

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



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

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité: "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par

- FATMI Ahlem

-NEHARI Rahmouna

-BEDARNIA Zohra

Thème

Influence des paramètres physicochimique sur des espèces de moisissures productrices de mycotoxines dans les céréales commercialisés dans la région de Tiaret

JURY:

- Président : Dr. BOUBAKEUR B. Grade « MCB »
- Promoteur : Dr. YEZLI W. Grade « MCB »
- Co-promoteur: Dr. BENSALD M. O. Grade « MCA »
- Examineur : Mme. KHADEM H. Grade « MAA »

Année universitaire: 2017 -2018

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions DIEU tout puissant qui nous a donné le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à nos honorables encadreur Dr. YEZLI WASSIM pour ses orientations, son aide, sa rigueur scientifique et pour la confiance nous a accordé tout au long de cette étude.

Nos remerciements s'adressent également Co-encadreur Dr. BENSAID, pour l'aide de notre travail

Nos remerciements s'adressent également à Dr. BOUBAKEUR pour le grand honneur de présider le jury.

À Mme KHADEM pour avoir bien accepté d'examiner ce travail.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A la mémoire de tous mes proches disparus, que leurs âmes reposent en paix.

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout l'amour.

*A mes sœurs : **SARA, MARWA, RITEG** .*

*A mes frères **KADA** et **MOSTAFA** ainsi mes petits enfants qui sont la lumière de ma vie : **Jomana** et **Khadra**.*

*A ma soeur : **Mokhtaria** et leur mari: **Omar**.*

*A ma grande mère et mon cousin **ATTALLAH**.*

A mes amies : Youssra , Hanane, Amira, Amra, Fatima, Kika, Fatiha, Khadija Et Salima sans oublié mon binôme Ahlem et Zohra.

et tous les membres de ma famille, en témoignage de mon profond attachement.

Et a toutes les personnes que j'aime.

Rahmouna

Dédicace

Je dédie cet événement marquant de ma vie à mes parents formidables.

Merci de m'avoir permis de réaliser ces longues études et celles à venir.

Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises.

Merci pour tout l'amour que vous me portez et toute la confiance que vous m'accordez.

*Aux fleurs de ma vie mes sœurs ainsi que mes très chers frères : **MOKHTARIA, MARWICHA, WISSAL ,NASRO ,AYMEN** et le petit prince **MUSTAPHA**
Vous avez toujours été là pour me soutenir et m'encourager pendant mes études.*

Merci pour votre amour, votre assistance, votre compréhension.

*A tous mes proches **MESSEOUDA** Merci pour votre amour, votre assistance, votre compréhension*

*A mes amis : **HADJER, HANAN, SALIMA, KIKA, IKRAM, SABRINA, SOUSOU, ZOUZOU, RAHMA.***

Merci de m'avoir pardonné mes absences, mes irritabilités et mes coups de déprime. Merci pour les inoubliables moments partagés dans la vie.

Ahlam

Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que
Je dédie cet événement marquant de ma vie à mes parents formidables*

Merci pour vos sacrifices sans relâche pour que vos enfants grandissent et prospèrent.

Merci de m'avoir permis de réaliser ces longues études et celles à venir!

Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises.

Merci pour tout l'amour que vous me portez et toute la confiance que

Vous m'accordez.

*A ma sœur : **ZOULIKHA** et leur mari **BELKACEM** qui m'ont encouragé beaucoup et
m'ont aidé sans oublier ses petits enfants qui sont la lumière de ma vie :*

AMINE** et **LOUDJAIN

*Aux fleurs de ma vie mes sœurs **KHAIRA ;ZERGA** et **IKRAM** ainsi que
mes très chers frères **MOHAMMED** et **KHALED**.*

Vous avez toujours été là pour me soutenir et m'encourager pendant mes études.

Merci pour votre soutien sans faille que vous m'avez toujours apporté

aussi bien dans les moments difficiles que radieux.

Merci pour votre amour, votre assistance, votre compréhension.

A tous mes familles.

*A mes amis : **NASSIRA, FATIHA, HADJRA, AICHA, ASMA , FATIMA SAMIA**
NEZRINE, HOUDA, RAHMOUNA, AHLAM.*

A toutes mes camarades de promotion.

ZOHRA

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	iii

PREMIÈRE PARTIE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES MOISSURES

INTRODUCTION

I. Généralités sur les moisissures.....	2
I.2. Moisissures des céréales.....	2
I.3. Genres fongiques responsables de la synthèse des mycotoxines.....	3
I.3.1. Genre <i>Aspergillus</i>	3
I.3.2. Genre <i>Penicillium</i>	4
I.3.3. Genre <i>Fusarium</i>	5
I.4. Effets des moisissures.....	5

CHAPITRE II : MYCOTOXINES

II.1. Découverte des mycotoxines.....	8
II.2. Origine et nature des mycotoxines.....	8
II.3. Principales mycotoxines et les denrées alimentaires.....	9
II.4. La mycotoxicogénèse.....	10
II.5. Facteurs favorisant la croissance des moisissures.....	10
II.5.2.1. Éléments nutritif.....	10
II.5.2.2. Source de carbone et d'énergie.....	10
II.5.2.3. Source d'azote.....	10
II.5.2.4. Température.....	11

II.5.2.5.pH.....	11
II.5.2.6.Activité de l'eau (Aw).....	11
II.5.2.7.L'atmosphère gazeuse.....	12
II.6. Effets des mycotoxines.....	12

DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I.1. Objectif du travail.....	15
I.2. Lieu et durée du travail.....	15
I.3. Matériel utilisé.....	15
I.3.1. Matériel végétatif.....	15
I.3.2. Milieux de culture.....	15
I.3.3. Autre matériel.....	16
I.3.3.1. Matériel et appareillage.....	16
I.4. Protocole expérimental.....	17
I.4.1 Échantillonnage.....	18
I.4.2. Isolement des souches à partir de différents grains de céréales.....	18
I.4.3. Purification des isolats.....	19
I.4.4. Identification des champignons.....	21
I.4.4.1.Identification macroscopique.....	21
I.4.4.2. Identification microscopique.....	21
I.4.5. Impact des conditions sur la croissance fongique.....	22
I.4.5.1. Influence des différentes sources de carbone.....	22
I.4.5.2. Influence des différentes sources d'azote.....	22
I.4.5.3. Influence de la température.....	22
I.4.5.4. Influence du pH.....	23
I.4.6. Analyses statistiques.....	23

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

II. Résultats.....	25
II.1. Isolement des souches à partir de différents grains de céréales.....	25
II.2. Identification des isolats.....	26
II.2.1. Identification macroscopique.....	26
II.2.2. Identification microscopique.....	26
II.3. Impact des conditions sur la croissance fongique.....	28
II.3.1. Influence de la source de carbone sur la croissance fongique.....	28
II.3.2. Influence de la source d'azote sur la croissance fongique.....	29
II.3.3. Influence de la température sur la croissance fongique.....	30
II.3.4. Influence pH sur la croissance fongique.....	32
Discussion	34
CONCLUSION.....	37
 RÉFÉRENCES BLIOGRAPHIQUES.....	
 ANNEXE.....	
 RÉSUMÉ	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° 01 :	Les principales moisissures et mycotoxines retrouvées dans certains aliments.	9
Tableau n° 02 :	Principales mycotoxines et leurs effets.	12
Tableau n° 03 :	Appareillage et Verreries.	16
Tableau n° 04 :	Différentes origines d'échantillonnage.	18
Tableau n° 05 :	Pourcentage de la population fongique isolée à partir des céréales (blé, maïs et orge).	25
Tableau n° 06 :	Caractères microscopiques des souches isolées des grains de céréales	27
Tableau n° 07 :	Analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes sources de carbone.	44
Tableau n° 08 :	Analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes sources d'azote.	44
Tableau n° 09 :	Analyse de variance à un facteur de la croissance à différentes températures.	45
Tableau n° 10 :	Analyse de variance à un facteur de la croissance à différents pH.	45

LISTE DES FIGURES

Figure n° 01 :	Schéma d'une tête <i>Aspergillaire</i>	4
Figure n° 02 :	Schéma de l'organe fructifère de <i>Penicillium</i> (<i>pénicille</i>)	4
Figure n° 03 :	Schéma des conidies de <i>Fusarium</i>	5
Figure n° 04 :	Aspect de différents grains de céréales utilisés.	15
Figure n° 05 :	Schéma du protocole expérimental.	17
Figure n° 06 :	Isolement à partir de trois types de céréales sur milieu PDA.	19
Figure n° 07 :	Schéma démonstratif des étapes de la purification du champignon par culture monospore.	20
Figure n° 08 :	Schématisation de la technique du drapeau utilisée pour L'observation d'une empreinte fongique.	21
Figure n° 09 :	Isolement des champignons à partir des grains de céréales	25
Figure n° 10 :	Observations macroscopiques des différents morphotypes obtenus.	26
Figure n° 11 :	Influence de la source de carbone sur la croissance fongique.	29
Figure n° 12 :	Influence de la source d'azote sur la croissance fongique.	30
Figure n° 13 :	Influence de la température sur la croissance fongique selon une équation polynomiale d'ordre 2.	32
Figure n° 14 :	Influence du pH sur la croissance fongique selon une équation polynomiale d'ordre 2.	33
Figure n° 15 :	Observations macroscopiques des différents morphotypes obtenus.	41
Figure n° 16 :	Croissance fongique des souches cultivées avec les différentes sources de carbone.	42

Figure n °17 :	Croissance fongique des souches cultivées avec les différentes Sources d'azote .	42
Figure n ° 18:	Croissance fongique des souches cultivées à différentes températures.	43
Figure n ° 19 :	Croissance fongique des souches cultivée sur les différents pH .	43

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A : *Aspergillus*.

CDA : Czapeck- Dox- Agar.

CDB : Czapeck –Dox- Broth.

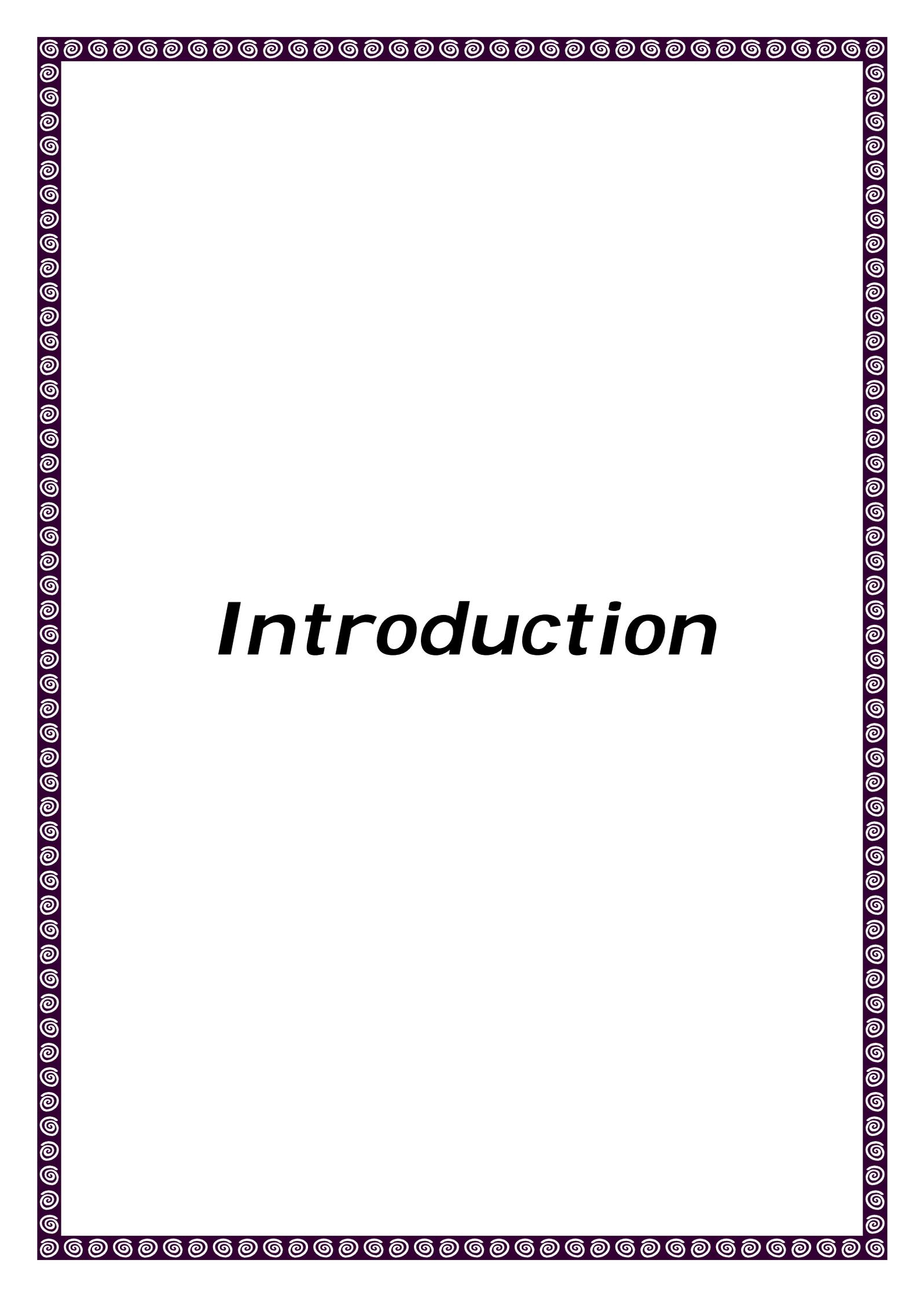
F: *Fusarium*.

FAO: Food and Agriculture Organization.

P: *Penicillium*.

PDA : Potato Dextrose Agar.

PDB : Potato Dextrose Broth.



Introduction

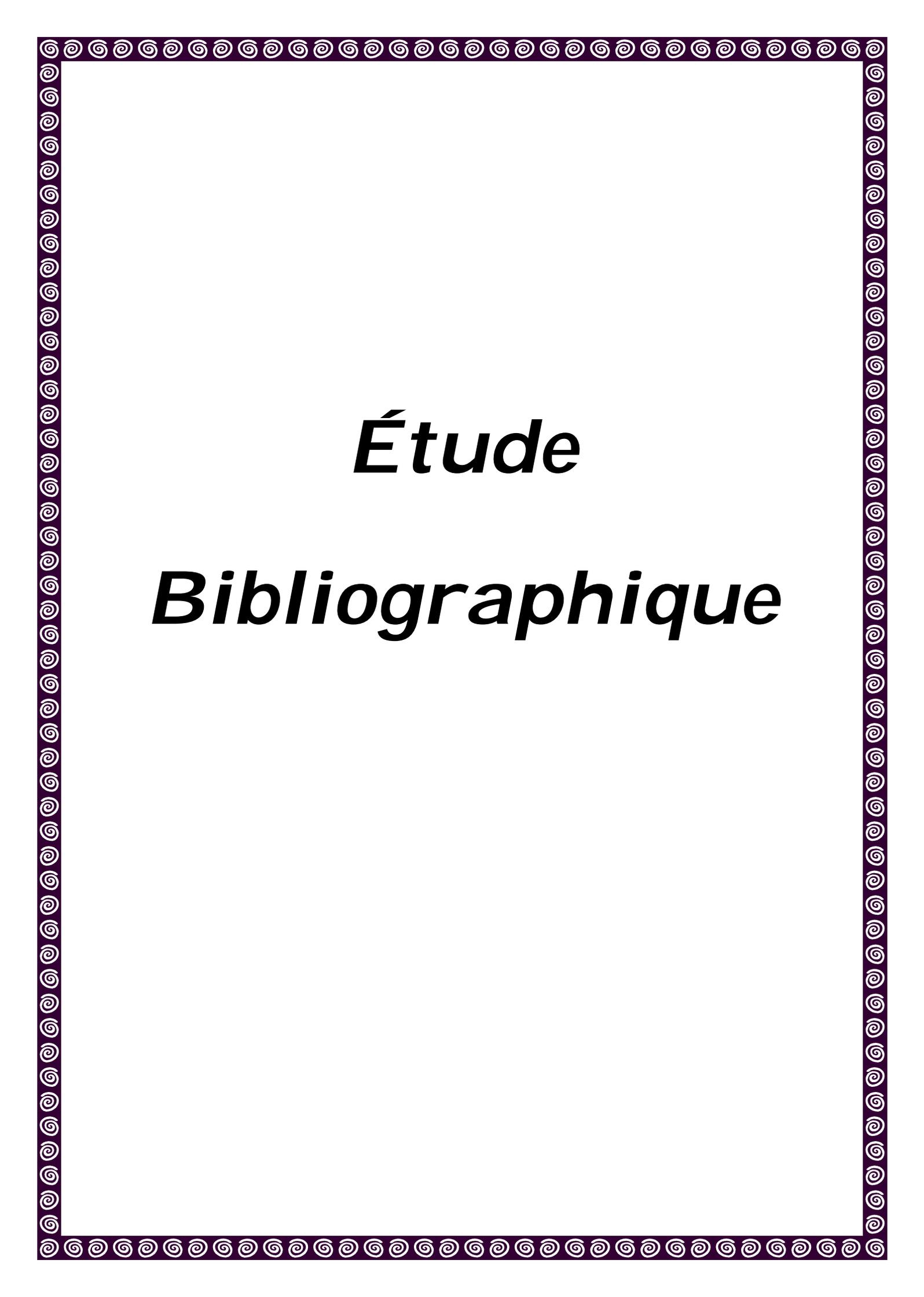
Les céréales constituent un élément fondamental dans les traditions culinaires algériennes. Culturellement et nutritionnellement, elles constituent la source principale des calories alimentaires et le principal élément des rations alimentaires de base pour les différents niveaux de revenu (Hamou *et al.*, 2009).

