'il influence sur le développement des moisissures ainsi sur la production des mycotoxines, surtout dans les denrées peu hydratées comme les céréales et produits dérivés.

pour tous les échantillons de blé (BTL ,BDL ) la figure 12 permet de montrer que les échantillons de blés *tendre* locales (BTL) est en générale plus humide que les échantillons de blés *dur* locales (BDL) dont on lire les valeurs moyenne d'humidité relative suivante (12,25%,11,25%,10,89%)respectivement pour BTL1 , BTL2 , BTL3 alors les valeurs les plus élevées a été enregistrées dans les échantillons de BTL1 BTL2 avec des valeurs de 12.25% , 11,25%, respectivement par contre les valeurs de BDL se situe dans un intervalle de (9,99% à 10,35% ) d'où la valeurs la plus élevée est celle de BDL 3= 10,35%.



**Figure N° 16:** Valeur moyenne de l'humidité relative d'échantillons de blé local exprimé en pourcentage (a) : humidité relative de trois échantillons  
(b) : valeurs moyennes globales des deux échantillons (BTL, BDL)

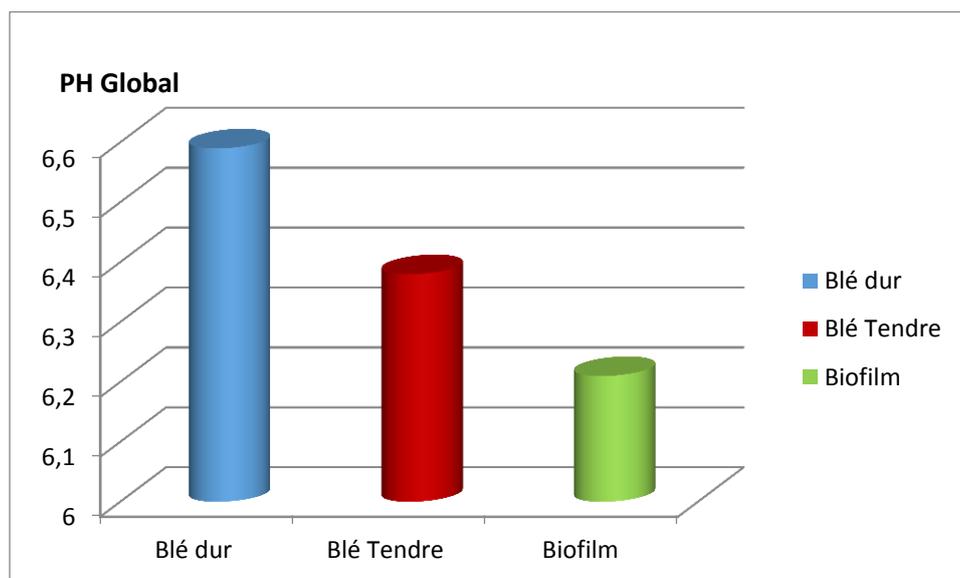
La variété importée présente un taux d'humidité élevé et selon **BENMANSOURBRIXI (2005)**, les moisissures de stockage sont capables de croître sur des substrats contenant 10 à 18 % d'humidité, avec un optimum de croissance compris entre 11 et 13 %.

**MULTON (1982)**, **BERTHIER et VALLA (1998)**, indiquent que ce développement fongique est favorisé par la relation entre la température et l'humidité

### b- Le PH

Les résultats du pH des différents échantillons analysés blé (*tendre, dure* et biofilm) reportés dans la **Figure 17** montre que l'ensemble des échantillons sont légèrement acide. Cela est due a l'effet tampon exercé par les protéines et qui approche le pH des céréales de la neutralité.

Pour les trois échantillons, on peut noter que le biofilm présente une acidité légèrement élevé que les échantillons de BDL et BTL, dont on trouve les valeurs moyennes de pH se situent entre (6,15-6,28) pour le biofilm et entre (6,32-6,44) pour le BTL et entre (6.52-6.66) pour le BDL .



**Figure N° 17:** les Valeurs moyenne du pH des différents échantillons analysés :blé tendre local et blé dur local

Selon **DURON (1999)**, les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6, de ce fait, nos échantillons constituent un milieu favorable pour le développement du champignon.

Les meures de pH de tous nos échantillons ont révélé un pH légèrement acide à neutre.

## II. 1.2. Résulta mycologique du blé *tendre* et *dure*

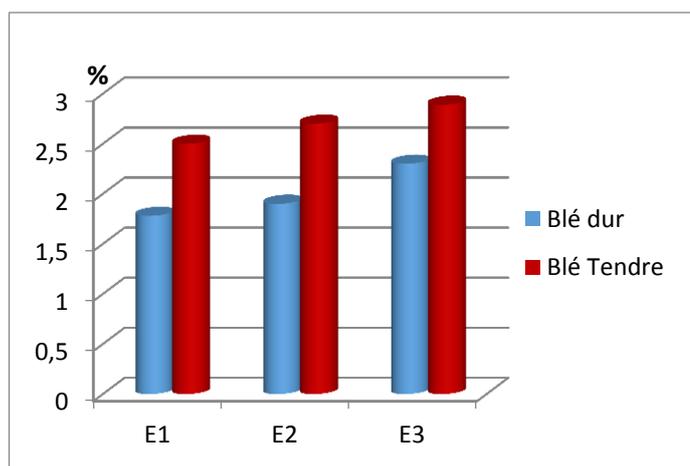
### a- Pourcentage des grains cassés (état physique des grains)

L'enveloppe de la graine du blé tendre constitue un barrière biologique contre les agressions externes et la pénétration des nuisances, une fois cassés par le choc ou au cours du battage ou même pendant le transport mécanique au silos, il permet la formation d'un port de contamination.

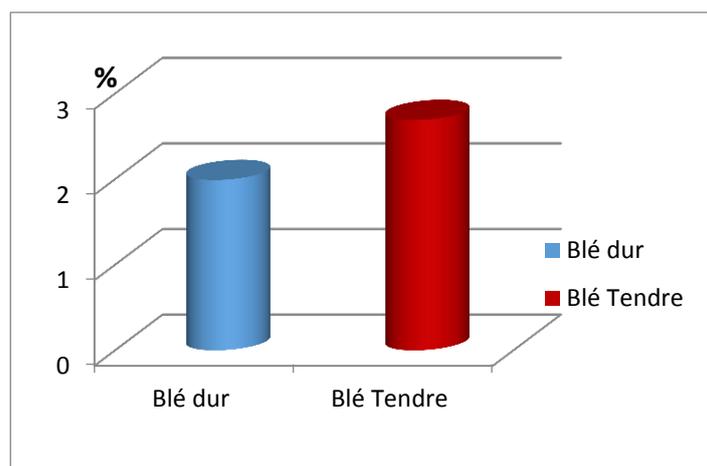
On observant la figure 14 des valeurs moyennes des grains cassés ,on constate que le blé tendre locale(BTL) présente un taux de grains cassé supérieur , dont les valeurs moyennes s'échelonnent généralement entre 2,5% et 2,89 % avec une valeur moyenne globale de 2,69%.Alors que les échantillons du blés dur locale(BDL) ayons des valeurs qui se situent dans un intervalle de 1,78% et 2,3% avec une valeur moyenne globale de 2,04% .

