

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE  
L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Parasitologie

**Thème :**

---

**Recherche des moisissures dans les aliments des ruminants**

---

**Présenté par :** - Doghmani Nour elhouda

- Rezaiguia Djanette
- Ferdi Khaoula

**Devant le jury composé de :**

- |                                   |       |                             |
|-----------------------------------|-------|-----------------------------|
| - Président : Mr. Chemmam M.      | Prof. | Université 8 Mai 45 Guelma. |
| - Examinatrice : Mme Boumaaza A.  | M.C.B | Université 8 Mai 45 Guelma. |
| - Encadreur : Mme Benerbaiha R.S. | M.A.A | Université 8 Mai 45 Guelma. |

**Juin 2022.**

## **REMERCIEMENTS**

Nous remercions *Dieu* de nous avoir donné la force pour réaliser ce travail.

**A Monsieur le professeur CHEMMAM M.**

Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Hommage respectueux.

**A Madame le docteur BOUMAAZA A.**

Qui a accepté d'examiner ce mémoire.

Sincères remerciements.

**A Madame BENERBAIHA R.S.**

Que nous remercions particulièrement pour ses précieux conseils, sa disponibilité et sa bienveillance.

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre gratitude.

**A Madame BOUCHEBOUT. L.**

Qui a fait un grand effort et nous a aidé à réaliser ce présent mémoire.

Toute notre gratitude.

**A Monsieur Hemici . A** pour son aide.

**A toutes les personnes qui nous ont aidés à réaliser ce travail.**

Un grand Merci

## *Dédicaces*

*A Celui qui m'indique la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes à mon père Nour Eddine*

*A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation, à ma mère Fatiha bouslah*

*A vous les chères êtres à mon cœur : mes chers frères Saief, Fares, Tarek et ma sœur Lina*

*A ma grand-mère Yamina*

*A tous les membres des familles Doghmani et Bouslah*

*A celles dont l'amitié m'est fierté et bonheur : Djanette, Chahrazed, Roumaissa, Bouchra, Karima Amina, Sihem, Loubna, Roumaissa et Warda.*

*A mes collègues de promotion pour les bons moments que nous avons*

*Partagés durant ces dernières années.*

*A tous mes professeurs de l'école primaire jusqu' à cette année.*

*Nour el houda*

## *Dédicaces*

*Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail que je dédie A :*

*Mon cher père, je prie dieu d'avoir pitié de lui et de lui accorder le paradis.*

*Ma chère mère qui ma source d'énergie, elle a été à mes cotes et n'a jamais cessé de m'encourage, c'est votre succès et le résultat de ton travail.*

*A mes cher frères Abdel Ghani ; Mohamed ; Abdel Rezek ; et Ramadan que dieu ait pitié de toi.*

*A mes cher sœurs Lousifa ; Fadila ; Halima ; sana*

*A mes neveux Youcef ; Younes ; Adam ; kousay ; Salah saif el dine*

*A morceau de cœur ma fille alla.*

*A mon encadreur Mme benrbiha merci pour vos efforts avec nous qui mérite tous mon respect et tribut.*

*Mes chères amies ; Abla ; Nadjla ; Dounia je vous aime.*

*A tous ceux qui sont proche de nos cœurs.*

*Khawla*

## *Dédicaces*

*A mes chers parents, Amor et Maseouda pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études*

*A mes chères sœurs, Nouara et Rabia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*A mes chers frères, Abdelkader et Abderraouf pour son appui et ses encouragements*

*A tous les membres de la famille Rezaigui pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire*

*A mes collègues de promotion pour les bons moments que nous avons partagés ensemble*

*À toutes mes amies qui m'ont encouragé dans les moments difficiles*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible*