Dans la plus part des cas la production des céréales est assurée par une seule récolte de l'année alors que la consommation est prolongée toute au long de l'année d'où la nécessité du stockage. Malheureusement, de nombreux agents de détérioration (moisissures) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales les moisissures et leurs métabolites secondaires entraînent à l'échelle mondiale des pertes de céréales et leurs dérivées, estimé de 5 à 10% (Pfohl-lezkowicz *et al.*, 1999).

Les moisissures réduisent la qualité technologique (le taux de gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales) réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et en fin provoquant des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés (Gacem, 2012).

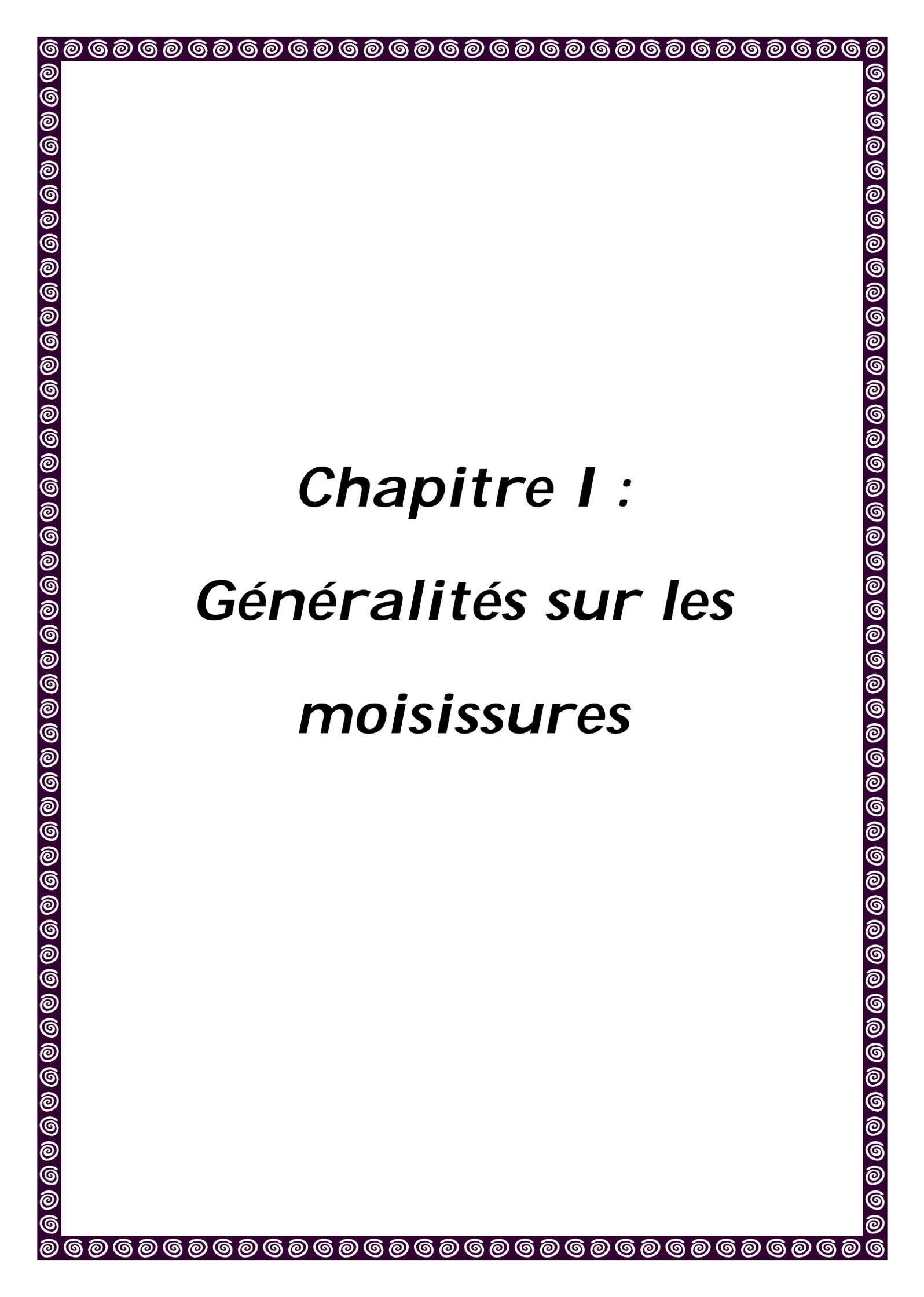
Ces moisissures qui se développent sur certaines denrées alimentaires produisent des substances toxiques appelées mycotoxines qui sont des métabolites secondaires à faible poids moléculaire, qui représente un danger important à la santé humaine et animale (Quillien, J.F. *et al.*, 2002). La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs d'ordre physiques, chimiques (PH, Température, Source d'azote, source de carbone...ect) (Alban G., 2016).

L'objectif de ce travail est de caractériser la flore fongique qui contamine les différentes variétés des céréales commercialisées dans la région de Tiaret et d'étudier les facteurs capables d'influencer sa croissance fongique et synthèse des mycotoxines.



Étude

Bibliographique



Chapitre I :
Généralités sur les
moisissures

I. Généralités sur les moisissures

Les champignons microscopiques (ou mycètes) sont des organismes hétérotrophes non photosynthétiques, ils se subdivisent en deux grands groupes : les levures et les moisissures (Bousseboua, 2003).

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, eucaryotes et immobiles (Nicklin et *al.*, 2000). Elles sont communément utilisées pour désigner tout micro-organisme fongique saprophyte ou parasite appartenant aux champignons supérieurs et inférieurs (Chapeland-Leclerc et *al.*, 2005 ; Reboux et Millon, 2008). Les moisissures sont omniprésentes dans notre environnement. Certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres sont des saprophytes se développant sur des déchets organiques et contaminant les produits alimentaires (Bourgeois, 1989 ; Leveau et Bouix, 1993).

Les moisissures sont aérobies, en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (Nicklin et *al.*, 2000) et mésophiles (température optimale 20-30°C) (Botton et *al.*, 1990). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ($T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$ ou même parfois $< 0^{\circ}\text{C}$, comme *Cladosporium herbarium* et *Thamnidium elegans*). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes ($A_w = 0.65$) (Boiron, 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes : (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc.), qui en font des agents de dégradation dangereux, mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes) (Guiraud et Galzy, 1980).

I.2. Moisissures des céréales

Plus de 150 espèces des moisissures différentes sont susceptibles de souiller les produits agricoles et alimentaires. La plupart des moisissures sont présentes probablement sur les grains de céréales comme contaminants extérieurs (Christensen, 1982).

Les fourrages et les céréales sont naturellement en contact avec des spores fongiques avant, pendant et après la récolte, durant le transport et le stockage. Les moisissures sont capables de provoquer d'importantes détériorations, dans le domaine agronomique. Ainsi, leur présence indésirable donne aux aliments des odeurs moisis et modifient leurs aspect via la production de pigments, comme la mélanine. Il y a donc une réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire de la denrée, accompagnée d'une baisse du rendement des

récoltes. Les métabolites produites par ces champignons lors de leur croissance sont aussi des éléments majeurs dans l'altération des denrées alimentaires dont les mycotoxines sont les plus graves en raison de risque d'intoxication (Nguyen, 2007).

Dans ce sens il a été signalé que les graines alimentaires représentent de véritable substrats pour ce champignons filamenteux notamment en cas d'entreposage défectueux qui cause l'altération et la dépréciation de leurs qualité hygiénique organoleptique et nutritionnelle. La croissance fongique est régie par de nombreux paramètres physicochimiques (la température, la nature du substrat et le pH) (Jouany et Yairnikouris, 2002).

I.3. Genres fongiques responsables de la synthèse des mycotoxines

Les mycotoxines sont produites par 5 genres de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria* (Miller et Trenholm, 1994).

I.3.1. Genre *Aspergillus*

Les champignons du genre *Aspergillus* appartiennent à l'embranchement des Ascomycota par leur mode de reproduction sexuée. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Toffa, 2015).

Ce genre *Aspergillus* signifie « aspersoir » à cause de la forme de ses têtes aspergillaires (Galinas, 1995) (Figure n° 01). Ce sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, appartenant à la famille des Trichocomaceae et à l'embranchement des Ascomycota (EOL, 2014). Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, ce genre comprend de 180 à 250 espèces selon les auteurs dont seules *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, et *A. niger* sont considérées comme thermotolérantes (Reboux et al., 2010).

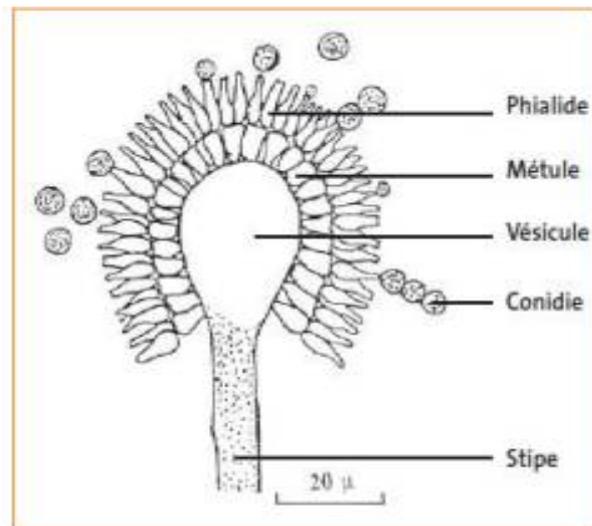


Figure n° 01 : Schéma d'une tête *Aspergillaire* (Anonyme, 2012).

I.3.2. Genre *Penicillium*

Le *Penicillium* réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycota (Pitt, 1988). Il comporte plus de 200 espèces, qui se rencontrent partout (Reboux et *al.*, 2010). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles, rappelant ainsi la forme d'un pinceau (Champion, 1997) (Figure n° 02).

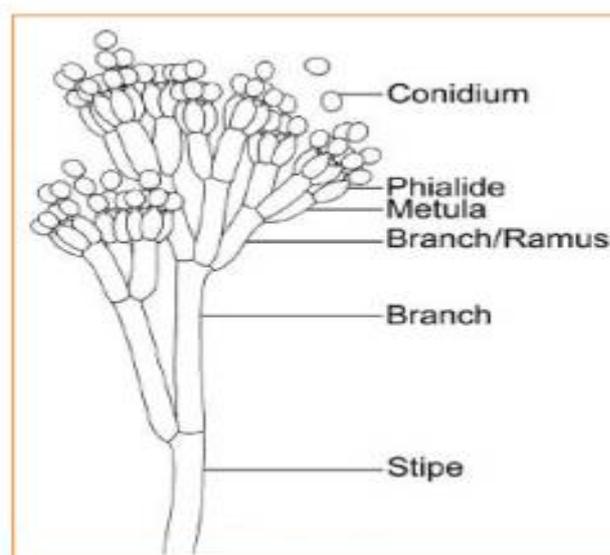


Figure n° 02 : Schéma de l'organe fructifère de *Penicillium* (pénicille)

(Visagie et *al.*, 2014).

I.3.3. Genre *Fusarium*

Le nom *Fusarium* vient de « fusus » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées (Galinas, 1995) (Figure n° 03). Le genre *Fusarium* représente des espèces pathogènes et saprophytes. Les espèces rencontrées sont surtout : *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* et *F. poae* (Van der Burgt et al., 2009). Ces champignons sont capables de produire des mycotoxines. Les deux espèces *F. culmorum* et *F. graminearum* provoquent la pourriture de la tige et la brûlure de l'épi du blé et ces infections de champs peuvent conduire à l'altération post récolte de ce produit s'il est stocké à une trop forte activité de l'eau (Adams et al., 2008). Ils réduisent aussi le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé. Elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (Abramson et al., 2001).

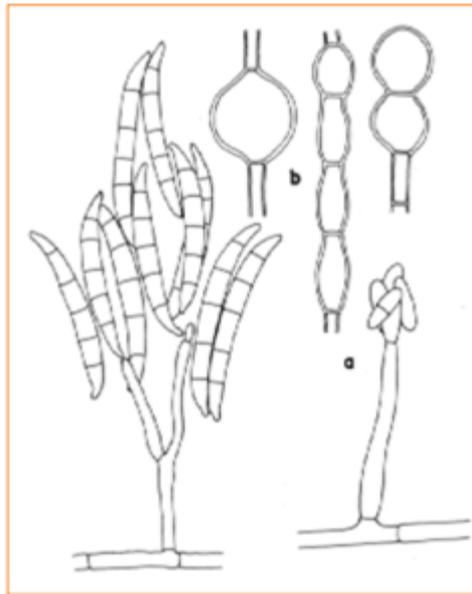


Figure n° 03 : Schéma des conidies de *Fusarium*.

a : microconidies ; **b** : chlamydospores (www.telmeds.org)).

I.4. Effets des moisissures

Les champignons sont d'un grand intérêt pour l'Homme dans plusieurs domaines d'activités. En agroalimentaire, certains champignons, à l'instar de la levure *Saccharomyces cereviceae*, sont utilisées en fromagerie et en pâtisserie, mais également dans la production de boissons alcooliques par fermentation (Piskur et al., 2006). Dans le domaine médical, la levure

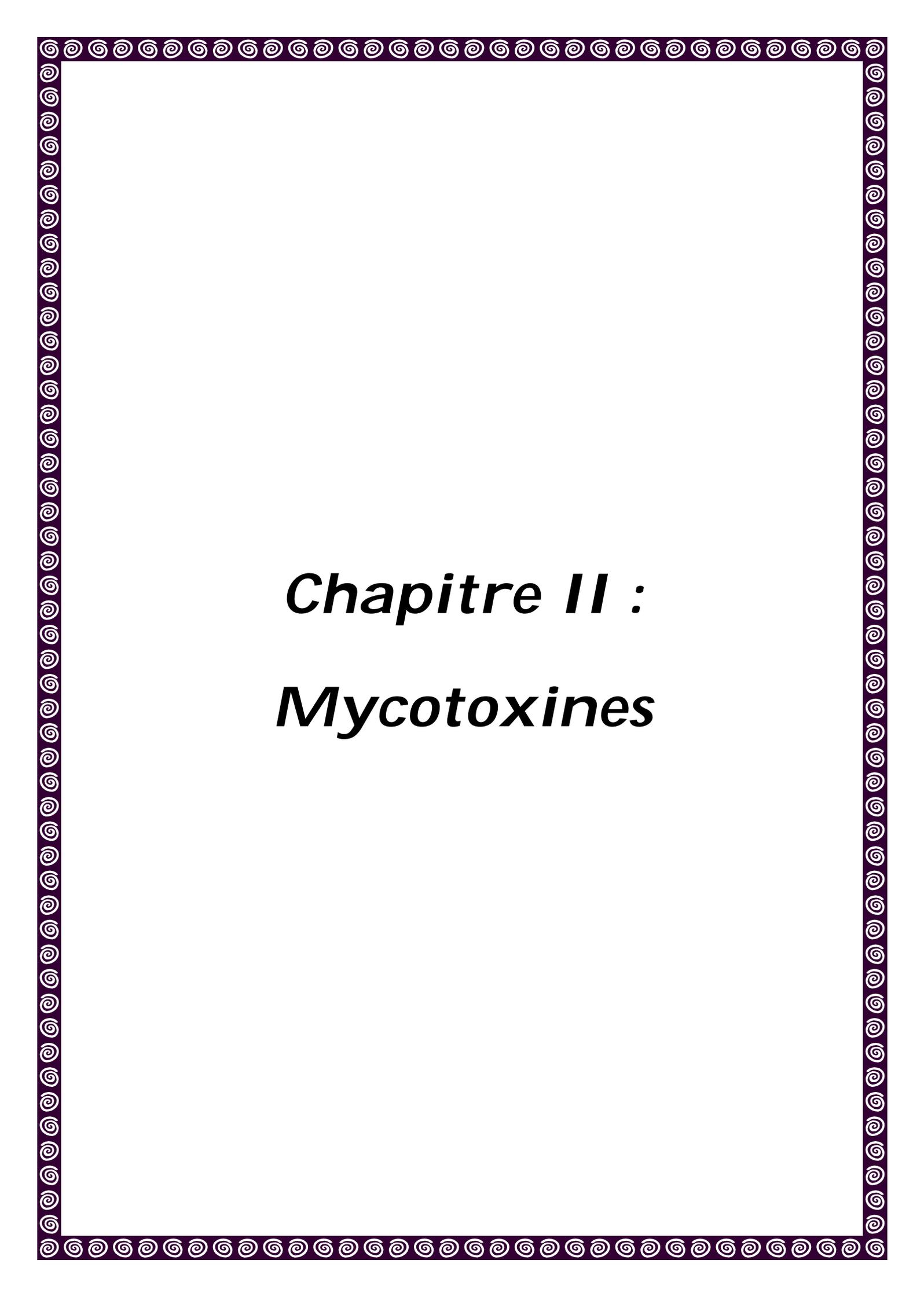
Saccharomyces cerevisiae est un organisme modèle pour l'étude des processus cellulaires, et le premier eucaryote dont le génome a été complètement séquencé (Goffeau et *al.*, 1996).