Cette résultats peut être causé par des bonnes conditions de récolte, notamment lors du transport et du stockage.

A partir de l'observation des résultats obtenus des deux paramètres précédents (taux de grains cassées et l'humidité relative), on constate qu'il y a généralement une corrélation entre ces deux paramètres montrer par la figure 15, d'où l'échantillons qui présente un taux de grains cassées élevé, présente aussi une humidité légèrement élevée. On peut lire par exemple le moyenne de (taux de grains cassés BTL= 2.69%, HR% BTL= 11,43%) (taux de grains cassés de BDL = 1.99%, HR% BDL= 10,17%).



(a)



(b)

**Figure N° 18 :** (a) Pourcentage des grains cassés des différents échantillons de blé (BTL , BDL). (b) Valeur moyenne Globale des grains cassés(en pourcentage) des différents échantillons de blé (BTL , BDL).

Les résultats attribués à la qualité physicochimique indiquent que les prélèvements analysés du blé tendre et dur (local) renferment un pourcentage de grains cassés inférieur au pourcentage fixé par les normes commerciales qui imposent qu'un blé de qualité ne doit pas dépasser un pourcentage de 3% de grains cassés (MOLINIE *et al.*, 2005).

#### b- germination

Les valeurs moyennes du taux de germination des différents types de blé analysés selon les deux méthodes d'Ulster et Ulster modifier sont affichés sur la (photo 20).

les échantillons de BTL présentent un pouvoir germinatif plus élevé que BDL, pour la méthode ulster les valeurs situées entre (90%-100%) de BTL et une moyenne globale de (95%), alors que les valeurs de taux de germination pour le BDL situées entre (10%-50%) avec une moyenne globale de (30%).

et pour la méthode ulster modifiée les valeurs situées entre (70%-90%) de BTL et une moyenne globale de 80%, alors que les valeurs de taux de germination pour le BDL situées entre (30%-40%) avec une moyenne globale de 35%, selon Cahagnier (1998) qui est de 80%, ce qui conduit à constater que le BTL analysés n'ont pas été sujets à une longue période de stockage par rapport au BDL.

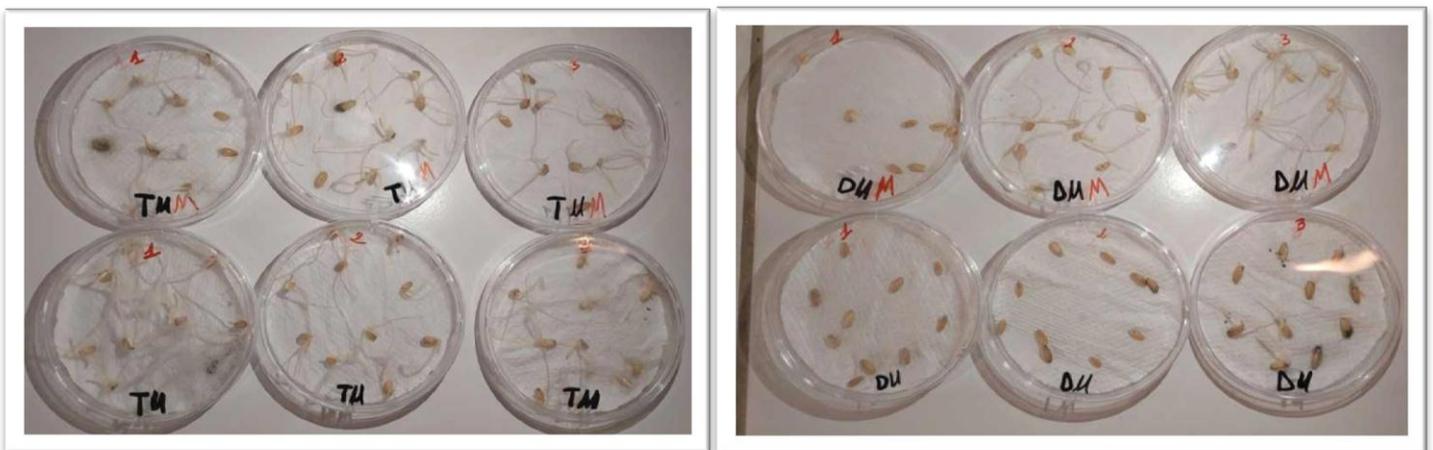
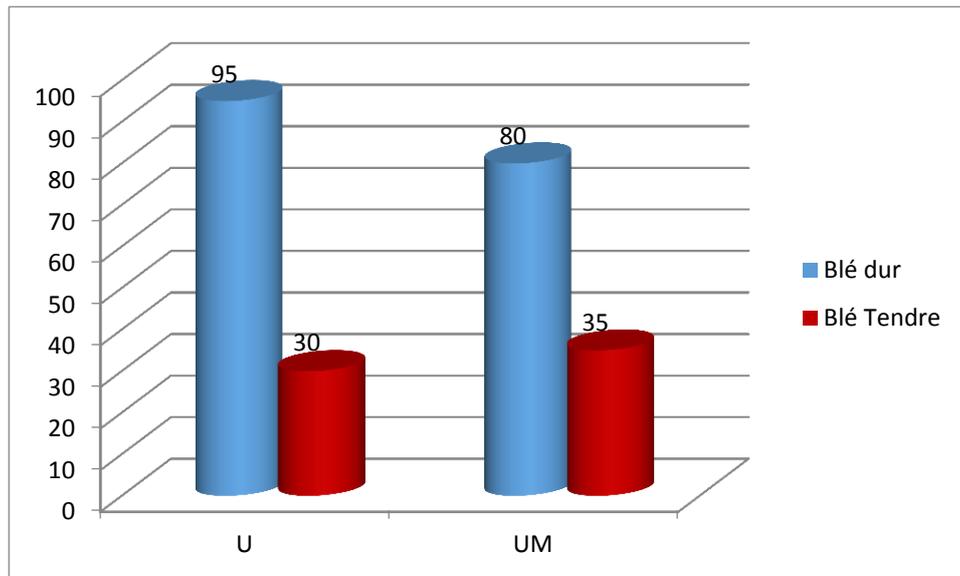