*Merci d'être toujours là pour moi*

*Djanette*

# Sommaire

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction.....1

### **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. les moisissures .....3**

### 1. Définition .....3

### 2. Classification .....3

### 3. Morphologie et structure .....5

### 4. Biologie et écologie des moisissures .....7

#### 4.1. Reproduction des moisissures .....7

##### 4.1.1. Reproduction sexuée .....8

##### 4.1.2. Reproduction asexuée .....9

#### 4.2. Conditions de croissance des moisissures.....9

##### 4.2.1. Facteurs nutritionnels .....9

###### 4.2.1.1. Source de carbone et d'énergie .....9

###### 4.2.1.2. Source d'azote.....9

###### 4.2.1.3. Les éléments minéraux.....10

###### 4.2.1.4. Besoin en vitamines et en facteurs de croissance .....10

##### 4.2.2. Facteurs environnementaux .....12

###### 4.2.2.1. L'activité de l'eau ou l'Aw .....12

###### 4.2.2.2. La température .....12

###### 4.2.2.3. Le pH .....12

###### 4.2.2.4. L'oxygène .....13

###### 4.2.2.5. La lumière .....13

#### 4.3. Ecologie des moisissures.....14

## **II. Les moisissures toxinogènes**

### 1. Les principales moisissures toxinogènes .....14

#### 1.1. Genre Fusarium .....14

##### 1.1.1. Critères d'identification .....15

###### 1.1.1.1. Microscopiques .....15

###### 1.1.1.2. Microscopiques .....15

1.1.2. Importance .....	17
1.2. Genre Aspergillus .....	18
1.2.1. Critères d'identification .....	18
1.2.1.1. Macroscopiques .....	18
1.2.1.2. Microscopiques .....	19
1.2.2. Importance .....	20
1.3. Genre Penicillium .....	20
1.3.1. Critères d'identification .....	21
1.3.1.1. Macroscopiques .....	21
1.3.1. 2. Microscopiques .....	22
1.3.2. Importance .....	22
1.4. Genre Alternaria .....	22
1.4.1. Critères d'identification .....	23
1.4.1. 1. Macroscopiques .....	23
1.4.1. 2. Microscopiques .....	23
1.4.2. Importance .....	24
1.5. Genre Claviceps .....	24
1.5.1. Critères d'identification .....	24
1.5.1.1. Macroscopiques .....	24
1.5.1. 2. Microscopiques .....	25
1.5.2. Importance .....	26
2. Les types de moisissures toxinogènes .....	26
2.1. Les moisissures de champ .....	26
2.2. Les moisissures de stockage .....	26
<b>III. Les aliments de bétail : contamination, conséquences et prévention</b>	
1. Contamination des aliments de bétail par les moisissures .....	27
1.1. Les fourrages .....	27
1.2. L'ensilage .....	27
1.3. Foin et paille .....	27
1.4. Le concentré .....	28
2. Les conséquences d'un développement fongique .....	28
2.1. Altération de la valeur alimentaire et des qualités organoleptiques .....	28
2.2. Effets sur la santé animale et humaine .....	28
3. Contrôle du développement des moisissures .....	29

3.1. Les bonnes pratiques de cultures .....	29
3.2. Les bonnes pratiques de stockage .....	30

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>I. Matériel et méthodes</b> .....	31
1. Examen mycologique des aliments des ruminants .....	31
1.1. Échantillonnage des aliments .....	31
1.2. Les milieux de culture .....	33
1.2.1. Préparation des milieux de culture .....	33
1.2.2. Ajustement du potentiel d'hydrogène .....	34
1.2.3. Stérilisation des milieux de culture .....	35
1.2.4. Addition de l'antibiotique .....	35
1.3. Coulage des milieux de culture en boîtes Petrie .....	35
1.4. Isolement, repiquage et purification des moisissures .....	36
1.4.1. Technique d'isolement .....	36
1.4.2. Repiquage et purification .....	37
1.5. Identification des moisissures .....	37
1.5.1. L'observation macroscopique .....	37
1.5.2. Observation microscopique .....	37
1.6. Expression des résultats .....	38
<b>II. Résultats</b> .....	39
1. Identification des moisissures contaminant les aliments des ruminants .....	39
2. Prédominance de la mycoflore totale isolée .....	50
3. Résultats de l'analyse des échantillons d'aliments par ferme .....	51
4. Résultats de l'analyse mycologique par aliment .....	68
<b>III. Discussion</b> .....	69

## **Conclusion**

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Résumé**

## **Abstract**

## **المخلص**

## Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Les classes de Mycètes	4
02	L'aspect des différents thalles mycéliens	6
03	La structure de la paroi fongique	7
04	La reproduction des moisissures	8
05	Résumé de l'utilisation de l'azote par les champignons	11
06	Aspect macroscopique de <i>Fusarium spp</i>	16
07	La croissance du thalle de <i>Fusarium</i>	17
08	Espèces d' <i>Aspergillus</i> identifiées à partir d'échantillons de graines d'arachide	19
09	Tête aspergillaire bisériée	20
10	Aspect macroscopique de <i>Penicillium</i>	21
11	Aspect macroscopique d' <i>Alternaria alternata</i>	23
12	<i>Alternaria alternata</i> observée au microscope	23
13	Sclérote de <i>Claviceps microcephala</i>	25
14	Forme microscopique de <i>Claviceps purpurea</i>	25
15	Les différents types d'aliments analysés	32
16	Milieu de culture sur agitateur magnétique chauffant	34
17	Mesure et ajustement du pH d'un milieu de culture	34
18	Milieu gélosé en surfusion	36
19	Technique d'isolement	36
20	Colonies de moisissures poussant sur différents milieux de culture après 7 jours d'incubation.	41
21	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de luzerne triade	41