En écologie, les champignons saprophytes participent au maintien de l'équilibre écologique en libérant dans l'environnement, à partir de la matière qu'ils décomposent, du carbone et des sels minéraux (Joffin, 2003).

En biotechnologie, les champignons tels que *Ashbya gossypii*, sont exploités dans la production de vitamines A, B ou D (Santos et *al.*, 2009). Dans le domaine de la pharmacie, plusieurs espèces de champignons sont utilisées pour la synthèse de médicaments. Le polysaccharide K, produits chimiques dérivées de *Trametes versicolor*, est utilisé comme adjuvant dans le traitement du cancer (Dongmo, 2009). Les pénicillines sont utilisées dans le traitement d'infections bactériennes, principalement contre des bactéries à Gram positif. Environ 22% des antibiotiques identifiés sont produits par les champignons filamenteux (Damien, 2015). La pénicilline est produite par *P. chrysogenum*, la céphalosporine par *Cephalosporium acremonium* etc.

En agriculture, les champignons tels que *Beauveria bassiana* sont utilisés dans la lutte biologique. Ce champignon permet de lutter contre le doryphore dans la culture des pommes de terre ou contre une chenille responsable de la pyrale du maïs (Becker et *al.*, 1998).

D'autres sont nuisibles et toxigènes pour l'Homme et les animaux qui peuvent se développer sur différents substrats en provoquant l'altération des denrées alimentaires produisant des métabolites toxiques (mycotoxines), dans certaines conditions de températures et d'humidité (Boudra, 2009).



Chapitre II :
Mycotoxines

II.1. Découverte des mycotoxines

La contamination des aliments par les champignons toxiques n'est pas un nouveau phénomène. Dès le moyen âge, les chroniques décrivent les effets mortels de l'ergot du seigle dont l'agent causal *Claviceps purpurea* est responsable de l'élaboration d'une toxine mortelle : l'ergotamine (Derache, 1986). En Angleterre (1960), l'ingestion d'une farine d'arachide importée du Brésil et contaminée par *Aspergillus flavus* a entraîné la mort brutale d'une centaine de milliers de dindonneaux après l'apparition des premiers symptômes : perte de l'appétit, faiblesse des ailes et léthargie. Cet événement dénommé autrefois tout simplement « Turkey-X-Disease » a donné le départ d'une série d'études et de recherches physico-chimiques et toxicologiques sur les substances actives élaborées par les moisissures. Ainsi en 1960, le nom d'aflatoxine est attribué à cette nouvelle matière toxique (Bradburn, 1994).

Plus tard, un grand nombre d'espèces au sein des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont été reconnues ochratoxinogènes. Plusieurs maladies humaines sont spéculées ou attribuées à cette mycotoxine, telles que la néphropathie endémique des pays du Balkans (Petrova-Bocharova et al., 1988), les tumeurs du tractus urinaire et rénales observées en Tunisie (Zinedine et al., 2007) et en Égypte (Waffa et al., 1998 ; Pfohl-Leszkowicz et al., 2002 ; Chapeland- Leclerc et al., 2005).

Les recherches ultérieures, amenèrent à la découverte d'autres mycotoxines et aboutirent à la mise en évidence d'un pouvoir cancérigène intense de certaines de ces toxines, entraînant ainsi, le début de travaux scientifiques d'envergure. La liste de ces mycotoxines est impressionnante (plus de 300) et ne cesse d'augmenter (Chapeland-leclerc et al., 2005 ; Intercéréales, 2014 ; Darwish et al., 2014).

II.2. Origine et nature des mycotoxines

Du grec mukos (champignon) et du latin toxicum (poison), le terme mycotoxines désigne des substances naturelles synthétisées par un métabolisme secondaire de moisissures telles que : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps*, tout en exerçant un pouvoir toxique réel pour le consommateur (Homme et animal), une fois ingérées même en faibles concentrations (Reboux, 2006). De manière générale, les mycotoxines sont des métabolites secondaires, toxiques, de faible poids moléculaire (entre 200 et 10.000 daltons), excrétées par certaines moisissures, qui se développent sur divers produits agricoles sous des conditions particulières (Krska, 2009). À ce jour, 300 à 400 mycotoxines sont connues (Pamel et al., 2010).

Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, peu volatiles non dégradables par les organismes vivants. Elles sont très stables à l'acidité et à la chaleur, puisque nous pouvons les retrouver dans les aliments après cuisson ou même après stérilisation (Ruppel *et al.*, 2004). L'origine chimique des mycotoxines est très diverse, certaines dérivent des polycétoacides (aflatoxines, ochratoxine, patuline, stérigmatocystine), d'autres des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot, acide aspergillique, acide cyclopiazonique) et les derniers sont des dérivés terpéniques (désoxynivalénol, diacétoxyscirpénol, fusarénone,) (Leclerc *et al.*, 2005).

II.3. Principales mycotoxines et les denrées alimentaires

Plus de 2500 mycotoxines ont été répertoriées, mais seule une trentaine posséderait des propriétés toxiques réellement préoccupantes pour l'Homme ou l'animal. Les aliments les plus touchés par les moisissures toxinogènes peuvent être d'origine animale ou végétale. Les céréales sont les denrées alimentaires végétales les plus fréquemment contaminées (en plein champ ou lors du stockage). Les autres produits d'origine végétale sont les fruits (y compris leurs jus et leurs produits de fermentation tels que les vins, le cidre et leurs dérivés secs), les épices, le café et le cacao. Des produits et aliments d'origine animale tels que le lait, le sang, les abats et tout ce qui en dérive doivent retenir l'attention (Afssa, 2009) (tableau n° 01).

Tableau n° 01: Les principales moisissures et mycotoxines retrouvées dans certains aliments (Nguyen, 2007).

Moisissure	Mycotoxine	Denrées
<i>Aspergillus</i>	<i>Aflatoxines</i> <i>Stérigmatocystine</i> <i>Ochratoxines A</i>	Maïs, riz, cacahuète, graines de coton, de potiron, haricots, tissus d'animaux(jambon,lard,saucisse), lait et dérivés
<i>Fusarium</i>	<i>Trichothécènes(déoxynivalénol, toxine-T2,diacétoxyscirpénol), fumonisines,zéaralénone, moniliformine, fusarenone</i>	Blé,maïs, orge, riz, seigle, avoine, noix
<i>Penicillium</i>	<i>Patuline, ochratoxine A, citrinine, acide cyclopiazonique, pénitrem A</i>	Fruits et jus de fruits, blé et dérivés, riz, fromage, noix

II.4. La mycotoxicogénèse

La mycotoxicogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La production de toxines et le développement fongique sont étroitement liés. Les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions favorables de la toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique dont les facteurs physiques chimiques et biologiques (Moreau, 1994).

II.5. Facteurs favorisant la croissance des moisissures

Les facteurs de croissance sont des composés indispensables à la nutrition et à la croissance de certains microorganismes (Leclerc et *al.*, 1995).

II.5.1 Éléments nutritifs

Les moisissures sont des hétérotrophes, elles exigent donc la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote) dans le milieu qui assure leur croissance. Les moisissures possèdent un arsenal enzymatique extrêmement riche, qui leur permet d'utiliser plus efficacement, encore que les bactéries, (Davet, 1996).

II.5.2. Source de carbone et d'énergie

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose (Boiron, 1996 ; Nicklin et *al.*, 2000). Certains d'entre elle produisent des lipases extracellulaires capable d'hydrolyser les lipides en glycérol et acide gras qui peuvent être assimilés par beaucoup d'espèces fongiques, alors que seulement certaines espèces utilisent les acides organiques et l'éthanol (Boiron, 1996 ; Tabuc , 2007).

II.5.3. Source d'azote

La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH_4), dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines). L'ammoniaque est transformé en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides aminés par transamination (Boiron, 1996), alors que seules certaines espèces utilisent le nitrate,

d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (Devet, 1997 ; Belyagoubi, 2006).

II.5.4. Température

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois, 1989). La plupart des moisissures sont mésophiles avec un optimal de croissance de 25 à 35°C (Botton et al., 1999 ; Julien, 2002). Quelques espèces sont thermotolérantes ou thermophiles et peuvent croître à haute température (au-dessus de 50°C) avec une croissance optimale aux environ de 20 à 25°C, *Aspergillus fumigatus* en est un bon exemple (Botton et al., 1999 ; Nicklin et al., 2000). D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à basses températures (entre -5 et 10°C), tels que *Helicostylum pulchrum*, *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum*, ces espèces peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (Davet, 1996 ; Botton et al., 1999).

II.5.5. 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). D'autres sont capables de croître dans des pHs légèrement acides, c'est le cas de *Fusarium culmorum*, *Trichoderma harzianum* et *Aspergillus oryzae* (Urbanek et al., 1984 ; Delgado-Jarana et al., 2002). Cependant, les enzymes extracellulaires produites dans des milieux complexes peuvent avoir des optima de pH d'activité très différents (plus acides ou plus basiques) (Botton et al., 1999). Par ailleurs, les champignons modifient souvent le pH du milieu par absorption sélective et échange d'ions, production de CO₂ ou de NH₃ ou par production d'acides (Boiron, 1996).

II.5.6. Activité de l'eau (Aw)

L'activité de l'eau est un facteur qui influe sur la croissance des champignons. Elle est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'un produit (p) sur la pression de vapeur de l'eau pure (p₀), à une température donnée (Pitt, 1985). Quelque 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 sur la production de mycotoxines (Belli et al., 2004). La limite inférieure de l'Aw pour la

croissance de *P. martensii* et *A. nidulans* est de 0,8 ; celle d'*A. candidus* est de 0,75 (Carlile et Watkinson, 1996)

II.5.7. L'atmosphère gazeuse

Les moisissures demandent de l'oxygène pour se développer. Elles sont aérobies mais certains peuvent s'adapter à une atmosphère confinée plus riche en gaz carbonique que l'air, par exemple *Byssochloromyces niveus*, *Paecilomyces varioti* et *Aspergillus clavatus* trois espèces productrices de « Patuline » s'adaptent à un milieu anaérobie. Mais dans l'ensemble, un accroissement de la teneur en gaz carbonique du milieu diminue et supprime la croissance des moisissures (Derache, 1986).

II.6. Effets des mycotoxines

Les mycotoxines constituent un danger imminent, qui tire le signal d'alarme, en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'Homme, sur la productivité animale et sur le commerce national et international. La FAO estime, que plus de 25 % des récoltes mondiales sont significativement contaminées par des mycotoxines (Krska, 2009) (tableau n° 02).

Tableau n° 02: Principales mycotoxines et leurs effets selon (Brochard et Le Bâcle, 2009).

Mycotoxines	Effets
Aflatoxines	Hépatotoxique-Mutagène-cancérogène-immunotoxique
Citrinine	Néphrotoxique
Fumonisine B1	Neurotoxique-Hépatotoxique- cancérogène-immunotoxique
Ochratoxines	Neurotoxique- Mutagène- cancérogène-
Patuline	Neurotoxique- Mutagène
Pénitrème A	Neurotoxique

Stéigmatocystine	Hépatotoxique- cancérogène
Trichothécènes	Hépatotoxique-Hématotoxique-cancérogène-immunotoxique
Zéaralénone	Ostrogénique-effet sur la fertilité et la reproduction

Matériel Et Méthodes



I.1. Objectif du travail

Le présent travail consiste à isoler et identifier la mycoflore fongique mycotoxinogène des graines de céréales (blé, maïs et orge) commercialisées dans la région de Tiaret, ainsi d'étudier les facteurs capables d'influencer la croissance fongique et la synthèse de mycotoxines dans le but de contribuer dans l'amélioration des conditions de stockage.

I.2. Lieu et durée du travail

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire microbiologie et technologie alimentaire de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret, du 19 Février au 30 Avril 2018.

I.3. Matériel utilisé

I.3.1. Matériel végétatif

L'étude porte sur trois types de céréales (blé, maïs et orge) commercialisés, dans différentes communes de la wilaya de Tiaret (Tiaret ville, Tousnina et Ain Kermes) qui sont destinés pour l'alimentation humaine (Figure n° 04).



Figure n° 04 : Aspect des différents grains de céréales utilisés.

I.3.2. Milieux de culture

Quatre milieux de culture synthétiques (Annexe n° 1) ont été utilisés pour l'isolement, l'identification et l'étude physicochimique des moisissures.

I.3.3. Autres matériels

I.3.3.1. Matériels et appareillage

L'appareillage et la verrerie utilisés dans ce travail sont illustrés sur le Tableau n° 03.

Tableau n° 03 : Appareillage et Verreries.

Appareillage	Verreries	Produits chimiques	Milieux de culture
Agitateur (IKAMAG AH)	Ance de platine	Amidon	Potato-Dextrose-Agar (PDA)
Autoclave(wolf,weskzeug vorrichtungsbau 7340 geislingen).	Bécher	Fructose	Potato-Dextrose-Broth (PDB).
Balance analytique (KERN).	Boîtes de Pétri	Glucose	Czapeck-Dox-Agar (CDB).
Balance ordinaire (KERN).	Éprouvettes	Lactose	Agar 2%
Bec benzène	Erlenmeyers	Sucrose	
Incubateur (Memmert).	Flacons	Nitrate de potassium (KNO ₃)	
Microscope (OPTIKA B-350).	Lames	Nitrate de sodium (NaNO ₃)	
pH mètre (LEYBOLD HERAEUS.62865).	Pipette Pasteur	Nitrate d'ammonium (NH ₄ NO ₃)	
Vortex (techno kartell TK3S).	Tube à essai	Nitrite de sodium (NaNO ₂).	

I.4. Protocole expérimental

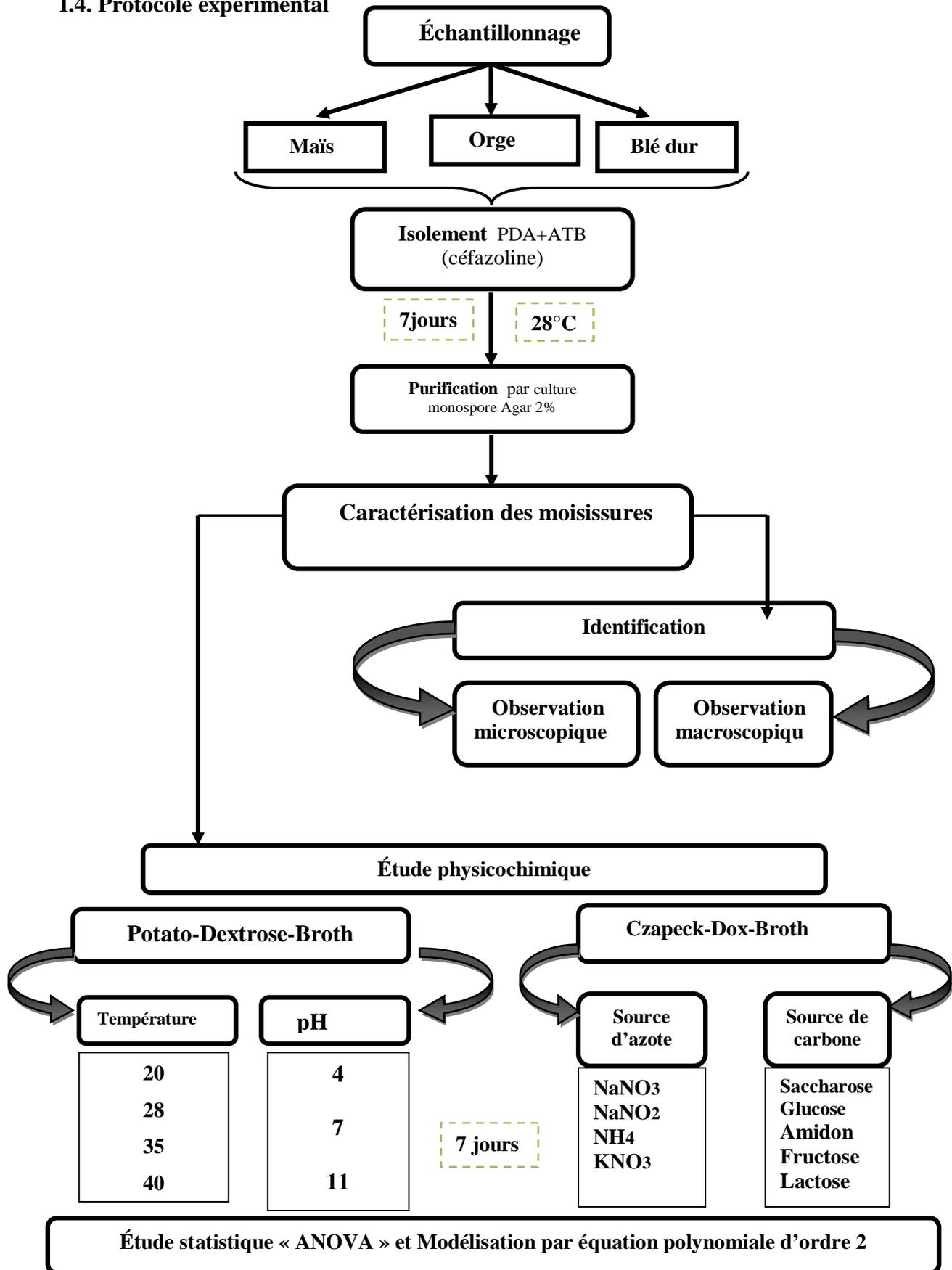


Figure n° 05 : Schéma du protocole expérimental.