Photo 21 : la germination du BD et BT selon les deux méthodes

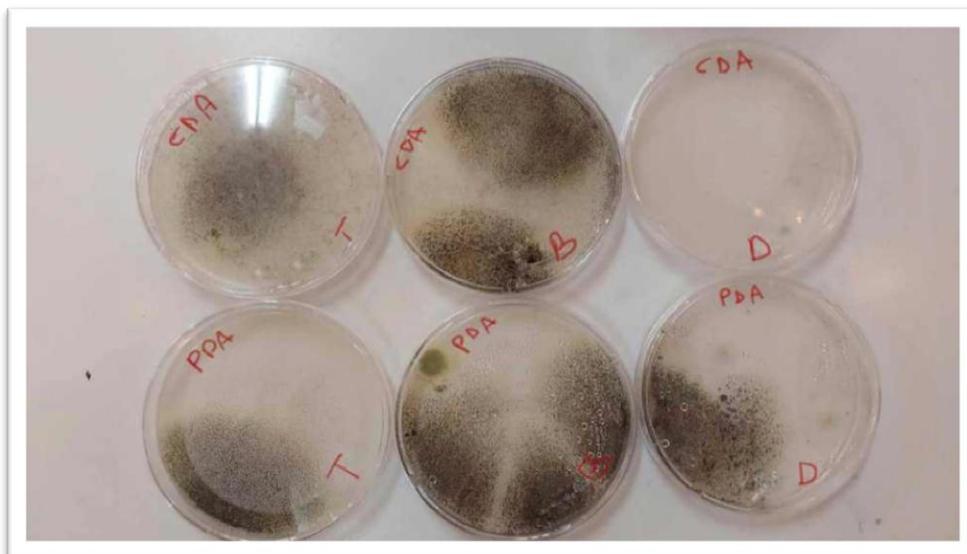


**Figure N 19** : Histogramme de germination des différents types de blé

#### a- Isolement et dénombrement de la Flor fongique

Les illustrations suivantes indiquent la microflore totale et spécifique ainsi obtenues sur les différents milieux (PDAac, CDA) de culture de chaque échantillon par la technique des suspension-dilutions et l'identification par la micro culture en se référant au manuel de **Barnet (1972)**.

L'exploitation des résultats obtenus par cette méthode permet l'appréciation moyenne du degré de pollution (Taux de contamination). Les résultats de la flore totale sont présentés dans le tableau 12.



**Photo 22** : la fongiques dans les trois échantillons (BT , BD , Biofilm)

**Tableau 12.** Les résultats de la flore fongique totale dans les trois échantillons

Milieu culture	Type de blé	Les déluitions					
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
PDA	BDL	20%	15%	10%	5%	1%	0%
	BTL	30%	20%	20%	15%	10%	10%
	biofilm	60%	60%	40%	30%	25%	10%
CDA	BDL	15%	12%	9%	4%	2%	0%
	BTL	28%	25%	16%	13%	10%	6%
	biofilm	50%	37%	30%	29%	19%	6%

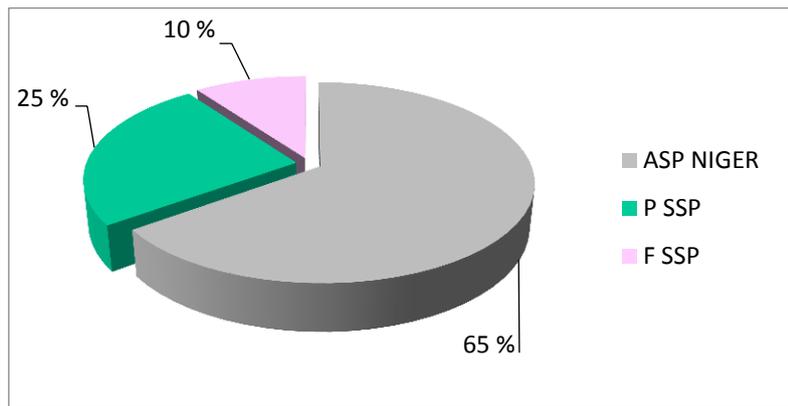
D'après les analyse mycologique effectuée sur les deux milieux de culture PDA,CDA on à constater que les moisissures préfèrent le milieu organique (PDA) qui été l'égerment charger que le (CDA). on signalions que les échantillons de biofilm été l'égerment plus charge avec un taux de contamination élevée par apport le BDL et BTL .

Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la microflore (Le Bars et al., 1987 ; Wilson et al., 2002), rapportent que la contamination fongique des céréales au champ ou pendant le stockage est directement liée aux conditions hygrothermiques.

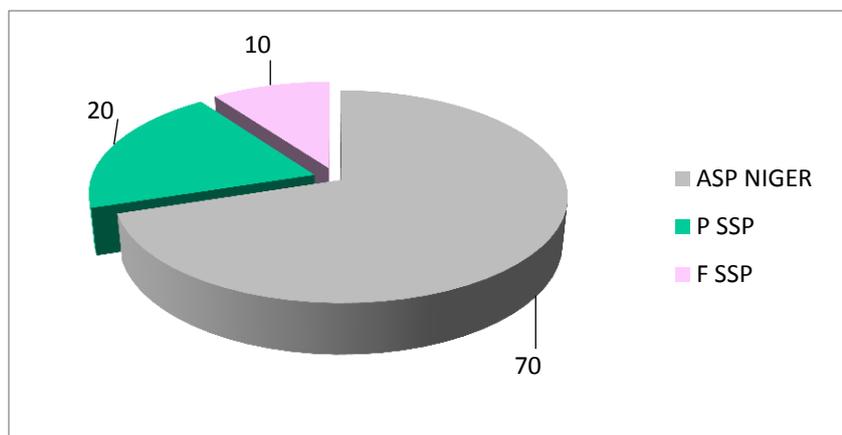
Plusieurs chercheurs ont trouvé que le blé est contaminé par plusieurs souche fongique. Les résultats de (Zebiri et al., 2020) montrent un taux de contamination moyen de 60% à 100%.. Ces résultats peuvent être dus aux conditions climatiques (des températures et une humidité élevées), aux mauvaises conditions du stockage ainsi que l'absence de bonnes pratiques agricoles.

La dominance des *Aspergillus* sur la majorité des échantillons. Notant l'intervention prépondérante d'*Aspergillus Niger* à ce potentiel et en deuxième position les *penicilliums* sur les deux types de blé mais avec une légère augmentation sur le biofilm. **La Figure 20** permet de recenser certaines espèces appartenant aux flores de champ et intermédiaire des blés.

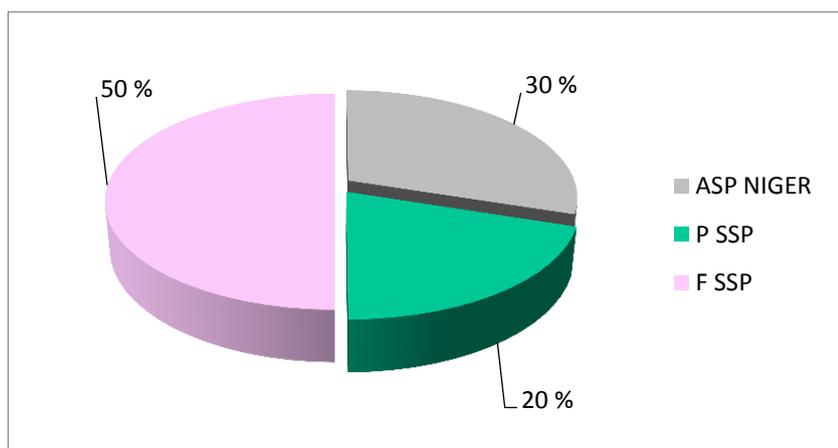
La variation des milieux vis-à-vis du taux de contamination n'a pas affectée la révélation presque la même flore contaminant avec la dominance des *Aspergillus* et des *Penicillium*.