22	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de Vbl 17	42
23	Aspect macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d' <i>Aspergillus fumigatus</i> sur milieu MEA d'un échantillon de Vesce versé variété	42
24	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Penicillium citrinum</i> sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de luzerne triade	42
25	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Penicillium citrinum</i> sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de luzerne triade	43
26	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Penicillium sp1</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon d'orge	43
27	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Penicillium sp2</i> sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de foin	43
28	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Rhizopus oryzae</i> sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de Vesce versé variété.	44
29	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Rhizopus stolonifer</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de VbL15.	44
30	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) <i>Rhizopus oligosporus</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon d'orge	44
31	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Fusarium oxysporum</i> sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de VLB17	45
32	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Fusarium sp</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de paille	45
33	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Cladosporium cladosporiodes</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de luzerne triade	45
34	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Cladosporium cladosporiodes</i> sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de luzerne triade	46
35	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Cladosporium sp</i> sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de foin	46
36	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) <i>Rhizomucor pusillus</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de son de blé.	46
37	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) <i>Rhizomucor pusillus</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de son de blé.	47

38	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Rhizomucor miehei</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de foin.	47
39	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x60) <i>Rhizomucor pusillus</i> sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de foin	47
40	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Geotrichum candidum</i> sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de foin	48
41	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Geotrichum candidum</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de paille	48
42	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique(x40) de <i>Geotrichum sp</i> sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de foin	48
43	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d' <i>Alternaria alternata</i> sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de luzerne triade	49
44	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d' <i>Alternaria alternata</i> sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de paille	49
45	Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) <i>Alterneria sp</i> sur milieu Sabouraud, isolé de l'orge	49
46	Aspect macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de <i>Mucor circinelloides</i> sur milieu MEA, isolé du paille	50
47	Aspects macroscopique (recto et veso) et microscopique (x40) d' <i>Aspergillus flavus</i> sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de foin	50
48	Densité relative des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons analysés	51
49	Fréquence d'isolement des genres de moisissures dans la ferme 1	52
50	Fréquence d'isolement de genres de moisissures dans la ferme 2	52
51	Fréquence d'isolement des genres de moisissures dans la ferme 3	53
52	Fréquence d'isolement du genre <i>Geomyces</i> dans tous les échantillons analysés de chaque ferme	53
53	Fréquence d'isolement du genre <i>Eurotium</i> dans tous les échantillons analysés de chaque ferme	54
54	Fréquence d'isolement du genre <i>Chlamydosporum</i> dans tous les échantillons analysés	55
55	Fréquence d'isolement du genre <i>Paecilomyces</i> dans tous les échantillons analysés	55
56	Fréquence d'isolement du genre <i>Moniliella</i> dans les échantillons analysés	56
57	Fréquence d'isolement du genre <i>Aureobasidium</i> dans les échantillons analysés de chaque ferme	56
58	Fréquence d'isolement du genre <i>Byssochlamys</i> dans les échantillons analysés	57

59	Fréquence d'isolement du genre <i>Acremonium</i> dans les échantillons analysés	57
60	Fréquence d'isolement du genre <i>Drechslera</i> dans les échantillons analysés	58
61	Fréquence d'isolement du genre <i>Sporendonema</i> dans les échantillons analysés	58
62	Fréquence d'isolement du genre <i>Absidia</i> dans tous les échantillons analysés	59
63	Fréquence d'isolement du genre <i>Fusarium</i> dans tous les échantillons analysés	59
64	Fréquence d'isolement du genre <i>Mucor</i> dans tous les échantillons analysés	60
65	Fréquence d'isolement du genre <i>Rhizomucor</i> dans tous les échantillons analysés	60
66	Fréquence d'isolement du genre <i>Geotrichum</i> dans tous les échantillons analysés	61
67	Fréquence d'isolement du genre <i>Alternaria</i> dans tous les échantillons analysés	61
68	Fréquence d'isolement du genre <i>Cladosporium</i> dans tous les échantillons analysés	62
69	Fréquence d'isolement du genre <i>Rhizopus</i> dans tous les échantillons analysés	62
70	Fréquence d'isolement du genre <i>Aspergillus</i> dans tous les échantillons analysés	63
71	Fréquence d'isolement du genre <i>Penicillium</i> dans tous les échantillons analysés	63
72	Fréquences d'isolement des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons analysés	64
73	Densité relative du genre <i>Rhizopus</i> dans toutes les fermes	65
74	Densité relative du genre <i>Aspergillus</i>	65
75	Densité relative du genre <i>Rhizomucor</i>	66
76	Densité relative du genre <i>Mucor</i>	66
77	Densité relative du genre <i>Penicillium</i>	67
78	Densité relative du genre <i>Alternaria</i>	67
79	Densité relative des moisissures isolées de l'ensemble des échantillons par aliment	69