I.4.1 Échantillonnage

Pour rappel, trois échantillons de céréales commercialisées (orge, maïs et blé) ont été prélevés de façon aléatoire sans emballage adéquat.

Dans le Tableau n° 4, nous résumons les conditions d'échantillonnage.

Tableau n° 04 : Différentes origines d'échantillonnage.

Espèces	Date de prélèvement	Provenance	Aspect	Quantité
Blé	14/02/2018	Tiaret	Noirâtre de calibre normal, avec une partie carrée	100g
Mais	10/02/2018	Tousnina		100g
		Ain Kermes		
Orge	16/02/2018			100g

I.4.2. Isolement à partir de différents grains de céréales

La technique d'isolement utilisée est celle décrite par Davet et Rouxel (1997) avec quelques modifications. Nous avons d'abord sélectionné des grains de blé, maïs et orge, que nous avons ensuite rincé à l'eau distillée puis désinfecté avec l'hypochlorite de sodium (eau de javel) 13° dilué à 30% pendant trois minutes, pour une désinfection superficielle et à fin d'éliminer les bactéries. Les grains ont été rincés trois fois avec de l'eau distillée stérilisée pour éliminer les traces de l'hypochlorite de sodium. Après rinçage, 10 grains ont été placés sur le milieu PDA. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28 °C pendant 72 h (Figure n° 08).

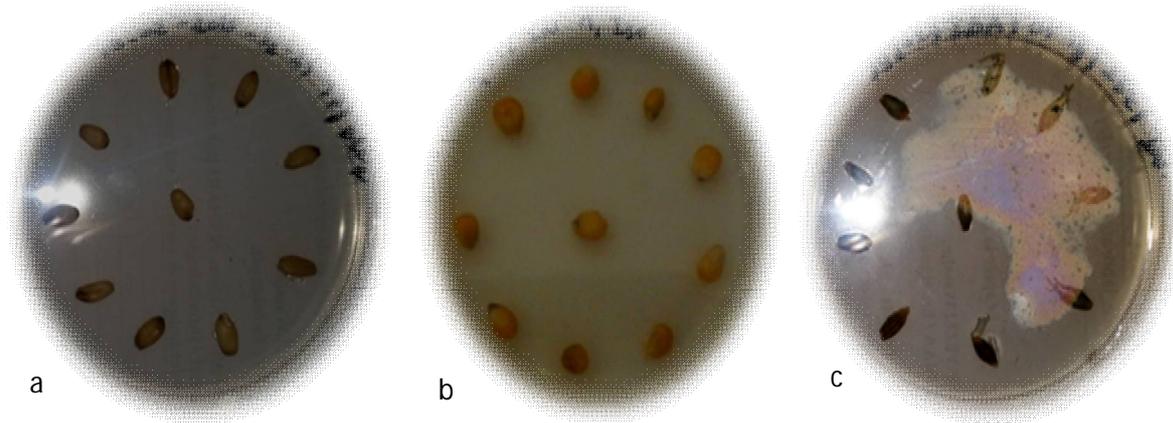


Figure n° 06 : Isolement à partir de trois types de céréales sur milieu PDA.

A: blé ; b : maïs ; c : orge.

I.4.3. Purification des isolats

Le but de cette technique est d'obtenir un matériel fongique génétiquement homogène. La purification a été réalisée par culture monospore selon la méthode de (Henni et *al.*, 1994) avec des modifications. A partir de cette technique repose sur la préparation de dilutions décimales (Figure n° 07). Les cultures monospores ont été obtenues dans des conditions stériles. Un fragment de mycélium a été introduit dans 9 ml d'eau distillée stérilisée, que nous avons agité vigoureusement au vortex pour libérer les conidies. Un volume de 0,1 ml a été déposé et étalé sur la surface du milieu Agar 2 % en boîte de Pétri. Après incubation à 28°C pendant 24 à 48 heures, une observation à l'œil nu suffit pour repiquer les germinations issues d'une seule et unique conidie sur différentes boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours.

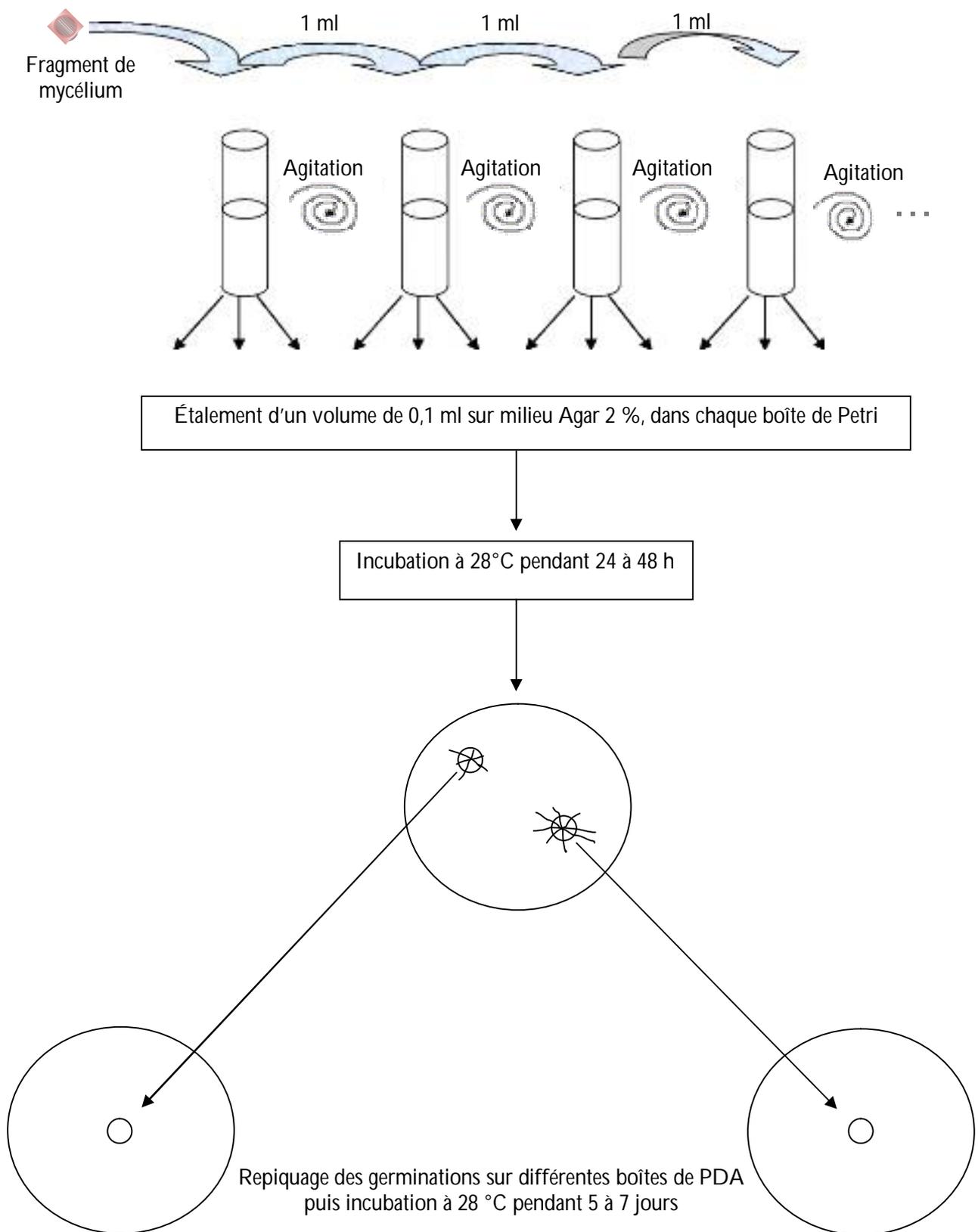


Figure n° 07: Schéma démonstratif des étapes de la purification du champignon par culture monospore.

I.4.4. Identification des champignons

La purification des isolats nous a permis par la suite de réaliser une identification morphologique, en se basant sur les caractères macroscopiques et microscopiques.

I.4.4.1. Identification macroscopique

Pour procéder à l'identification macroscopique des champignons purifiés, nous avons utilisé la méthode décrite par (Booth, 1984 ; Nelson et *al.*, 1981) avec quelques modifications. Cette identification est basée sur des observations à l'œil nu. Nous avons noté les caractères culturels notamment : la pigmentation de la face et de l'envers des colonies, la vitesse de croissance, le contour des colonies et l'aspect du mycélium.

I.4.4.2. Identification microscopique

Pour une bonne observation des caractères microscopiques des champignons, nous avons utilisé la technique du drapeau (Figure n° 08) décrite par Guezlane-Tebibel et *al.* (2011) qui permet d'examiner directement une culture mycélienne sur une lame et qui pourra être conservée par la suite. Cette technique consiste à prélever une empreinte sur le bord de la colonie fongique, par un fragment de ruban adhésif. Nous avons recollé ce dernier sur une lame, sur laquelle nous avons préalablement déposé une goutte de bleu de coton. Par la suite, on est passé directement à l'observation par microscope optique au grossissement 400.

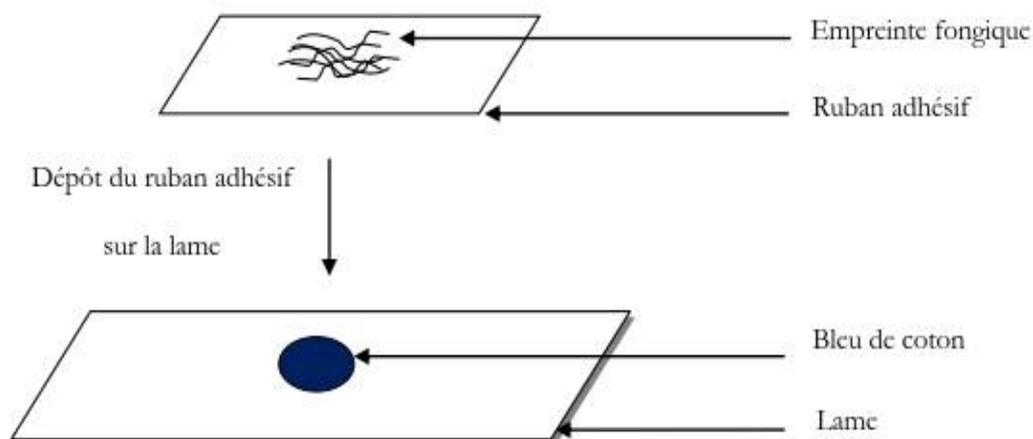


Figure n° 08 : Schématisation de la technique du drapeau utilisée pour l'observation d'une empreinte fongique.

I.4.5. Impact des conditions sur la croissance fongique

L'étude des caractéristiques physicochimique représente un axe reflétant la diversité de croissance sur différents paramètres. Cette analyse a été réalisée en étudiant la croissance en présence de carbone, d'azote, différents pH et différentes températures.

I.4.5.1. Influence des différentes sources de carbone

La diversité de croissance sur différentes sources de carbone a été réalisée selon la méthode décrite par Farooq et *al.* (2005). Cette méthode permet aussi de mettre en évidence la source de carbone qui donne une croissance optimale. Elle consiste à l'utilisation de différentes sources de carbones, introduites dans le milieu Czapeck-Dox-Broth (CDB). Les sources de carbone utilisées sont toutes des glucides : amidon, Glucose, Fructose, Lactose et Sucrose. Chaque glucide a été utilisé comme seule source de carbone dans le milieu de base modifié CDB, ce qui a donné cinq milieux CDB modifiés : CDB-amidon, CDB-glucose, CDB-fructose, CDB-lactose et CDB- sucrose.

I.4.5.2. Influence des différentes sources d'azote

La méthode décrite par Ramteke et Kamble (2011) a été utilisée avec quelques modifications, pour étudier la diversité de croissance sur différentes sources d'azote, en tenant compte de la source qui donne une croissance optimale. Cette méthode consiste à l'utilisation de différentes sources d'azotes, introduites dans le milieu CDB. Nous avons utilisé quatre sources d'azote qui sont : Nitrate de potassium (KNO_3), Nitrate de sodium (NaNO_3), Nitrate d'ammonium (NH_4NO_3) et Nitrite de sodium (NaNO_2). Chaque composé a été utilisé comme seule source d'azote dans le milieu de base modifié CDB, ce qui a donné quatre milieux CDB modifiés : CDB- KNO_3 , CDB- NaNO_3 , CDB- NH_4NO_3 et CDB- NaNO_2 . Le milieu témoin a été utilisé sans aucune source d'azote.

I.4.5.3. Influence de la température

Pour déterminer la diversité de croissance à par parametre des températures, et voir quelle est la température la plus favorable pour la croissance des souches, nous avons procédé à cette étude en utilisant la méthode décrite par Desai et *al.* (2016), avec des modifications. Les souches ont été incubées sur milieu PDA à 20, 28, 35 et 40°C.

I.4.5.4. Influence du pH

Dans cette étude, nous avons utilisé la méthode décrite par Rathore et *al.*, (2015) avec quelques modifications pour analyser la diversité de croissance de nos souches, ainsi que de mettre en évidence le pH qui leur permet une croissance optimale. Cette méthode consiste à préparer des milieux PDB séparés avec différents pH.

La gamme de pH sur laquelle on a travaillé est : pH 4, 7, et 11. Ces valeurs de pH ont été ajustés avec des solutions de tampon phosphate (solution KH_2PO_4 , solution Na_2HPO_4), pour qu'ils ne soient pas influencés par les sécrétions acides ou basiques des souches fongiques.

I.4.6. Analyse statistique

L'analyse des résultats expérimentaux, la représentation graphique et la modélisation par équation polynomiale d'ordre 2 ont été effectuées par les logiciels : Microsoft Office Excel 2007 et OriginPro 8. Pour étudier la variabilité de croissance fongique, sous différents facteurs (sources de carbone, sources d'azote, pH et température), on a utilisé l'analyse de la variance (ANOVA). Cette méthode consiste à mettre en évidence l'effet d'un/des facteur(s) sur la croissance fongique.

Résultat et discussion



II. Résultats

II.1. Isolement des souches à partir de différents grains de céréales

Après 72 heures d'incubation, nous avons remarqué l'apparition de germinations mycéliennes de pigmentation blanchâtre, aux extrémités du matériel végétal, comme il est indiqué sur la Figure n° 09. Les isolats obtenus ont été purifiés par la culture monospore.

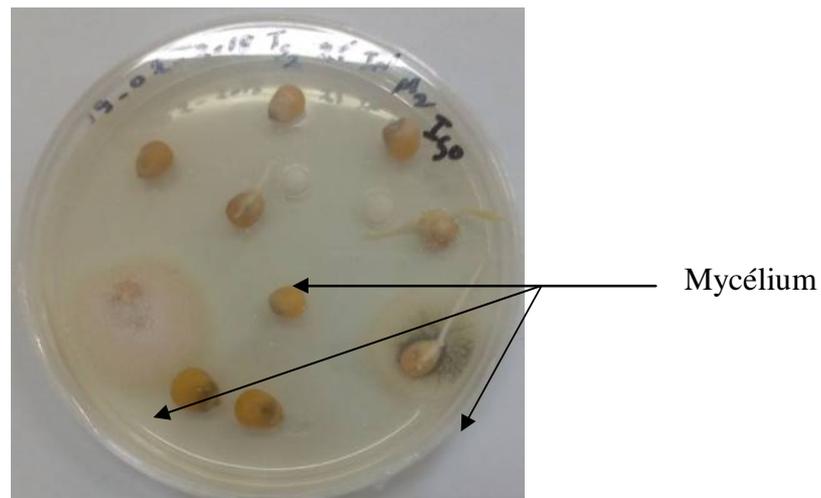


Figure n° 09: Isolement des champignons à partir des grains de céréales.

Le Tableau n° 05 représente Le développement du mycélium en fonction du temps d'incubation. Après 6 jours d'incubation, la croissance du mycélium est observée. On voit qu'il y a une grande contamination dans l'orge avec un pourcentage (80%), par rapport au maïs 67,5% et au blé 55%.