(a) BTL

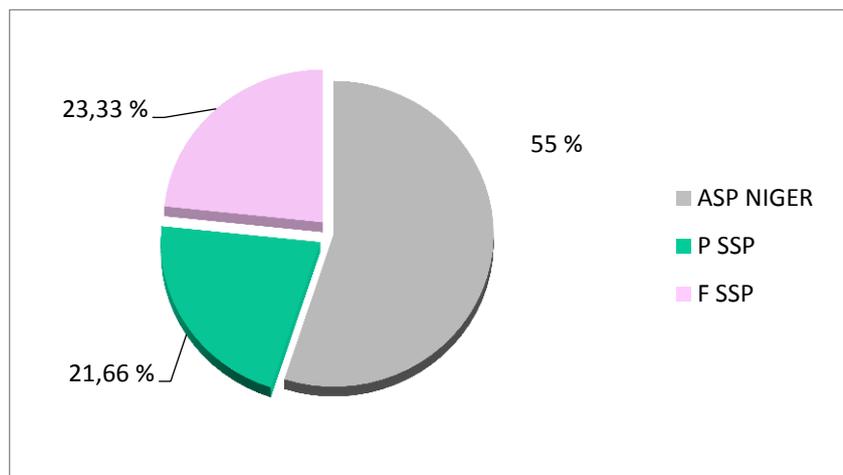


(b) BDL



(c) Biofilm

**Figure 20** : Pourcentage de moisissures présentes dans chaque échantillon



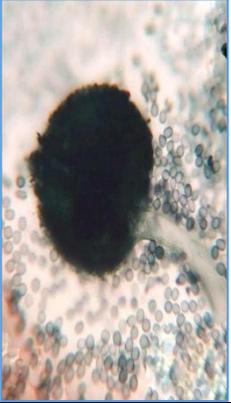
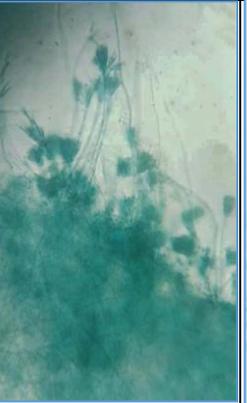
**Figure N°21** : Pourcentage globale des moisissures.

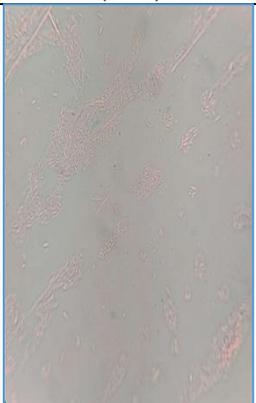
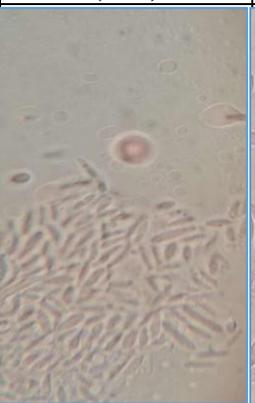
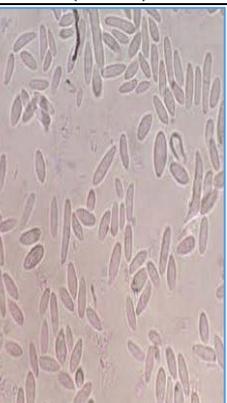
#### **a- purification et identification**

Les grains de céréales forment un excellent substrat pour les moisissures (**Mills, 1990**). Les résultats d'analyse mycologique montre une forte présence d'un nombre important et diversifiée des espèces fongiques dans tous nos échantillons (BT , BD ).

Identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (**Cahagnier, 1998**), En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques de chaque souche fongique sur le milieu de culture.

**Tableau n°13** : Aspects macro-microscopique et les caractéristiques des souches

	Aspects macroscopiques		Aspects microscopiques		
	Recto	Verso	(x10)	(x40)	(x100)
<i>Aspergillus</i> SSP					
Caractères	<p><b>Croissance rapide (3 à 5 jours)</b>  <b>Milieu</b> : PDA  <b>Aspect des colonies</b> : duveteux puis granuleux  <b>Couleur</b> : - <b>Recto</b> : noir                      - <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle</p>		<p><b>Filaments mycéliens</b> : larges, septes, réguliers  <b>Têtes aspergillaires radiées bisériées</b>  <b>Conidiospores</b> : Très longs, Incolores ,Parfois bruns dans leur partie supérieure  <b>Grosses vésicules globuleuses</b>  <b>Conidies</b> : Grosses , Globuleuses, Echaulées , <b>Couleur</b> : brun noir</p>		
<i>Penicillium</i> SSP					
Caractères	<p><b>Croissance rapide Milieu</b> : PDA  <b>Aspect des colonies</b> : duveteux à poudreux  <b>Couleur</b> : - <b>Recto</b> : verte                      - <b>Verso</b> : jaune</p>		<p><b>Structure en forme de pinceau</b>  <b>Filaments mycéliens</b> : fins, septes, à bords parallèle  <b>Conidiospores</b> : Fins Simples ou ramifiés  <b>Conidies</b> : Unicellulaires  <b>Forme</b> : globuleuse ou ovale  <b>Disposition</b> : en chaines basipètes</p>		

	Aspects macroscopiques		Aspects microscopiques		
	Recto	Verso	(x10)	(x40)	(x100)
<i>Aspergillus SSP</i>					
Caractères	<p><b>Croissance rapide</b>  <b>Milieu</b> : PDA  <b>Aspect des colonies</b> : duveteux à floconneux  <b>Couleur</b> : - <b>Recto</b> : blanc, rose à violet  - <b>Verso</b> : violet au verso</p>		<p><b>Filaments mycéliens</b> : fins, septés, hyalins  Conidies agglomérées en balles au sommet des phialides (forme d'amphore)  Chlamydospores  <b>Disposition</b> : isolées ou en courtes chaînettes  <b>Position</b> : terminale ou intercalaire  <b>Paroi</b> : lisse ou verruqueuse</p>		

Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur les deux milieux PDA (annexe), les plus communément utilisés à cet effet (**Botton, 1990**). Le (**Tableau 13**) résume l'aspect, la couleur, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des 03 souches fongiques (Conidiospores, conidies et mycélium), (**tableau 13**).