Tableau n° 05 : Pourcentage de la population fongique isolée à partir des céréales

(blé, maïs et orge)

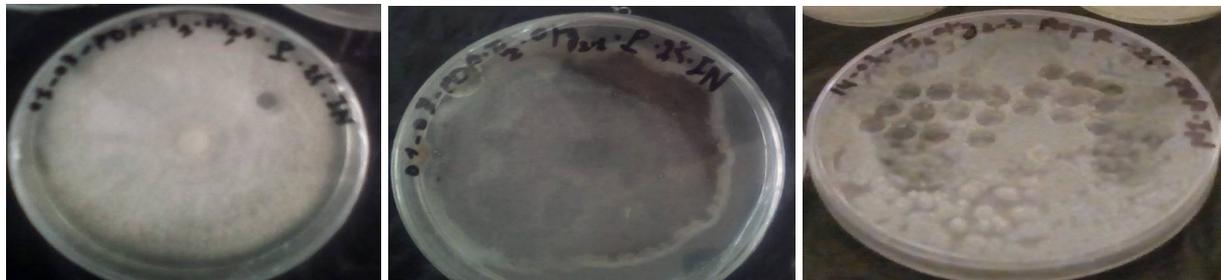
	Blé			Maïs			Orge		
Région	T	K	Ts	T	K	Ts	T	K	Ts
%	30%	20%	55%	67,50%	65%	35%	35%	80%	70%

II.2. Identification des isolats

La purification des isolats par culture monospore, nous a permis de les identifier macroscopiquement et microscopiquement.

II.2.1. Identification macroscopique

Cette identification macroscopique, nous a permis de mettre en évidence quatre morphotypes différents pour 33 souches. Les morphotypes obtenus sont : cotonneux, duveteux, et poudreux. Ces souches sont caractérisées par une pigmentation variable : blanchâtre, beige, rosâtre et verte. (Figure n° 14 annexe n° 2) présente les différents morphotypes observés.



Fusarium(cotonneux)

Aspergillus(Duveteux)

Penicillium (Poudreux)

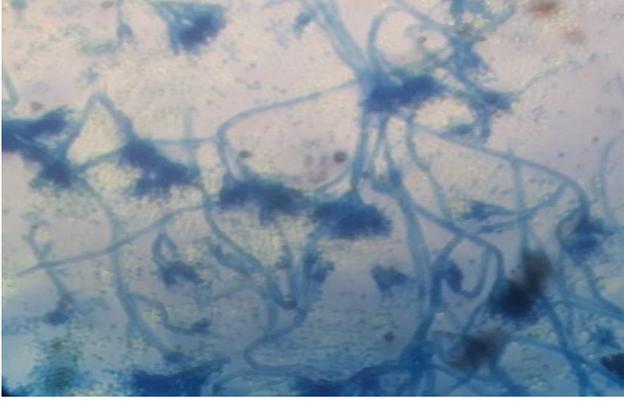
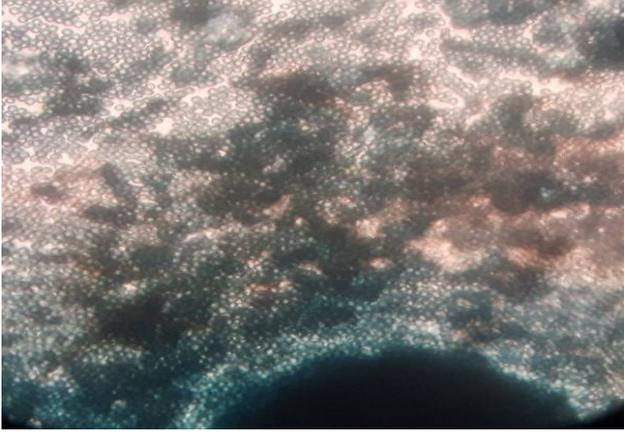
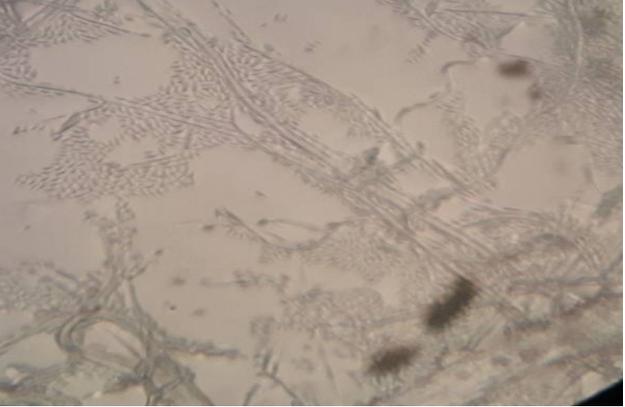
Figure n° 10 : Observation macroscopique des différents morphotypes obtenus .

L'observation macroscopique sur le milieu PDA, a permis de sélectionner 18 souches productrices de mycotoxines, appartenant au genre *Fusarium*, 4 souches appartenant au genre *Penicillium*, 3 souches appartenant au genre *Aspergillus* et 4 souches appartenant au genre *Alternaria* parmi les 33 purifiées.

II.2.2. Identification microscopique

Toutes les moisissures isolées ont été soumises à une identification microscopique (grossissement Gr 400 et Gr1000). Cette identification fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture de parois). Les résultats obtenus ont été rassemblés dans le Tableau n° 06 ci-dessous.

Tableau n° 06: Caractères microscopiques des souches isolées des grains de céréales

Identification de la souche	Aspect microscopiquex100
<i>Penicillium</i>	
<i>Aspergillus</i>	
<i>Fusarium</i>	

Les (03) souches appartenant au genre *Aspergillus* sont caractérisés par :

- a. Mycélium cloisonné
- b. Conidiophores isolés, ramifiés, terminés par un pénicille
- c. Pénicille constitué de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiophore..

Les (04) souches appartenant au genre *Penicillium* sont caractérisé par :

- a. Des conidies unicellulaires globuleuses
- b. Des phialides en forme de quille, en verticilles sur des conidiophores ramifiés à angle droit ou sur leurs branches latérales.

Les (18) souches appartenant au genre *Fusarium* sont caractérisé par :

- a. mycélium cloisonné, macroconidies et microconidies
- b. chlamydospores intercalaires en file
- c. macroconidies à trois cloisons
- d. microconidies
- e. bicellulaires
- f. microconidies unicellulaires regroupées en fausse tête, produites par une monophialide reposant sur un microconidiophore.

II.3. Caractérisations physicochimiques

Les résultats ont permis de mettre en évidence 10 espèces appartenant à différents champignons (*Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*) sur différents paramètres physico-chimique.

II.3.1. Influence de la source de carbone sur la croissance fongique

Les résultats illustrés sur la Figure n°10, représentent la masse fongique de l'ensemble des souches testées, présence sur les différentes sources de carbone. On a remarqué une masse de croissance fongique maximale 0,75-0,80 g pour la souche (F3) sur le milieu CDB-glucose, et par la souche A2 sur le milieu CDB-amidon, puis la souche (P1) sur deux

milieux CDB-glucose et CDB- saccharose avec 0,65-0,75 g. En effet la masse de la croissance fongique minimale est celle de la souche (F1) sur le milieu CDB-glucose et elle est de (0,25g). Ces résultats nous montrent qu'il n'y a pas une grande différence (Figure n° 15 Annexe n°2) L'étude statistique a confirmée cette remarque et on a trouvé que la source de carbone n'influence pas significativement la croissance fongique ($P > 0,05$).

L'analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différents sources de carbone est représenté sur le (Tableau n° 07) en Annexe n°3.

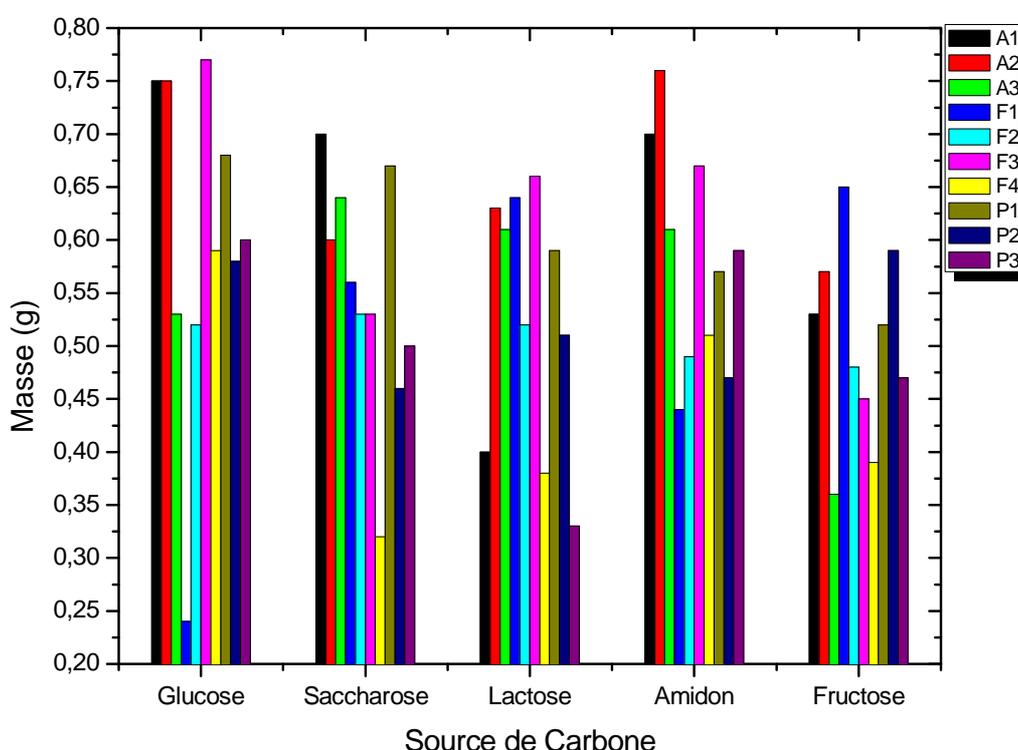


Figure n° 11: Influence de la source de carbone sur la croissance fongique

II.3.2. Influence de la source d'azote sur la croissance fongique

Les résultats obtenus sur la Figure n° 11 représentent la masse de la croissance de l'ensemble des souches testées, sur les différentes sources d'azote. On voit qu'il y a une masse fongique maximale des souches sur deux milieux (CDB- NaNO_3 et CDB- NH_4). Les souches (A2, F2 et F4) poussent bien sur le milieu CDB- NaNO_3 et les souches (A2 et F2) sur le milieu CDB- NH_4 , avec une masse qui varie entre (0,8-0,9g). Nous avons observé que toutes les souches ont une masse qui varie entre (0,5-0,7g) dans différents source d'azote, à

l'exception la souche (A1) sur le milieu CDB- KNO_3 qu'est de (0,45g). Puis la masse de croissance minimale de la souche (P1) est sur le milieu CDB- NaNO_2 est de (0,35g). Ces résultats nous montrent qu'il n'y a pas une grande différence (Figure n° 16 Annexe n°2).

L'étude statistique a confirmée cette remarque et on a trouvé qu'il n'y a pas une différence significative de la croissance sur ces différentes sources d'azote ($P > 0,05$).

L'analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes sources d'azote est représentée sur (Tableau n° 08 en Annexe n° 3).

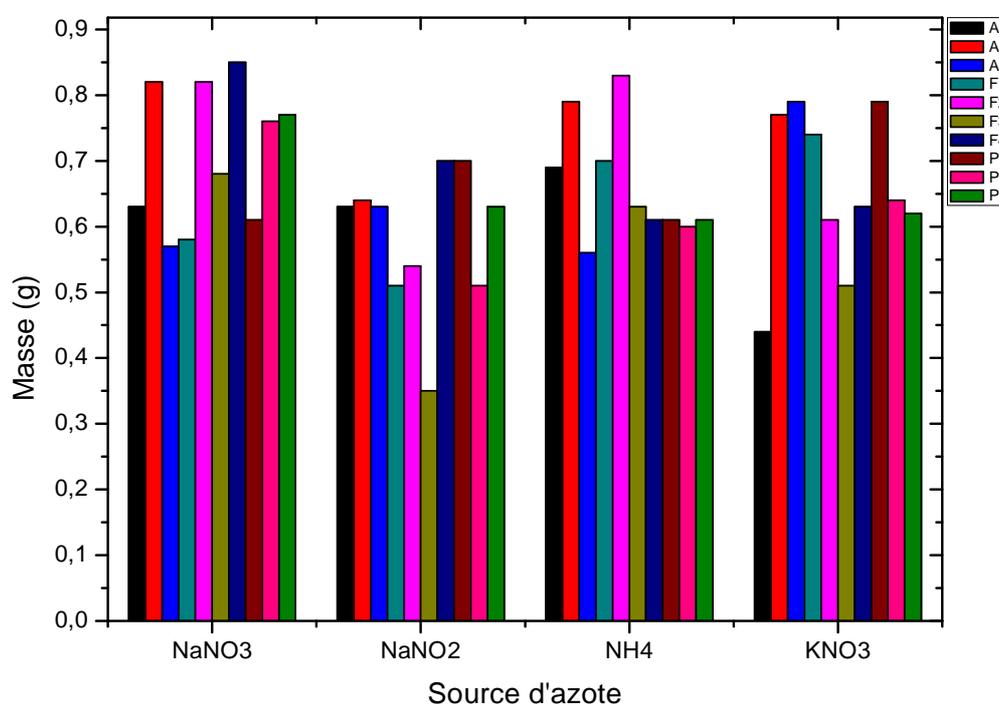


Figure n° 12 : Influence de la source d'azote sur la croissance fongique.

II.3.3. Influence de la température sur la croissance fongique

Cette étude a été réalisée pour mettre en évidence la diversité de croissance à différentes températures, détermine une croissance maximal. Le milieu PDB a été utilisé pour effectuer cette étude.

En se basant sur des mesures expérimentales nous avons développée un modèle empirique (équation polynomiale ordre 2) pour la prédiction de la croissance de différentes températures.

$$M = A(T)^2 + B(T) + C$$

M : masse **T** : température **A, B et C** : variables.

D'après la Figure n° 12, qui montre l'effet de la température sur la croissance des moisissures, nous remarquons que certaines moisissures adoptent le même mode de développement en fonction de la variation de la température. En effet, le *Fusarium* et le *Penicillium* amorcent leurs croissance à partir de 20°C et suit leurs évolutions à 25°C puis commence a s'incliner ou ils atteindrons la croissance maximale, qui varie entre (25-30°C), plus précisément à 28°C, pour l'*Aspergillus*, nous remarquons que le mode de développement est différent, où nous constatons une chute remarquable du mode de développement avec l'augmentation de la température.

L'évolution est maximale (2,2 à 2,4g) pour la souche F1 à 28°C. Les souches [A2, A3, P1, P2, P3, F3 et F4] ont une masse de croissance qui varie entre (0,6 à 2g) à gamme de température (25 - 30°C). Ces résultats nous montrent qu'il y a une grande différence d'effet de température (Figure n° 17 Annexe n°2), à l'exception A1 et F2. On observe qu'il n'y a aucune croissance sur les erlenmeyers incubées de (20 à 40°C). L'étude statistique a confirmée cette remarque et on a trouvé qu'il y a une différence significative de la croissance à ces différentes températures ($P < 0,05$), donc la température est un facteur limitant la croissance fongique .

L'analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes températures présentée sur le (Tableau n° 09 en Annexe n° 3).

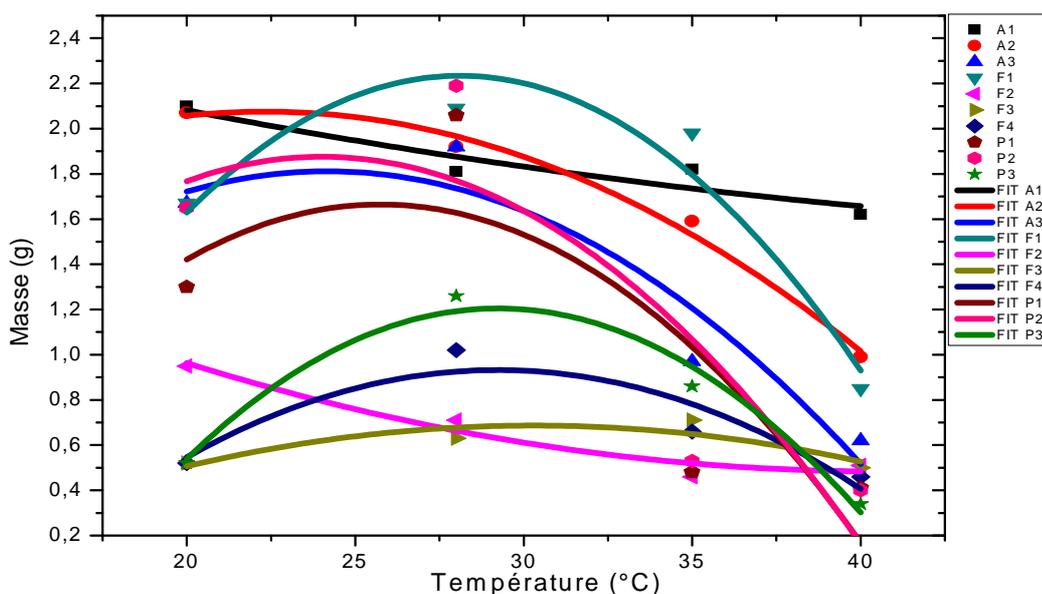


Figure n° 13: Influence de la température sur la croissance fongique selon une équation polynomiale d'ordre 2.

II.3.4. Influence pH sur la croissance fongique

Cette étude a été réalisée pour mettre en évidence la diversité de croissance à différents pH (4, 7, 11), ainsi que celui qui permet une croissance optimale. Le milieu PDB a été utilisé pour effectuer cette étude.

En se basant sur des mesures expérimentales nous avons développée un modèle empirique (équation polynomiale ordre 2) pour la prédiction de la croissance de différentes températures

$$M = A (\text{pH})^2 + B (\text{pH}) + C$$

M : masse **pH ;** **A ; B et C :** variables

Les résultats illustrés sur la Figures n° 13 représentent respectivement la masse de la croissance (6 jours) de chaque souche testée à chaque pH. D'après ces résultats, on remarque qu'il existe une grande variabilité de croissance entre les différentes souches (Figure n°18) en Annexe n°2.

En plus, toutes les souches ont une croissance optimale à pH 7. On remarque aussi qu'il y a une croissance moyenne à pH 7 et 9 et une faible croissance à pH 4 et 6.

Nous remarquons que la masse de croissance maximale est de (1,5g) pour la souche (P1). (P2) a une masse de (1,1g) et (A1) de (0,7g) à pH 7. Puis la masse de croissance minimale du pH 4 avec (0,5g).

L'étude statistique a confirmée cette remarque et on a trouvé qu'il n'y a pas une différence significative de la croissance à ces différents pH ($P > 0,05$).

L'analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différents pH et représentée sur le (Tableau n° 10) en Annexe n° 3.

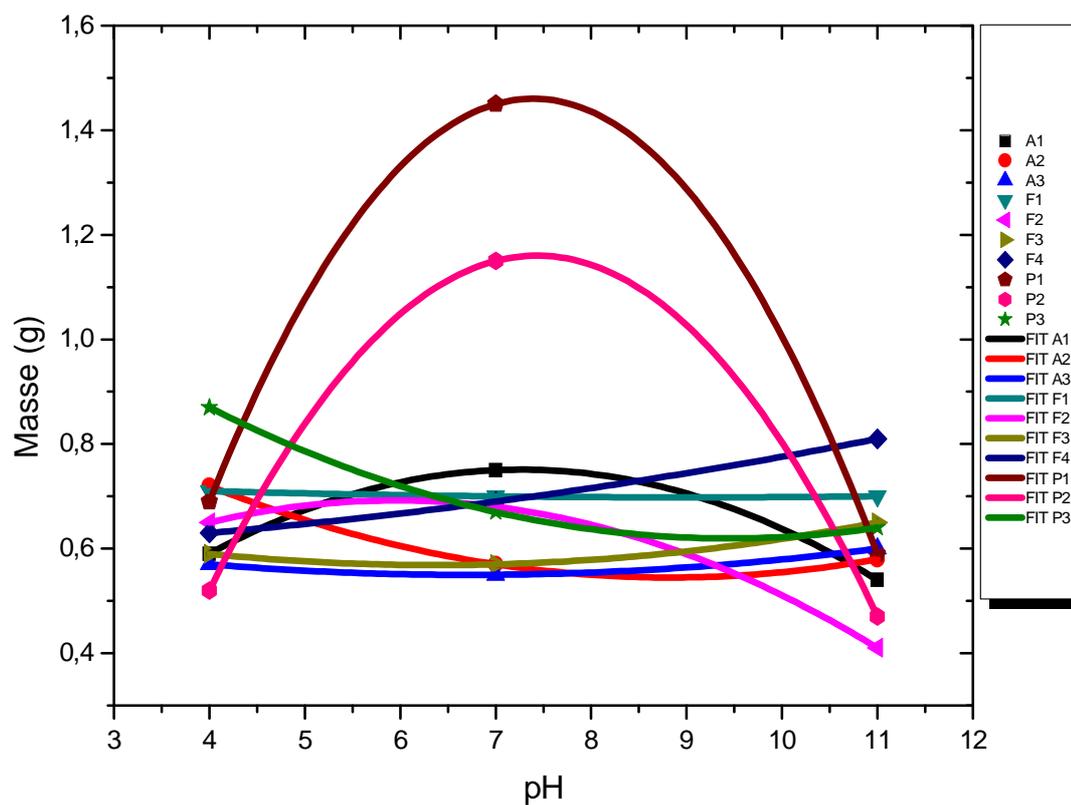


Figure n° 14 : Influence du pH sur la croissance fongique selon une équation polynomiale d'ordre 2.

Discussion

Les céréales sont la base de l'alimentation humaine, leur détérioration présente un danger menaçant la nutrition des hommes et des animaux domestiques.

Après l'isolement et la purification de ces moisissures sur milieu PDA, des études macroscopiques et microscopiques ont été effectuées pour identifier les souches mycéliennes isolées. Ces études ont permis de déterminer trois genres de moisissures qui sont *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*.

Parmi les échantillons analysés (orge, blé et maïs), l'orge s'est révélée sa richesse par la plus grande charge mycologique de l'ordre de (80 %). Alors que la moyenne totale des grains de maïs contaminés est d'environ 67,5 %, ceci a été confirmé par les travaux de Moussaoui (1994).

D'autres auteurs reportent que le maïs constitue un substrat approprié pour la croissance, le développement et l'activité des moisissures de détérioration (Cuero et al., 1987 et Lacey, 1990 in Oyebanji et Efiuwewewere, 2000). Nos résultats montrent que le taux de contamination du blé est de 55% par *Fusarium*, contrairement aux études de Benmansour Brixi(2005), qui ont trouvé que le taux de contamination de l'espèce *A. niger* est le plus dominant.

Les principales causes de détérioration des grains de céréales expliquées par des variations dans les paramètres régulant la croissance fongique et permettant la production de toxines sont nombreuses. On cite principalement la charge initiale en mycoflore, le pH et la température (Zia-Ur-Rahman, 2006). Les températures optimales de croissance varient en fonction des espèces de moisissures considérées. Chaque espèce est caractérisée par un minimum, un optimum et un maximum.

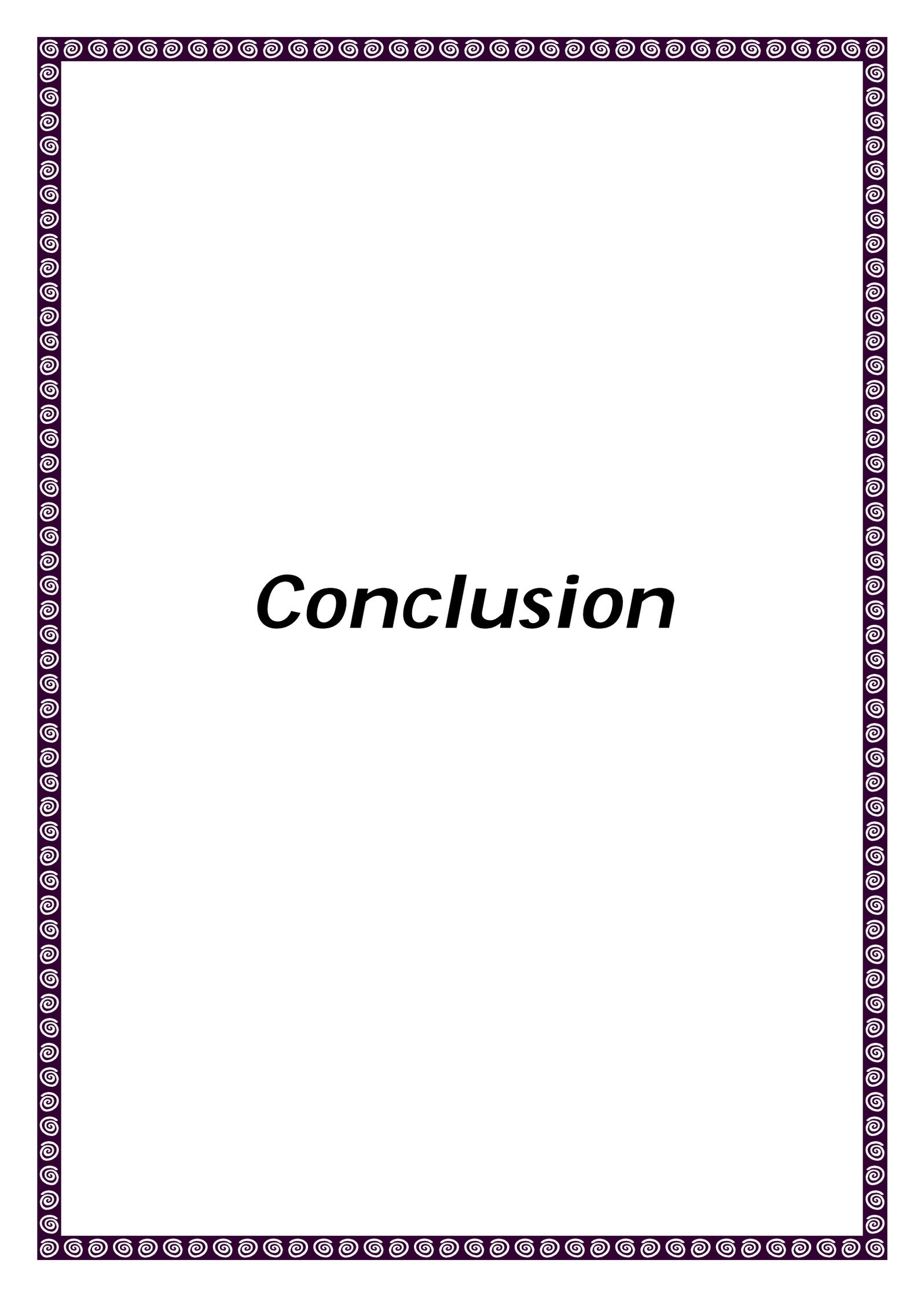
Dans nos résultats nous avons constaté que la variation de la température influence significativement la croissance fongique dans les céréales ; et on peut dire, que c'est le facteur limitant. Nous avons observé que *Fusarium* et *Penicillium* amorcent leurs croissances maximales entre (25-30°C), plus précisément à 28°C ; les *Aspergillus* se développent à des températures avoisinant les 30°C. Cette croissance diminue à 35°C et aucun développement du champignon à 40°C. Ces résultats sont confirmés par ceux de Derache (1986), qui a trouvé que la température a un rôle capital sur la croissance des champignons. Si une température de 20 à 30°C apparaît optimal pour la plupart des moisissures, la température moyenne de 20°C

permet la croissance de nombreuses espèces toxigènes. Entre 20 et 30°C apparaissent *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. Selon Riba et al., (2008), le manque de ventilation couplé à une température élevée, favorise la croissance de ces espèces xérotolérantes.

Nous avons enregistré un développement du champignon sur les pH étudiés. La variation du pH est statistiquement non significative. Cependant, on a noté un optimum de croissance à pH 8, qui diminue à pH 9 et pH 11 ; une faible croissance a été enregistrée à pH 4. Ces résultats sont confirmés par ceux des études de 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. Selon Giraud (1998), en général, les moisissures sont acidophiles (pH compris entre 3 et 7).

Les résultats de l'influence de la source de carbone sur la croissance fongique dans les grains de céréale ont montré que la variation des sources de carbones est statistiquement non significative. Nous avons noté que le *Fusarium* peut s'adapter et se développer sur le milieu glucose. Nos résultats sont concordants avec les résultats trouvés par (Yezli, 2017) qui ont trouvé que le glucose permet une croissance optimale de *Fusarium acuminatum*, ainsi que Li (2011), qui a basé ses études sur le *Fusarium semitectum*.

Les résultats de l'influence de la source d'azote sur la croissance fongique ont montré que la variation des sources d'azotes est statistiquement non significative. Nous avons noté une croissance fongique maximale des souches sur deux milieux (CDB- NaNO₃ et CDB- NH₄) et nous avons observé que la source d'azote la plus assimilable par ce champignon *Fusarium* est le NaNO₃. En revanche, (Yezli, 2017 ; Limami et Ameziane, 1997) ont trouvé que le champignon assimile mieux le NH₄SO₄.



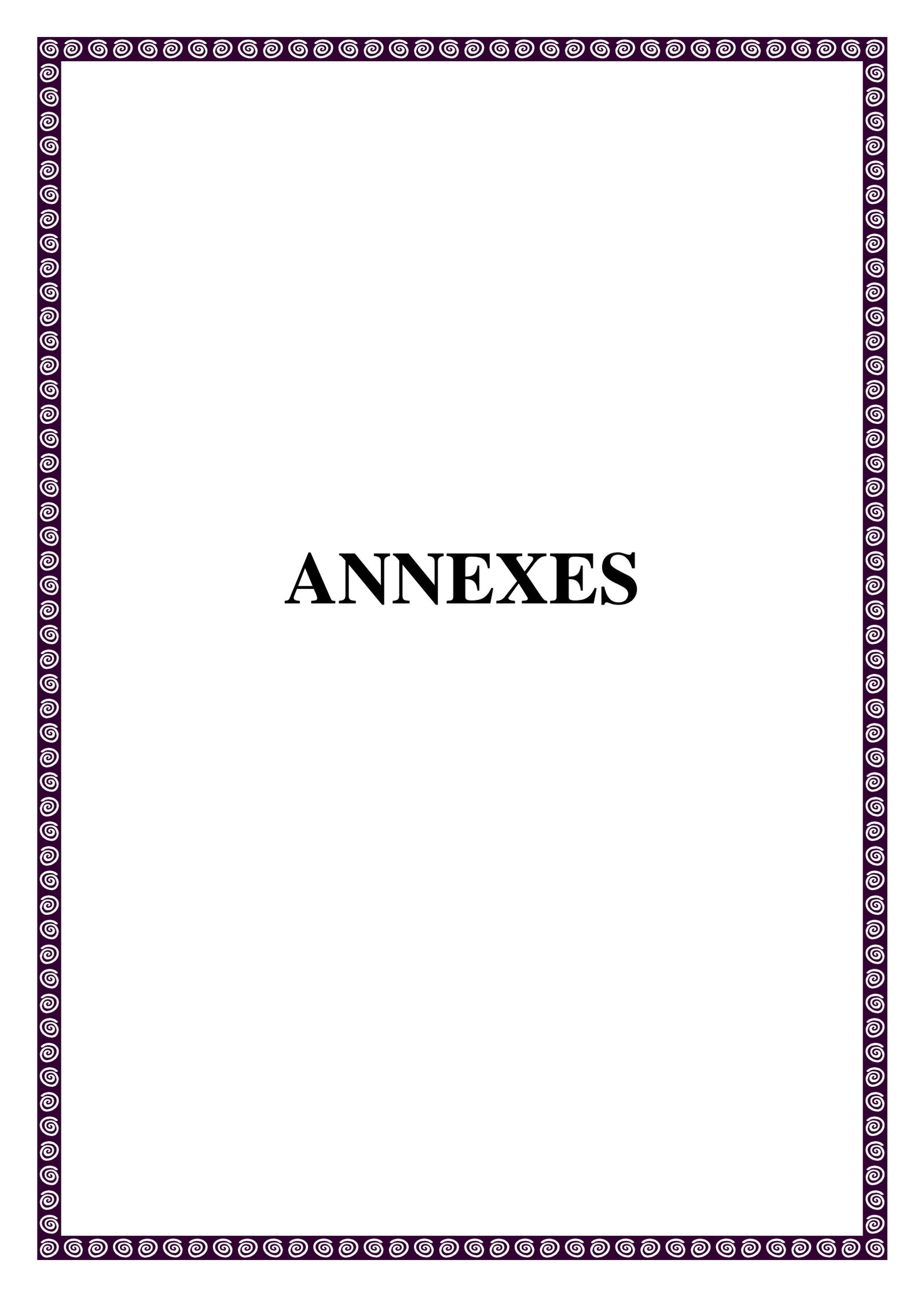
Conclusion

Conclusion

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes susceptibles de contaminer de nombreux produits destinés à l'alimentation des animaux et/ou des humains. Les céréales sont les matières premières les plus exposées à la contamination fongique. La conséquence possible d'un développement fongique incontrôlé est la production et l'accumulation des mycotoxines dans les aliments. Ce travail s'ajoute aux travaux réalisés en Algérie sur les mycotoxines contaminants les différentes denrées alimentaires, tel que les céréales.

Dans notre travail, nous avons utilisé 3 types de céréales (Blé, maïs et orge) commercialisés dans différentes communes de Tiaret (Tiaret, Tousnina et Ain kermes). Après l'isolement et l'identification de ces moisissures sur milieu PDA, les études mycologiques ont révélés la fréquence de contamination des échantillons par les *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*. Les résultats ont montré l'orge possède la plus grande charge fongique et une forte fréquence de contamination de ces céréales par *Fusarium*.

Les résultats des études des différentes caractéristiques physico-chimiques favorables à la croissance des champignons et à la production de mycotoxines ont montré que les analyses statistiques montrent que la variation de la source de carbone et d'azote, ainsi que le pH, n'influence pas significativement la croissance fongique. En revanche, La température influence significativement cette croissance. De ce fait, nous pouvons suggérer que la température est un facteur de limitant pour la croissance et la production des mycotoxines. comme perspective il nous reste d'étudier l'activité de l'eau et l'humidité d'une part identifier les mycotoxines par HPLC ainsi les souches mycotoxinogènes sur le plan moléculaire en fin étudier d'autres alternatives d'inhibition de la croissance fongique.