#### c- **Identification des espèces fongiques par la méthode de « Single spore »**

Par le biais de cette méthode et en se référant aux clefs d'identification de PITT (1973) pour les *Aspergillus* et RAMIREZ (1982) pour les *Penicillium*. Les principaux caractères des différentes souches identifiées sont également résumés dans (**le tableau 14**)

**Tableau N°14** Identification des espèces de *Aspergillus* et *Penicillium* par la méthode de « Single spore »

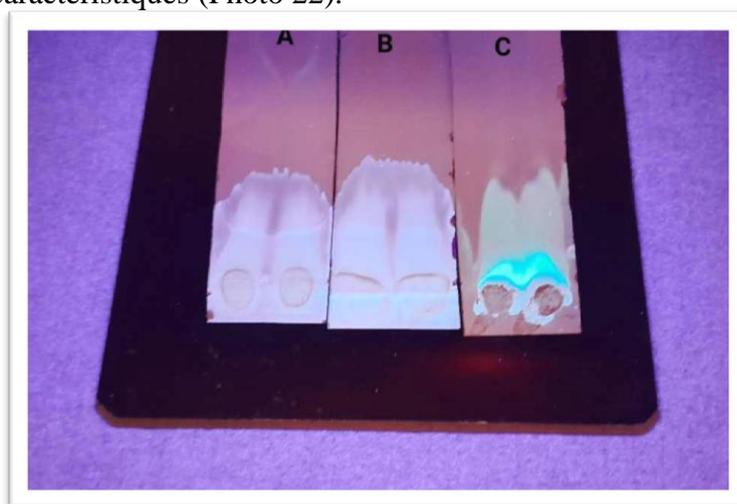
Genres espèces	Milieu	Lecture
		Couleur
<i>Aspergillus Niger</i>	MEA 25°C	Noir
	CYA 5°C	-
	CYA 37°C	Gris a noir
	G25N 25°C	-
<i>Penicillium griseo-fulvum</i>	MEA 25°C	Vert + contour blanc
	CYA 25°C	Blanc verdâtre
	CDA 25°C	Vert fonc
	G25N 25°C	Blanc

L'identification de ces genres étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (**Botton et al, 1990 ; Guiraud, 1998**), en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification, etc.).

### II. 3 Résultats des analyses mycotoxiques

Après migration et évaporation du produit d'élution à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, la plaque est examinée sous UV à 365 nm.

La chromatographie sur couche mince constitue la méthode de base qui permet une séparation efficace des mycotoxines d'*Aspergillus* et de *Penicillium* et de *fusarium* et leur identification avec une bonne précision. La présence des mycotoxines se traduit par des fluorescences caractéristiques (Photo 22).



**Photo n° 23:** détection des souches productrices de mycotoxine sous UV (A *Fusarium*, B *Aspergillus Niger*, C *Pénicillium*).

Dans cette étude mycotoxicologiques on trouve les trois souches (*aspergillus Niger*, *penicillium griseo-fulvum*, et *fusarium ssp*) ces des souches reproductrices qui produisent les toxines :

-*Aspergillus Niger* : est produit plusieurs métabolites. Parmi ces métabolites, figurent certains mycotoxines puissantes : l'Austin, la fumonisine B2, la gliotoxine, les malformées, l'ochratoxine A.

- *penicillium griseo-fulvum* : est une espèce de champignons microscopiques du genre *Penicillium*. C'est une moisissure largement répandue dans le sol et les matières en décomposition, cette espèce peut produire une mycotoxine dangereuse : la patuline.

- *fusarium ssp* : le principales mycotoxine surveillées dans les céréales est la Zéaralénone (ZEA) .

# **Conclusion générale**

---

## Conclusion Générale

les céréales, comme le blé sont des aliments de base pour de nombreuses cultures à travers le monde. Cependant, leur sensibilité aux attaques fongiques en fait des cibles privilégiées pour les mycotoxines, qui sont des substances toxiques produites par certains champignons. Cela nécessite des mesures strictes de contrôle de la qualité et de sécurité alimentaire pour prévenir les risques pour la santé humaine

les échantillons de blé tendre et dure (locale ) et le biofilm, faisant l'objet de notre étude est confrontée au problème épineux de mycotoxines

En effet, cette étude nous a donné un aperçu sur le marché de ses produits dans la ville de Saida.

Dans ce travail, l'expression quantitative moyenne des paramètres physico-chimique et le taux de contamination de la flore fongique, nous a mis en évidence dans un premier temps que le BTL est le produit le plus chargé suivi par le BDL, et que les dérivés de meuneries hérite eux même de la flore fongique des grains a partir desquelles sont issues Suivant la technologie alimentaire et les procédés de préparation culinaire, on peut aboutir à l'élimination de la mycotoxine, à sa conversion, à sa dilution ou au contraire à sa concentration (**Schollenberger et al., 2002**).

Le parcours sommaire des résultats d'analyse mycologique montre la dominance des moisissures filamenteuses telles que les *Aspergillus* et les *penicilliums* et *Fusarium*. Ces genres de moisissures adaptés aux substrats relativement secs sont responsables de la plupart des accidents de conservation d'origine microbiologique pour les céréales et ses dérivés.

Le groupe des *Aspergillus Niger* a été présent sur la majorité des échantillons, mais avec une fréquence d'apparition élevée.

En outre, on a pu détecter la présence des Mycotoxine . Révélée par la méthode CCM Par conséquent la décontamination des denrées alimentaires tout en les préservant pour la consommation. Vous mentionnez que les procédés de décontamination doivent être efficaces, simples et peu coûteux, surtout étant donné qu'ils peuvent être nécessaires pour des quantités importantes de nourriture. Vous soulignez également que la contamination par les mycotoxines est souvent hétérogène, ce qui rend l'application de méthodes universelles difficiles. Les méthodes traditionnelles de conservation comme la stérilisation, la pasteurisation, la lyophilisation et la congélation ne détruisent pas efficacement les mycotoxines, et même la combinaison de plusieurs méthodes n'assure pas une décontamination totale. Ainsi, la meilleure approche reste la prévention et le contrôle dès la

sélection des ingrédients alimentaires, ainsi qu'une gestion appropriée des stocks pour minimiser le risque de prolifération des mycotoxines

En général, la société gère la sécurité alimentaire en répartissant les responsabilités entre plusieurs acteurs : l'État, l'industrie privée et les consommateurs. Les consommateurs jouent un double rôle crucial : d'une part, ils représentent le dernier maillon de la chaîne alimentaire, et d'autre part, ils sont de plus en plus impliqués en tant que défenseurs et gardiens de la réglementation. Le premier rôle est bien établi depuis longtemps, tandis que le second rôle est plus récent et reflète une tendance croissante à l'engagement citoyen dans les enjeux de santé publique et environnementaux.

En outre, on a pu détecter la présence des Mycotoxine . révélée par la méthode CCM

# Référence Bibliographique

## Références bibliographiques



- ✎ Asmaa, B. R., Yasmine, A. B. D. E. L. L. A. O. U. I., & Youcef, D. A. H. M. A. N. I. (2021). L'ANALYSE DES POLITIQUES DES PRIX ET REGULATION DU MARCHE DE BLE TENDRE EN ALGERIE: ENTRE PRODUCTION NATIONALE ET IMPORTATION, CAS DE CCLS DE TISSEMSILT (Doctoral dissertation, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie).
- ✎ Adams M. R., & Moss, M. O. (2002). Toxingenic fungi. In, *Food microbiology*, RSC, UK, 282-301 P.
- ✎ Adams Martin R and Moss Maurice O.(2008). *Food microbiology*. RSC Publishing. The Royale Society of Chemistry. Third Edition; p: 463.
- ✎ additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ Québec.
- ✎ Afnor S (1986).Céréales et produit céréaliers. Recueil de normes françaises, 2emeEd,Lavoisier TEC et DOC, Paris, p: 250-263
- ✎ AFSSA, (2006), "Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique"
- ✎ Aidani H . (2015) . effet des attaques de capucin des grains (*rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées « estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif cas de blé dur dans la région de tlemcen ».mémoire de master en agronomie université abou bekr belkaid-tlemcen : 15p.
- ✎ Ake, M., Eba, B., Malan, A. K., & Atindehou, E. (2001). Détermination de la Patuline dans le jus de fruits commercialisés en Côte d'Ivoire. *Sci. Aliment*, 21, 199-206 P
- ✎ Alban, G. (2016).Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé.these : Sciences Pharmaceutiques. Université Bordeaux, France, 159 P.
- ✎ Alexopoulos C.J., Mims C.W et Blackwell M. (1996). *Fungal systematics*. In 'Introductory Mycology'. John Wiley & Sons, Inc. New York. Pp. 61-85.
- ✎ Andersen B., Kroger E and Roberts R.G. (2002). Chemical and morphological segregation of *Alternaria Arborescens*, *Alternaria Infectoria* and species-groups. *Mycol Res*, p: 170-180. *Alternaria Tenuissima*
- ✎ Aya A., N N'Drii, iriévroh-BI 2, Patrice L. Kouaél &Irié A.Zoro Bi 1, 2011. Bases

**-B-**

- ✂ Bankole S.A. (1997). Effect of essential oils from two Nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Morinda lucida*) on growth and aflatoxin B1 production in maize grain by a toxigenic *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology*. p: 190–192.
- ✂ Bennett, J. W., Klich M. (2003). Mycotoxins, *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3) :497 – 516 P.
- ✂ Boiron, P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. P. 19-79.
- ✂ Botton, B., Buton A., Fèvre M., (1990). Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. Paris : Masson 2ème édition. 442 P.
- ✂ Bouchet, P., Guignard J-L, Pouchus Y-V. Les champignons, mycologie fondamentale et appliquée. (2005). Paris : Masson 2ème édition ,109-111 P.
- ✂ Boudreau A and Ménard G. (1992). Le blé : Eléments fondamentaux et transformation. Presses de l'Université Laval .Paris. p: 439 .
- ✂ Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. (1989). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P : 216-244.

**-C-**

- ✂ Camille, D. (2014). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier, 654 P.
- ✂ Carlile M. J., et Watkinson S.C. (1996). The fungi as a major group of organisms. In "The fungi". Academic Press. London. pp : 1-7
- ✂ Caruso, D., Talamond, P., & Moreau, Y. (2013). Mycotoxins and fish farming : A risk left behind? *Cahiers Agricultures*, 22(3), 165–173. <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0627>
- ✂ Cassier, P, Brugerolles, G ; Combes, C. (1998). Le parasitisme : un équilibre dynamique Enseignement des sciences de la vie. Edition Masson, 366P.
- ✂ Chabasse D, Bouchra J-P, De Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P. 2002. Les Moisissures d'Intérêt Médical. Cahier de formation N° 25, Bioforma : Paris ; 160.
- ✂ Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T., and Villard J. (2005). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses), *Revue Française des Laboratoires*, 373 P.
- ✂ Chermette , R., Bussieras, J. (1993). Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le

Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons – Alfort,.

- ✎ Christensen Clyde M and Kaufmann Henry H. (1969). Grain storage. The role of fungi in quality loss. Minnesota archive Editions; p: 153
- ✎ Combes, C. (2001). Les associations du vivant : L'art d'être un parasite ouvellebibliothèque scientifique, Edition Flammarion, 348 P.

**-D-**

- ✎ Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P : 52-57.
- ✎ Deàk Tibor. (2008). Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press. Second Edition. p: 325.
- ✎ 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. Thèse de doctorat Présentée à l'Université Blaise Pascal pour l'obtention du grade de docteur d'université, Clermont Ferrand France : p1-132.
- ✎ Decocq, G (2011). Le monde fongique. L'homme et son environnement UE 7.«Santé, Société, Humanité».1-20 P.
- ✎ Dendy D.A.V and Dobraszczyk. (2000). Cereals and Cereal Products: Technol.Chemistry.Springer; p: 370.
- ✎ Dieme, E., Fall, R., Sarr, I., Sarr, F., Traore, D., & Seydi, M. (2017). Contamination des céréales par l'aflatoxine en Afrique : Revue des méthodes de lutte existantes. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10(5), 2285. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i5.27>
- ✎ Dijksterhuis J and Samson Robert A. (2007). Food mycology. A multifaceted Approach to fungi and food. CRC Press; p: 403.
- ✎ Dix N.J. et Webster J. (1995a). Structure of Fungal Communities. In 'Fungal Ecology'. Chapman & Hall. London, pp: 39-84.
- ✎ Djennde et Attalaoui ., 2019.Effets de la salinité sur la germination des graines de *Peganum harmala*. Univ Msila. 60P
- ✎ DOUMAINDJI A., DOUMAINDJI S., DOUMAINDJI B., 2003. Cours de technologie des céréales. Ed. Office des publications Universitaires Ben-Aknoun-Alger ; pp 01-20 pp. 01-22.

- ✎ DRUVEFORS, U.Ä., 2004. Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. Agraria 44-466.
- ✎ Ducret C. (2000). Une nouvelle classe de mycotoxine : les Fumonisines. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté de pharmacie de Grenoble ,54-68 P.

**-E-**

- ✎ Eckwall E.C and Schottel J.L. (1998). Isolation and characterization of an antibiotic produced by the scab disease-suppressive *Streptomyces diastatochromogenes* strain Pon SSII. *J Ind Microbiol Biotechnol.* p:5-22.
- ✎ El Khoury, A., Atoui, A., Rizk, T., Lteif, R., Kallassy, M., Lebrihi, A.(2011). Differentiation between *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* from Pure Culture and Aflatoxin- Contaminated Grapes Using PCR-RFLP Analysis of aflR-aflJ Intergenic Spacer. *Journal of Food Science* ,76 (4), 247-253 P.

**-F-**

- ✎ FAO, 2003. Réglementations relatives aux mycotoxines dans les produits d'alimentation humaine et animale, à l'échelle mondiale en 2003. Etude FAO alimentation et nutrition N° 81. 183 p.
- ✎ Fao. (2007). Statistical database of the food and agriculture organization of the United Nations. <http://www.fao.org>. (Consulté le 11/01/2010).
- ✎ Feillet P. (2000). Le grain de blé : Composition et utilisation. Edition Quae. INRA. Paris; p: 308 .
- ✎ Flamini G and Luigi Cioni P.(2003). Activity of Plant Extracts, Essential Oils, and Pure Compounds Against Fungi Contaminating Food stuffs and Causing Infections in Human Beings and Animals: A Six-Year Experience (1995-2000). Food products prss :Crop Science ;New york. p :279-297

**-G-**

- ✎ Gacem M.A. (2011.) Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus*
- ✎ Gams W, Christensen M, Onions A.H.S, et al. Infrageneric taxo of *Aspergillus*, in : Samson
- ✎ Génétique et biochimiques de la capacité germinative des graines : implications pour les Systèmes semenciers et la production alimentaire.P120.