ANNEXES

ANNEXE N°1

Composition des milieux de culture

Milieu PDA (Potatos –Dextrose- Agar) pH 6,5 (Bouhot et Billotte, 1964).

Laver et couper les pommes de terre en petit morceaux (250g), les mettre dans 1000 ml d'eau distillée et porter à ébullition, ensuite filtrer et compléter avec :

Dextrose (Glucose)..... 20g
Agar.....20g
Eau distillé.....1000 ml

Milieu PDB (Potato-Dextrose-Broth).

Pomme de terre 250 g
Dextrose(Glucose) 20 g
Eau Distillée 1000 ml

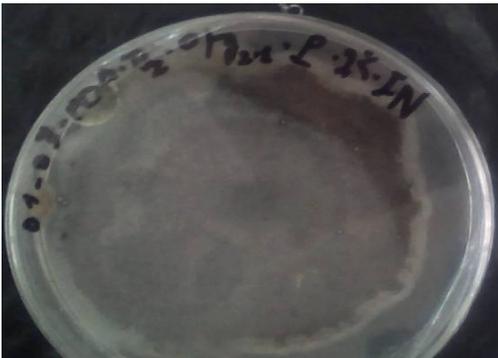
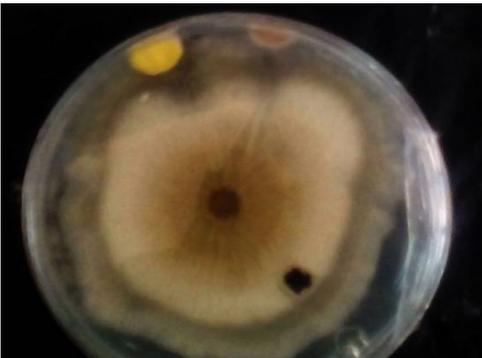
Milieu Agar 2 % (Downes et Ito, 2001).

Agar agar 20 g
Eau Distillée 1000 ml

Milieu CDB (Czapek- Dextrose- Broth) pH 6,5.

Sucrose30 g
KH₂PO₄1 g
KCl 0,5 g
Na₂No₃2 g
MgSO₄ 7H₂O 0,5 g
FeSO₄ 0,01 g
Eau Distillée 1000 ml

ANNEXE N °2

Face de colonie	L'envers de colonie
<p data-bbox="379 398 679 430"><i>Fusarium</i> (cotonneux)</p> 	
<p data-bbox="387 855 671 887"><i>Fusarium</i> (Duveteux)</p> 	
<p data-bbox="387 1312 695 1344"><i>Aspergillus</i> (Duveteux)</p> 	

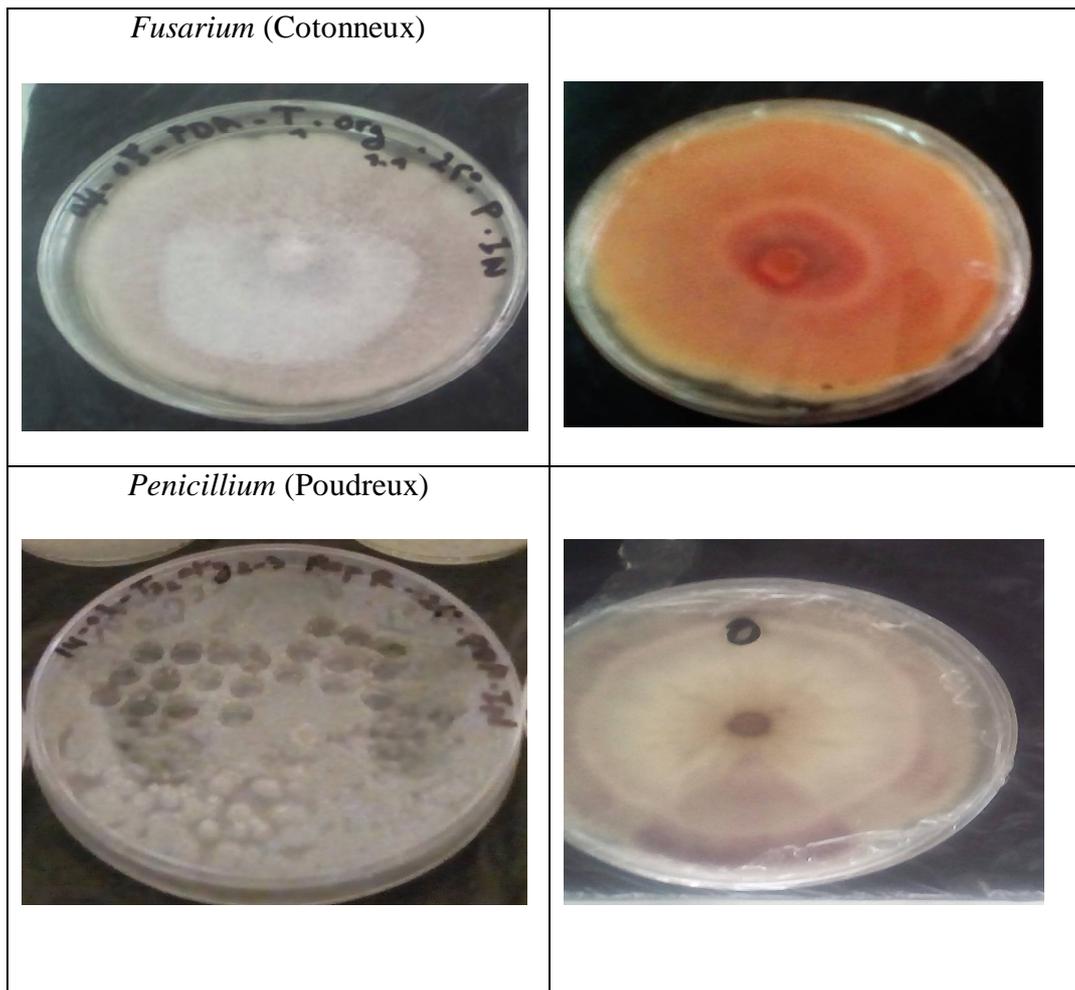


Figure n° 15: Observations macroscopiques des différents morphotypes obtenus.



Figure n° 16: Croissance fongique dans les souches cultivées avec les différentes sources de carbone.



Figure n° 17 : Croissance fongique des souches cultivées avec les différentes sources d'azote.

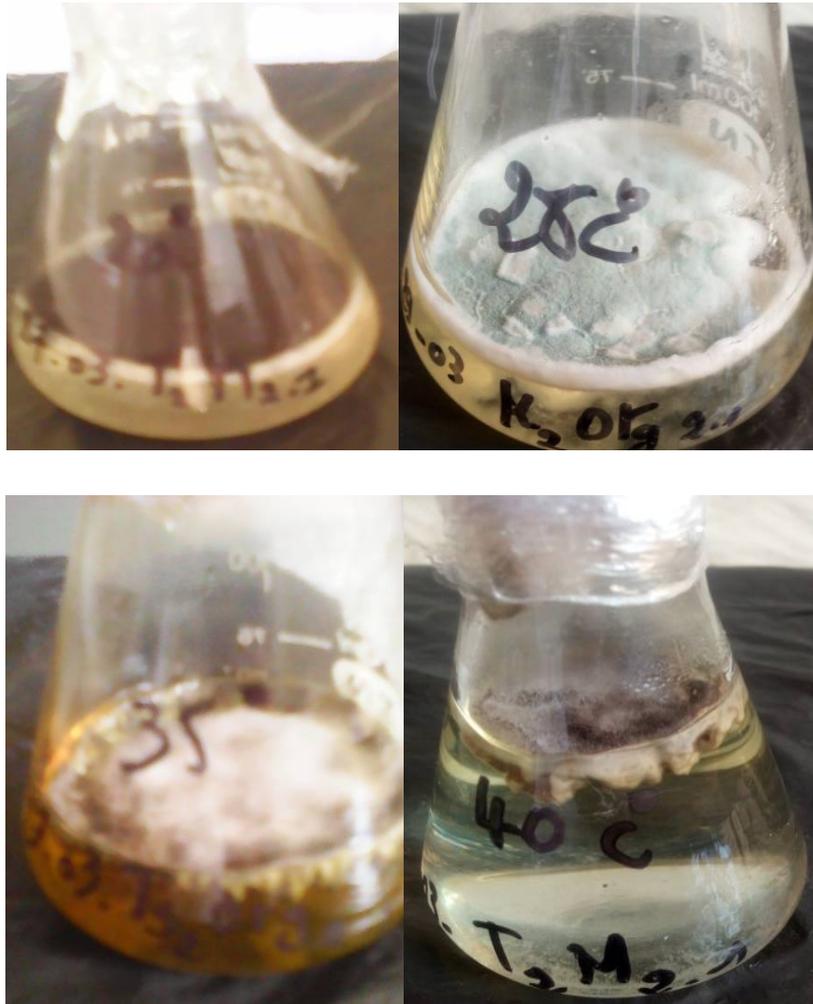


Figure n ° 18 : Croissance fongique des souches cultivées à différentes températures.



Figure n° 19: Croissance fongique des souches cultivées sur les différents pH.

ANNEXE N° 3

Tableau n° 07 : Analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes sources de carbone.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,064688	4	0,016172	1,14537986	0,34754177	2,57873918
A l'intérieur des groupes	0,63537	45	0,01411933			
Total	0,700058	49				

Tableau n° 08 : Analyse de variance à un facteur de la croissance sur les différentes sources d'azote.

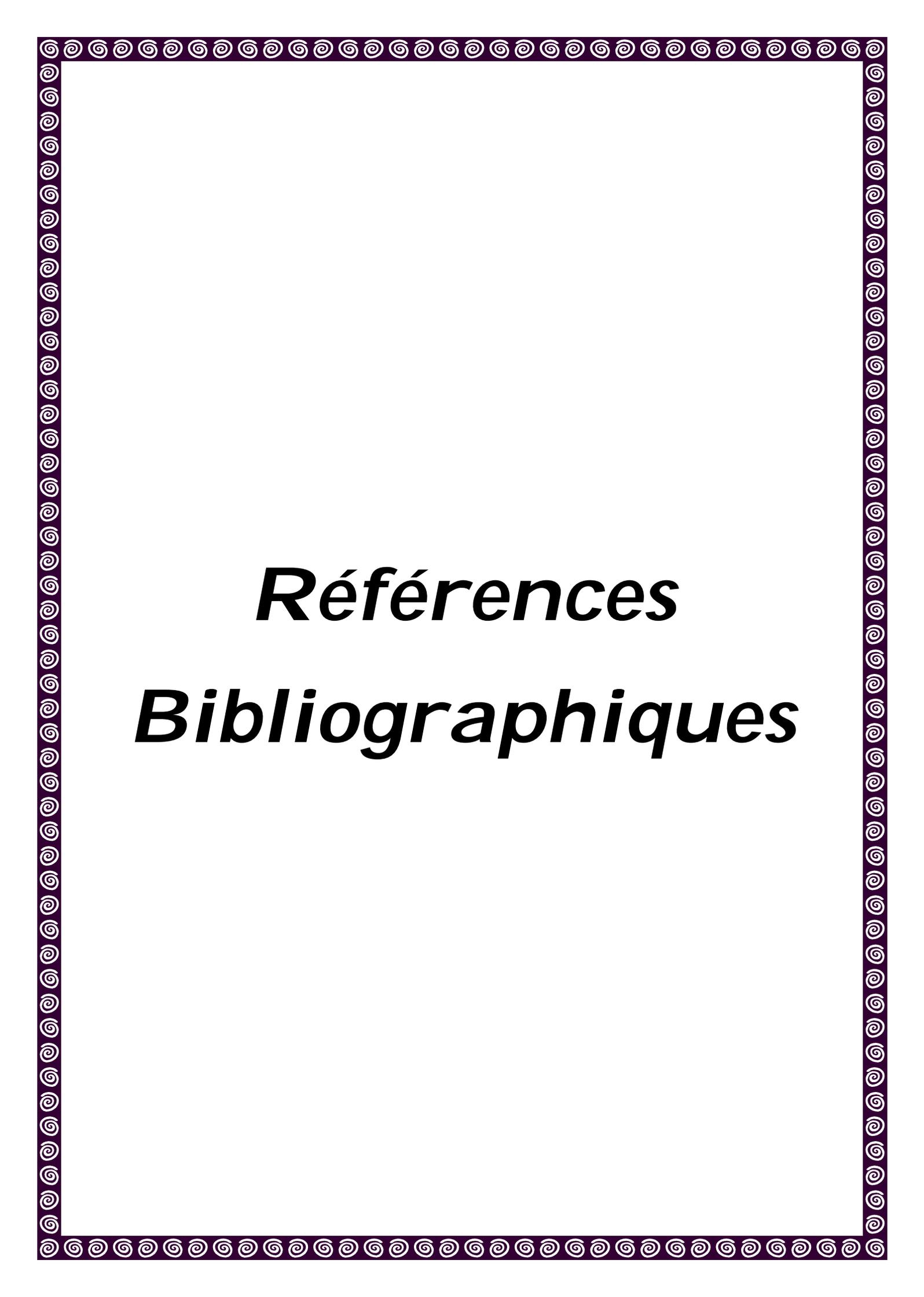
Source des variations	Somme descarrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,07997	3	0,02665667	2,36259786	0,08742457	2,86626556
A l'intérieur des groupes	0,40618	36	0,01128278			
Total	0,48615	39				

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	4,40577	3	1,46859	4,73452771	0,0069437	2,86626556
A l'intérieur des groupes	11,16674	36	0,31018722			
Total	15,57251	39				

Tableau n° 09 : Analyse de variance à un facteur de la croissance à différentes températures.

Tableau n° 10 : Analyse de variance à un facteur de la croissance à différentes pH.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur Critique pour F
Entre Groupes	0,16814	2	0,08407	2,34277369	0,11528809	3,35413083
A l'intérieur des groupes	0,96889	27	0,03588481			
Total	1,13703	29				



Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlick B., White N. D.G. (2001) Protection Des Céréales, Des Oléagineux Et Des Légumineuses A Grains Entreposés A La Ferme Contre Les Insectes, Les Acariens Et Les Moisissures. Ed. Centre De Recherche Sur Les Céréales. 58 P.
- Adams-Martin R., Moss-Maurice O. (2008). Food Microbiology. Rsc Publishing. The Royal Society Of Chemistry. Third Edition; P: 463.
- Afssa (2009), Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Aliments. Évaluation Des Risques Liés A La Présence De Mycotoxines Dans Les Chaînes Alimentaires Humaine Et Animale Rapport Final. Maison Alfort. 308p.
- Alban G., (2016). Les Mycotoxines Dans L'alimentation Et Leur Incidence Sur la Santé. Sciences Pharmaceutiques. P15.
- Anonyme, (2012) – *Aspergillus flavus* Et Autres Moisissures Productrices D'aflatoxines, Anses, 3p.
- Becker B., Feller A., El Alami M., Dubois E., Pierard A. (1998). A Nonameric Core Sequence Is Required Upstream Of The Lys Genes Of *Saccharomyces Cerevisiae* For Lys14p-Mediated Activation And Apparent Repression By Lysine, *Mol Microbiol* 29(1):151-63.
- Belli N., Marin S., Sanchis V., Ramos A. J. (2004). Influence Of Water Activity And Temperature On Growth Of Isolates Of *Aspergillus* Section *Nigri* Obtained From Grapes. *Inter. J. F. Microbiol.* P: 19-27.
- Belyagoubi L., (2006). Effet De Quelques Essences Végétale Sur La Croissance Des Moisissures De Détérioration Des Céréales. Mémoires En Vue De L'obtention Du Diplôme Du Magistère En Biologies Université A Boubekibel Kaid P : 12-15.
- Benmansour B., Gormat N., (2005). Étude Microbiologique Et Mycotoxicologique Des Blés Stockés Dans La Région De Tlemcen Et L'influence Des Facteurs Physiques Sur L'aflatoxinogénèse. Thèse De Magister, Algérie, Département De Biologie - Faculté Des Sciences, Université Djillaii Liabes - Sidi Bel Abbes -. 106 Pages.
- Boiron, P., (1996). Organisation Et Biologie Des Champignons. Edition Nathan. P : 13-19-69-79.
- Booth, C., (1984). The *Fusarium* problem: Historical, Economic and Taxonomic Aspects. In The Applied Mycology Of *Fusarium*. Symposium Of The British Mycological Society

- Held At Queen Mary College, London, September 1982. (Pp. 1-13). Cambridge University Press.
- Botton B., Beton A., Fever M., Gaithier S., Guy P. H., Larpent J. P., Reymond P., Sanglier J. J., Vayssie Y., Veau P., (1990). Moisissres Utiles Et Nuisibles Impotance Industrielle. 2eme Edition. Masson .Collection Beotechnologies. P : 34-428.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1999). Moisissures Utiles Et Nuisibles. Importance Industrielle. Masson. Paris. P : 12-426.
- Boudra H., (2009). Les Mycotoxines Dans Les Fourrages : Un Facteur Limitant Insidieusement La Qualité Des Fourrages Et Les Performances Des Ruminants, *Fourrages*, 199, 265-280.
- 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.
- Bousseboua H. (2003). Cour De Microbiologie Générale. Protistes Eucaryotes. Edition Université Mentouricnstantine. P : 9-13.
- Bradburn N., Coker R. D., Blunden G. (1994). The Aetiology Of Turkey X Disease. *Phytochemistry* 35(3), 817.
- Brochard G., Le Bâcle C. (2009). Les Mycotoxines En Milieu De Travail. Documents Pour Le Médecin Du Travail N°119. Inrs
- Carlile M. J., Watkinson S. C. (1996). The Fungi As A Major Group Of Organisms. In “The Fungi”. Academic Press. London. Pp : 1-7.
- Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T., Villard J. (2005). Moisissures Et risques alimentaires mycotoxicoses. *Revue Francophone des Laboratoires*, N°373 :61-66.
- Christensen C. M., Meronuk, R.A., Sauer D. B. (1982). Microflora. Chapter 9. In: Storage Ofcereal Grains And Their Products (Christensen C. M. Ed), American Association Of Cerealt Chemists, St. Paul, Pp 219-240
- Cuero R.G., Smith J.E., Lacey J. (1987). Interaction Of Water Activity, Temperature And Substrate In Mycotoxin Production By *Aspergillus Flavus*, *Penicillium Viridicatum* And *Fusarium graminearum*, In Irradiated Grains. Transactions Of The British Mycological Society, 89, 221-226.
- Damien D, Toffa (2015). Étude De La Contamination De Certains Aliments D’origine Végétale De La République Du Niger Les Moisissures Toxinogènes. Thèse De Doctorat. Université Mohammed V Faculté Des Sciences Rabat ; P 8-9.