- ✎ GHANMI, W., ALBARKA, I., & KADRI, Y. (2022). Etude et état des lieux des systèmes de culture de la culture du Blé dans le sud Algérien (Doctoral dissertation, UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR).
- ✎ Godon B and Loisel W. (1997). Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales Edition Technique et Documentation Lavoisier., Paris. p: 819

### -H-

- ✎ Hacini, N. (2014) Etude de l'interaction Génotype X Environnement et effet de l'origine de quelques cultivars de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sur les aptitudes adaptatives et qualitatives, Université de Annaba - Badji Mokhtar.
- ✎ Halls N. A., Ayres J. C.(1973). Potential production of sterigmatocystin on country-cured Ham.*Applied Microbiology*. 26(4), 636-637 P.
- ✎ -Heit S., (2015) Identification des *fusarium* et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse de l'université de Lorraine Faculté de Pharmacie. P :23, 24, 25, 26, 27, 29, 33, 34, 38, 39, 41.

### -J-

- ✎ Jacquemin, L., Pontalier, P. Y., & Sablayrolles, C. (2012). Life cycle assessment (LCA) applied to the process industry: a review. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 17, 1028-1041
- ✎ Jard G., (2009) Etude de différents modes d'élimination biologique de la zéaralénone, mycotoxine présente dans les céréales: Adsorption et Biotransformation. Thèse du doctorat de l'université de Toulouse l'Institut National Polytechnique de Toulouse. P : 9
- ✎ Joanna, T.(2015). Patuline, Mycotoxine de *penicillium expansum*, principal pathogene post- recolte des pommes : Nouvelles Donnees Sur Sa Biosynthese Et Developpement D'approches Preventives. Thèse : Pathologie, Toxicologie, Génétique Et Nutrition. Université De Toulouse, 187 P.
- ✎ Jonathan Nimal Sj., Zhou L., Wang Y., Zhao Y., Xing F., Dai X., Liu Y (2015).Détection des mycotoxines - Tendances récentes au niveau mondial. *Journal de l'agriculture intégrative*, 14 (11) ? 2265-2281 P.
- ✎ Jouany J. P and Yiannikouris A. (2002). Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. *INRA Productions Animales*. p: 3-16.

**-K-**

- ✎ Kachour L. (2005). Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité, Mémoire de magister en microbiologie de l'environnement .université baji mokhtar Annaba, 90 P.
- ✎ Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD. (2011). Aflatoxine : Une odyssee de 50 ans de toxicologie mécaniste et translationnelle. Sciences toxicologiques, 120, S28– S48 P.
- ✎ Kiffer & Morelet, 1997 ; Perry et al., 2004 (les deutéromycètes ,institu nationl)
- ✎ -Krska, R., Pettersson, H., Josephs, R., Lemmens, M., Mac Donald, S., and Welzig, E., Zearalenone in maize: stability testing and matrix characterisation of a certified reference material. Food additives and contaminants,20 (2003) 1141-1152.

**-L-**

- ✎ Lamaison, J. L., & Polese, J. M. (2005). Encyclopédie visuelle des champignons. Editions Artemis , 344 P.
- ✎ Le Bars J., Le Bars P., (1987) Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section *MidiPyrénées*" à Toulouse
- ✎ Leclerc F.C., Papon N., Noel T., Villard J., (2005) Moisissures et risques alimentaires (Mycotoxicooses). Revue Francophone des Laboratoires. p : 61-66.
- ✎ Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006). The Fusarium Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- ✎ Leyral G., Vierling E. (2003). Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires .Lavoisier Tec et Doc, France. p:154-158.

**-M-**

- ✎ Magan N and Olsen M. (2004)-Mycotoxines in food: Detection and control. *F.Sc.Technol*.p:190-203.
- ✎ Magan N., Hope C.V. and Aldred D. (2003). Post – harvest fungal ecology : Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. Euro. J. Plant. Pathol 109, p:723-730.
- ✎ Magan N., Lacey J. (1988). Ecological determination of mould growth in stored grain. International Journal of Food Microbiology Elsevier. p: 245- 256.

- ✂ Mathew S ., Thomas G and Tufail A. (2011). An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal.J.Biotechnol., Microbiol.* p 131–138.
- ✂ Matouk, S. (2019). Les procédés de conservations des céréales (le blé) et les moyens de stockages au niveau de la coopérative des céréales et des légumes secs (CCLS) de Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- ✂ Messiaen, C.M, Cassini R. (1968.). Recherche sur les Fusarioses. IV La systématique des Fusarium. *Ann. Epiphyties* ,19. 387-454.
- ✂ Meyer S ; Reeb C et Bosdeveix R. (2004). Botanique, biologie et physiologie végétale .Ed. Moline, Paris, 461p
- ✂ MOLINIÉ, A., FAUCET, V., CASTEGNARO, M. & PFOHL-LESZKOWICZ, A.,
- ✂ Moreau C. (1994). Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 322 P.
- ✂ Moularat S, Robine E. (2006) Mesure des mycotoxines aéroportées. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*. 46(3):180-3.
- ✂ Moule C (1971) Caractères généraux des céréales. la maison rustique Paris : 10p
- ✂ Multon J.L. (1982). Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique et Documentation ,Paris Apria.p : 576
- ✂ Multon J.L. (1982). Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique et Documentation ,Paris Apria.p: 576

-N-

- ✂ Nasraoui B. (2006)- Les champignons parasites des plantes cultivées. Biologie, Systématique, pathologie, maladie. Centre de publication universaire. Tunisie, 78 P .
- ✂ -Neergaard P. (1977). Seed pathol (11). MacMillan; p:1187.
- ✂ Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T and Killington R.(2000). L'essentiel en microbiologie.Edition Berti. p :210-217
- ✂ Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T and Killington R.(2000). L'essentiel en microbiologie.Edition Berti. p :210-217.
- ✂ Norholt M.D, Van Egmond H.P, Paulsch W.E.(1979). Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food*

*Protection*, 485 – 490 P.

-O-

- ✎ O'Brien, H. E., Parrent, J. L., Jackson, J. A., Moncalvo, J.M. et R. Vilgalys (2005). "Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples." *Applied and Environmental Microbiology* 71(9), p. 5544-5550.
- ✎ Oei, P ; avec la contribution de Nieuwenhijzen, B.N. (2005). *La culture des champignons à petite échelle*, Edition Janna de feijter, P-8,9 ? 82 P.
- ✎ OMS. (1980). *Mycotoxines. Critères d'hygiène de l'environnement* 11. publications. De l'OMS. Genève, 142 P.
- ✎ Ortega-Beltran A, et al. (2019) *Atoxigenic Aspergillus flavus* Isolates Endemic to Almond, Fig, and *Pistachio Orchards* in California with Potential to Reduce Aflatoxin Contamination in these Crops. *Plant disease.*: Pdis08181333re.

-P-

- ✎ Pamel E.V., Vlaemynek G., Heyndrickx M., Herman L., Verbeken A and Daeseleire E.(2010). *Mycotoxin production by pure fungal isolates analysed by means of an hplc-ms/ms multimycotoxin method with possible pitfalls and solutions for patulin-producing isolates. Mycotox. Res.* p: 1 11.
- ✎ -Pfohl-Leszkowicz A., (2001), *Définition et origines des mycotoxies in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*, Ed. Tec & Doc, 3-1
- ✎ Pitt J.I, Hocking A.D. (1987). *Fungi and Food spoilage*, 2nd edition. London : Blackie Academic and Professional.
- ✎ Pitt J.I. (2000). *Toxigenic fungi and mycotoxins. Br. Med. Bull*, 56 (1), 184-192P.R.A. Pitt J.I(1986). *Advances of Penicillium and Aspergillus systematics.* London&New- York, Plenum Publi.

-R-

- ✎ Raper K.B, Fennel D.I. (1965). *The genus Aspergillus.* New-York, USA, William er Wilkinson, 209 P.
- ✎ -RASTOIN, J-L et BENABDERRAZIK, H. (2014). *Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb : pour un co-développement de filières territorialisées.* Region Centrale Du Vietnam

- ✎ RICHARD, J.L., 1998. Mycotoxins, Toxicity and Metabolism in Animals. A system Approach Overview. *Mycotoxins and Phycotoxins-Developpements in Chemistry, Toxicology and Food Safety*, 363- 397
- ✎ Rkiba, Z. (2020). Les mycotoxines alimentaires .Thèse : Sciences pharma-ceutiques : Université de Mohamed DE Rabat .Maroc . 120 P.
- ✎ Roberts T.A. (2005). *Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities*.Second Edition. Springer; p: 776
- ✎ Rosa, C.D.R., Palacios, V., Combina, M., Fraga, M., Rekson, A.D.O., Magnoli, C., and Dalcerro, A., Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil. *Food Additives & Contaminants*,19 (2002) 408-414.
- ✎ Ruppol P., Delfosse Ph and Hornick, J.L., (2004) La contamination de la filière laitière par les mycotoxines : un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. *Ann. Méd. Vét.* p: 141-146.

-S-

- ✎ Sauer D.B., Storey C.L., Ecker O and Fulk D.W. (1982). Fungi in U.S. Export wheat and corn. *Postharvest Pathology and Mycotoxins*. p: 11,1449.
- ✎ Senn-Irlet, B., Egli, S., Boujon, C., Kùchler, H., Kùffer, N., Neukom, H. P., & Roth, J. J. (2012). Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12 P.

-T-

- ✎ Tannous J., (2015 ) Patuline, mycotoxine de *penicillium expansum*, principal pathogène post-récolte des pommes : nouvelles données sur sa biosynthèse et développement d'approche préventive. Thèse du doctorat de l'université de Toulouse (INP de Toulouse). P: 9, 11
- ✎ Tatsadjieu N.L., Jazet Dongmo P.M., Ngassoum M.B., Etoa F-X and Mbofung C.(2009) . Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus*. *Food Control*. p:161–166.

-U-

- ✎ Uchikoba, T., Mase, T., Arima, K., Yonezawa, H. et Kaneda, M. (2001). Isolation and characterization of a trypsin-like protease from *Trichoderma viride*. *Biol. Chem.* 382, p. 1509-1513.

## -V-

- ✎ Van der Burgt, G.J.H.M and Timmermans B.G.H. (2009). Fusarium in wheat. Effects of soil fertility strategies and nitrogen levels on mycotoxins and seedling blight. LBL Publication.

## -W-

- ✎ Wagacha JM, Mutegi CK, Christie ME, Karanja LW, Kimani J. (2013). Changes in Fungal Population and Aflatoxin Levels and Assessment of Major Aflatoxin Types in Stored Peanuts (*Arachishypogaea* Linnaeus). *Journal of Food Research*, 2(5), 10-23P.
- ✎ -Webley, D.J; Jackson, K. L; Mullins, J.D; Hocking, A.D; Pitt, J.I. (1997). *Alternaria* toxins in weather-damaged wheat and sorghum in the 1995-1996 Australian Harvest. *Austr.J. Agri.Res.* p:1249-1256.
- ✎ WITHLOW L.W. and HAGLER, W. M. (2001). Mycotoxin contamination of feedstuffs-An additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec. 2005. Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *Food chemistry* 92, 391-400

## -X-

- ✎ Xing FG, Hua HJ, Selvaraj JN, Zhao Y, Zhou L, Liu X, Liu Y. (2014). Inhibition de la croissance et altérations morphologiques de *Fusarium verticillioides* par l'huile de cannelle et le cinnamaldéhyde. *Contrôle alimentaire*, 46, 343-350 P.

## -Z-

- ✎ Zillinsky F.J. (1983). Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. Cimmyt. p:141.
- ✎ Zinedine, A., Juan, C., Idrissi, L., and Mañes, J., (2007) Occurrence of ochratoxin A in bread consumed in Morocco. *Microchemical journal*, 87 154-158.
- ✎ [https://uel.unisciel.fr/biologie/module1/module1\\_ch01/co/apprendre\\_ch1\\_17.html#:~:text=Le%20thalle%20de%20la%20tr%C3%A8s,alors%20des%20siphons%20ou%20coenocytes](https://uel.unisciel.fr/biologie/module1/module1_ch01/co/apprendre_ch1_17.html#:~:text=Le%20thalle%20de%20la%20tr%C3%A8s,alors%20des%20siphons%20ou%20coenocytes) uel.unisciel.fr

# **Annexe**

## ANEX 1

**Composition des milieux de culture****Milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar) :**

Pomme de terre .....	200 g
Agar .....	15 g
Glucose .....	20 g
Eau distillée .....	1000 ml

**Milieu Czapek Dox + Extrait de levure(CYA)**

Sucrose.....	30 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1 g
KCL .....	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> .....	0.5 g
FeSO <sub>4</sub> .....	0.01 g
NaNO <sub>3</sub> .....	3 g
Extrait de levure .....	2,5 g
Eau distillée .....	1000 ml

**Extract de Malt Agar (MEA)**

Extrait de Malt.....	20 g
Glucose.....	20 g
Peptone.....	20g
Eau distillée .....	1000 ml
PH final .....	5,6 ± 0,2

**Milieu 25ar% Glycerol Nitrat Agar (G25N)**

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0.75g
CZAPEK Concenté .....	7.5ml
Glycérol pour analyse .....	250g
Extrait de levure.....	3.5g
Agar .....	12g
Eau distillé .....	750m

**Milieu Czapek Dox Agar (CDA)**

Poid de chich.....	200g
Agar .....	15 g
Glucose .....	20 g
Eau distillée .....	1000 ml
Succrose.....	30g