- Darwish1 W. S., Ikenaka Y., Nakayama S. M. M., Ishizuka M. (2014). An Overview On Mycotoxin Contamination Of Foods In Africa, *Journal Of Veterinary Medical Science*, 76(6): 789–797.
- Davet P. (1996). Vie Microbienne Du Sol Et Production Végétale. Inra. Paris. P : 52-57.
- Davet, P., Rouxel, F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. Editions Quae.
- Delgado-Jarana J., Rincon A. M., Benitez T. (2002). Aspartyl Protease From *Trichoderma harzianum* Cect 2413: Cloning And Characterization. *Microbiology*. 148: 1305- 1315
- Derache R. (1986). Toxicologie Et Sécurité Des Aliments, Technique Et Documentation-Lavoisier.P199-209.
- Derache R .Toxicologie Et Sécurité Des Aliments ;Technique Et Documentation-Lavoisier, 1986.P206.
- Derache R .Toxicologie Et Sécurité Des Aliments ;Technique Et Documentation-Lavoisier, 1986.P205.
- Desai, U., Andoji, Y., &Kamble, S. (2016). Influence Of Temperature And Different Culture Media On Growth Of *Fusariumu dum*(Butler), Causal Organism Of Wilt Of Pigeonpea. *International Journal Of Biologicalresearch*, 4(1), 42-45.
- Dongmo A. L. (2009). Troupeaux, Territoires Et Biomasses : Enjeux De Gestion Pour Un Usage Durable Des Ressources Au Nord-Cameroun. Thèse De Doctorat, Agroparistech, Paris, France, 236 P, Consulté En Juillet 2015, Disponible Sur [https://Tel.Archives-Ouvertes.Fr/Pastel-00005304/Document](https://tel.archives-ouvertes.fr/Pastel-00005304/Document).
- Duron B.S., 1999.- Le Transport Maritime Des Céréales. Mémoire De D.E.S.S. Université D'aix-Marseille, 81 P.
- Eol(2014) .[Http://Eol.Org/Pages/16436/Names](http://Eol.Org/Pages/16436/Names)(Consulté Le 24-05-2018.)
- Farooq, S., Iqbal, S. M., &Rauf, C. A. (2005). Physiological Studies Of *Fusarium oxysporum*f. Sp. *Ciceri*. *Int. J. Agri. Biol.*, 7(2), 275-277.
- Gacem M.A., Ould El Hadj K.A And Gacemi B. (2012). Etude de la Qualité physicochimique et mycologique du Blé tendre local et importe stocke au Niveau De L'office Algérien Interprofessionnel des Céréales (Oaic) de la localite de Saida (Algérie). *Alg.J.Env. P* :67-76.
- Gelinas P., 1995-Répertoire Des Micro-Organismes Pathogènes Transmis Par Lesaliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.
- Giraud J. (1998).Microbiologie Alimentaire. Edition Donod, Paris. P : 98

- Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., Davis R.W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J.D., Jacq C., Johnston M., Louis E.J., Mewes H.W., Murakami Y., Philippsen P., Tettelin H., Oliver S.G., Life With 6000 Genes. *Science*, 1996, 274, 546, 563–547
- Guezlane-Tebibel, N., Kahlouche, B., & Athmani-Guemouri, S. (2011). *Microbiologie (Travaux Pratiques)*. 4ème Edition Corrigée, *Opu*. Algérie.
- Guiraud J-P Et Galzy P ,(1980).L'analyse Microbiologique Dans Les Industries Alimentaires. Ed .Usine Nouvelle (Paris).P 98.
- Hamou,M., Labdi, M. et Hamdi, S. (2009). Problématique de la Céréaliculture Et Perspectives De Développement De L'agriculture. Mostaganem –Algérie, 12-13 Janvier. 8-15.P.
- Henni, J., Boisson, C., & Geiger, J. P. (1994b). Variabilité De La Morphologie Chez *Fusarium oxysporum*f. Sp. *Lycopersici*. *Phytopathologia mediterranea*, 51-58.
- Intercéréales (2014). Guide Interprofessionnel De Gestion Des Mycotoxines Dans La Filière Céréalière - Edition 2014. [Http://Www.Negoce-Centre-Atlantique.Com / Modules / Doc / Public/Get.Php?Id_Doc=393](http://Www.Negoce-Centre-Atlantique.Com/Modules/Doc/Public/Get.Php?Id_Doc=393).
- Jean-François Quillien . Institut National De La Recherche Agronomique France October 2002.P4
- Joffin C., Et Joffin J-N. (2003). *Microbiologie Alimentaire. Biologie Et Technique*, 5è Edition, *Crdp Aquitaine*, 212p.
- Jouany, 3.-P., Yiannikouris, A., 2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, Leur devenir Et Leurs Effets Chez L'animal. *Inra Productions Animales*, Février 2002, 15 (1),Pp. 3-16.
- Julien R. (2002). Les Moisissures Parlons-En. *Objectif Prevention*. 25 (4) P : 7-8.
- Krska R. (2009). Mycotoxins. *Anal Bioanal Chem*. 395: 1203–1204.
- 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 Midi-pyrénées" A Toulouse, Le 18 Septembre 1987.
- Leclerc F. C., Papon N., Noel T., Villard J.(2005). Moisissures Et Risques Alimentaires (Mycotoxicoses). *Revue Francophone Des Laboratoires*. **373** : 61-66.
- Leclerc H., Gaillard J.L And Simonet M. (1995). *Microbiologie Générale. La Bactérie Et Le Monde Bactérien*. Edition Doin, Paris.P:119-133-134-194.
- Leveau S. B. & Bouix M. (1993). Les Microorganismes D'intérêt Industriel. *Lavoisier Microbiologie De La Sécurité Et De La Qualité Des Aliments*. Lavoisier. Paris. P : 216-244.

- Li, Y. (2011). Biology Characteristic Determination Of *Fusarium Semitectum* In Soybeans. *Advances In Biomedical Engineering*, 3(5), 76-80.
- Limami, A., & Améziane, R. (1997). Nutrition Azotée (No3) Et Distribution De Carbone Dans La Plante [Nitrogenized Nutrition (No3) And Distribution Of Carbon In The Plant]. *Assimilation De L'azote Chez Les Plantes*, 249-259.
- Miller J. D. (1994). Fungi As Contaminants In Indoor Air. *Atmospheric Environment*, 26, 2163–2172.
- Moreau C. Moisissures Toxiques Dans L'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 1994. 322p.
- Moussaoui, A. (1994). دراسات (Zeamaysl) في مختلف مراحل تحويلاتها الصناعية في معمل مغنية على الدرّة ميكروبيولوجية على الدرّة Thèse De Magister, Algérie, Institut De Biologie - Faculté Des Sciences, Université Aboubekr Belkaid De Tlemcen. 148 Pages.
- Mycotoxin Production By Pure Fungal Isolates Analysed By Means Of An Uhpplc-Ms/Ms Multimycotoxinmethod With Possible Pitfalls And Solutions For Patulin-Producing Isolates. *Mycotoxres*. 1-11.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Cook, R. J. (Eds.). (1981). *Fusarium: Diseases, Biology, And Taxonomy* (P. 457). University Park: Pennsylvania State University Press. In : Ma, L. J., Van Der Does, H. C., Borkovich, K. A., Coleman, J. J., Daboussi, M. J., Di Pietro, A., &Houterman, P. M. (2010). Comparative Genomics Reveals Mobile Pathogenicity Chromosomes In *Fusarium*. *Nature*, 464(7287), 367-373.
- Nguyen Minh Tri M. Identification Des Espèces De Moisissures, Potentiellement productrices De Mycotoxines Dans Le Riz Commercialise Dans Cinq Provinces De Laregion Centrale Du Vietnam - Etude Des Conditions Pouvant Reduire La Production Des mycotoxines. Thèse De Doctorat D'université : Génie Des Procédés Et De L'environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique. France. 2007. 147p.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R. (2000). *L'essentiel En Microbiologie*. Edition Berti. P : 210-216.
- Oyebanji, A.O. And Eiiuvwevwere, B.J.O. 2000. Growth Ofspoilage Mould And Aflatoxin B1production In Naturaily Contaminated Or Artificially Inoculated Maize As Influenced By Moisturecontent Under Ambient Tropical Condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Volume 44, Issue 4, Decembre 1999, Pp. 209- 217.
- Pamel E. V., Vlaemyneck G., Heyndrickx M., Herman L., Verbeken A., Daeseleire E. (2010).
- Petrova-Bocharova T., Chernozemsky I. N., And Castegnaro M. (1988). Ochratoxin A In Human Blood In Relation To Balkan Endemic Nephropathy And Urinary System Tumours In Bulgaria, *Food Additives And Contaminants* 5, 299-301.

- Pfohl-Leszkowicz A. (1999). Les mycotoxines dans L'alimentation, evaluation et gestion du risque. Lavoisier, Paris. P: 478.
- Pfohl-Leszkowicz A., Bartsch H., And Azemar B. (2002). Mesna Protects Rats Against Nephrotoxicity But Not Carcinogenicity Induced By Ochratoxin A, Implicating Two Separate Pathways, *Facta Universitatis*; 9:57.
- Piškur J., Rozpędowska E., And Polakova S. (2006). How Did Saccharomyces Evolve To Become A Good Brewer ? *Trends Genet.* 22, 183–186. Doi: 10.1016/J.Tig.2006.02.002.
- Pitt J. I., 1985. The Genus *Penicillium*. Edition: Academic Press. 634p.
- Pitt J. L. (1988). Laboratory Guide To Common *Penicillium* Species. Academicpress, London, 37- Ramirez.
- Ramteke, P. K., & Kamble, S. S. (2011). Physiological Studies In *Fusarium solanicum* causing Rhizome Rot Of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *The Bioscan*, 6(2), 195-197.
- Rathore, S. S., Saxena, S. N., Shrama, Y. K., Mishra, B. K., & Singh, B. (2015). Effect Of Ph And Salt Levels On Growth Of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cuminii* isolate From Cumin. *International Journal Of Seedspices*, 5(1), 100-101.
- Reboux G., 2006.- Mycotoxines: Effets Sur La Santé Et Interactions Avec D'autres Composants Organiques. *Revue Française D'allergologie*, 46: 208-212.
- Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F., et Million L., 2008- Pollution Atmosphérique, Moisissures Et Habitat : Risques Pour La Santé Et Espèces Impliquées, *Revue Française D'allergologie* 50 : 611–620.
- Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F., Et Million L., 2010- Pollution Atmosphérique, Moisissures Et Habitat : Risques Pour La Santé Et Espèces Impliquées, *Revue Française D'allergologie* 50 : 611–620.
- Riba A., Sabaou N., Mathieu F And Lebrihi A. (2005). Premières Investigations Sur Les Champignons Producteurs D'ochratoxine A Dans La Filière Céréale En Algérie. Symposium Euro-Maghrébin Sur Les Contaminants Biologiques Chimiques Et La Sécurité Alimentaire, Fès.
- Ruppel P., Delfosse Ph, 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.* 148: 141-146.
- Santos L., Marin S., Sanchis V., And Ramos A. J. (2009). Screening Of Mycotoxin Multicontamination In Medicinal And Aromatic Herbs Sampled In Spain. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 89, 1802 - 1807.

- Tabuc C.(2007). Flore Fongique De Differentes Substrats Et Conditions Optimales De Production Des Mycotoxines. Thèse De Doctorat D'université : Pathologie, Mycologie, Genetique Et Nutrition. Toulouse : L'institut National Poly Technique Et De L'université De Bucarest. France.P: 16-190.
- Trenholm H.L., Foster B.C., Charmley L.L., Thomson B.K., Hartin K.E., Coppock R.W., Albassam M.A., 1994. Effects Of Feeding Diets Containing Fusarium (Naturally) Contaminated Wheat Or Pure Deoxynivalenol (Don) In Growing Pigs. *Can. J. Anim. Sci.*, 74, 361-369.
- Urbanek H., Yirdaw G. (1984). Hydrolytic Ability Of Acid Protease Of *Fusarium Culmorum* And Its Possible Role In Phytopathogenesis. *Acta Microbiol. Pol.* **33** (2) P : 131.
- 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.
- Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perroneg. Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T., Samson R.A., 2014- Identification And nomenclature Of The Genus *Penicillium*, *Studies In Mycologie*, Vol 78 : 343- 371.
- Waffa E. W., Yahya R. S., Sobh M. A., Eraky I., El Baz M., El Gayar H. A. M., Betbeder., A. M., And Creppy E. E. (1998). Human Ochratoxicosis And Nephropathy In Egypt: A Preliminary Study, *Human Experimental Toxicology*, 17,124-129.
- www.Telmeds.Org
- Yezli W. (2017), Biodiversité Et Ecologie De *Fusarium*. Thèse De Doctorat. Université D'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie ; P 133.
- Zia-Ur-Rahman K., 2006. Storage Effect On Nutritional Quality Of Commonly Consumed Cereals. *Food Chemistry*, 95: 53-57
- Zinedine A., Juan C., Soriano J., Moltó J., Idrissi L., And Mañes J. (2007). Limited Survey For The Occurrence Of Aflatoxins In Cereals And Poultry Feeds From Rabat, Morocco, *International Journal Of Food Microbiology*, Vol.115, No.1, Pp. 124–127, Issn 0168-1605.

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail est d'isoler et d'identifier les différentes souches fongiques obtenues à partir des grains de céréales, ainsi d'étudier l'influence des facteurs physicochimiques sur la croissance fongique. Trois échantillons de céréales qui sont le blé, maïs et orge ont été prélevés dans différents points de vente au niveau de la wilaya de Tiaret. Après l'isolement et la purification de ces moisissures sur milieu PDA, l'identification nous a permis d'obtenir 33 souches fongiques appartenant à 3 genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. L'étude de l'influence des facteurs physicochimiques a montré que le pH, la source de carbone et d'azote n'influencent pas significativement la croissance des moisissures. Par contre, la température influence significativement le développement des champignons testés.

Mots clés : Céréales, moisissures, mycotoxines, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, facteurs physicochimiques.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو عزل و تحديد السلالات الفطرية المختلفة التي تم الحصول عليها من الحبوب ، و ذلك لدراسة تأثير العوامل الفيزيوكيميائية على نمو الفطريات. تم جمع الحبوب من مناطق مختلفة في ولاية تيارت. عزل وتنقية هذه الفطريات على وسط PDA من التعرف على 33 سلالة فطرية تنتمي إلى 3 أنواع *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium*. وأظهرت دراسة تأثير العوامل الفيزيو- كيميائية أن العامل الهيدروجيني ومصدر الكربون والنيتروجين ليس لهم تأثير فعال على نمو الفطريات. من ناحية أخرى ، تؤثر درجة الحرارة بشكل فعال على نمو الفطريات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: الحبوب، الفطريات ، السموم الفطرية ، العوامل الفيزيائية الكيميائية، *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium*.

ABSTRACT

The objective of this work is to isolate and identify the different fungal strains obtained from cereal grains, and studying the influence of physicochemical factors on fungal growth. Three cereal samples which are wheat, Maize and barley were collected from various regions in Tiaret wilaya. After isolation and purification of these fungi on PDA medium, the identification allowed us 33 fungal strains belonging to 3 genera *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. The study of the influence of physicochemical factors showed that the pH, the carbon and nitrogen source do not influence significantly the fungal growth of On the other hand, the temperature influences significantly the development of the fungi tested.

Key words: Cereals, fungi, mycotoxins, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, physicochemical factors