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>01</b>	Caractéristiques des principaux embranchements des mycètes	4
<b>02</b>	Champignons holomorphes de la classe des Ascomycètes	5
<b>03</b>	Quelques exemples d'utilisation de sources de carbone spécifiques	10
<b>04</b>	L'exigence en termes de température et d'humidité pour le développement de quelques espèces de moisissures	13
<b>05</b>	Mycotoxines et champignons responsables de leur production	15
<b>06</b>	Origine et type des différents aliments analysés	33
<b>07</b>	Caractères cultureux de quelques espèces de moisissures isolées	39
<b>08</b>	Nombre de souches de moisissures isolés dans chaque type d'aliment	68

Les moisissures sont des champignons filamenteux microscopiques, susceptibles de coloniser des substrats très différents tels que les produits alimentaires, les textiles, les papiers, le bois, etc. Elles peuvent être utiles dans certaines industries telles que l'industrie fromagère ou pharmaceutique, mais elles peuvent aussi être néfastes en altérant les propriétés physiques et chimiques du substrat qu'elles colonisent (**Boudih, 2011**).

Les moisissures peuvent s'attaquer aux cultures dans le champ, pendant la manipulation ou à l'entreposage des aliments. Lorsque les conditions d'humidité et de température sont favorables, ils peuvent produire des métabolites secondaires toxiques (**Whitlow, 2001**).

Outre, les pertes économiques dues à la détérioration des aliments par les moisissures, plusieurs espèces de champignons produisent des mycotoxines dans les aliments de bétail cependant il est établi que les champignons du genre *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* sont les principaux acteurs dans l'élaboration des mycotoxines nuisibles pour les animaux d'élevage et pour l'homme (**Pfohl-Leszkowicz, 2009**). De plus, Les ruminants, notamment les bovins qui ingèrent des aliments moisissus sont atteints d'aspergillose, infection due à *A. fumigatus*, touchant essentiellement les jeunes animaux et pouvant être mortelle (**Bevilacqua et al., 2017**).

En Algérie, l'incidence des mycotoxines est mal connue, tout particulièrement en production bovine, à cause d'une méconnaissance de la part des vétérinaires. Ce qui est certain, c'est qu'avec les pratiques modernes de culture, l'alimentation des bovins présente des risques mycotoxiques dont les répercussions économiques sont importantes.

Le contrôle du niveau de contamination des aliments exige l'emploi de stratégies variées et complémentaires et ce à différentes étapes de l'élaboration de l'aliment. Des méthodes préventives telles que des pratiques culturales adaptées existent pour diminuer le risque de prolifération de moisissures. Cependant, l'élimination totale du risque fongique et mycotoxique est impossible (**CAST, 2003**). Cependant, il est impératif d'inhiber la germination des conidies et le développement des hyphes. De ce point de vue, le séchage mais surtout le stockage des aliments constituent souvent des périodes à haut risque.

## INTRODUCTION

---

Cette étude a pour objectif l'appréciation de la situation des aliments de bétail vis-à-vis de l'occurrence des champignons mycotoxinogènes par la mise en évidence et l'identification de la microflore fongique toxigène dans les aliments des ruminants dans la région de Guelma. En effet, la situation reste actuellement mal connue et sous estimée.

Pour ce faire, ce travail sera divisé en deux parties :

La première partie (partie bibliographique) sera consacrée à l'étude des moisissures , puis des principales moisissures toxigènes et enfin les aliments de bétail (contamination, conséquences et prévention) ;

Dans la seconde partie (partie pratique) sera présenté le matériel et méthodes utilisés pour la recherche des moisissures dans les aliments des ruminants, ensuite les résultats et discussion.

**PARTIE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Définition

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, multicellulaires, qui se développent en saprophytes ou parasites sur tous les milieux. Ce sont des eucaryotes, thallophytes, dépourvus de chlorophylle, hétérotrophes, qui peuvent être utiles ; ayant une importance industrielle et environnementale, ou nuisibles (**Leyral et Vierling, 2007; Guiraud, 1998**).

## 2. Classification

Les moisissures (Micromycètes) ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent dans diverses familles de champignons microscopiques. Elles appartiennent au règne des Fungi ou des Eumycota (**Guezlane-Tebibel et al., 2012; El-Khoury, 2017**).

La classification classique des moisissures est basée sur les caractères morphologiques (structure du mycélium) et les modes de reproduction sexuée et asexuée, pour définir les grandes classes de moisissures (**Herritage et al., 1996 ; Leveau et Bouix,1993**). Cinq classes de mycètes sont distinguées (**fig. 1**) :

- Les Zygomycètes ;
- Les Chytridiomycètes ;
- Les Ascomycètes ;
- Les Basidiomycètes ;
- Les Deutéromycètes ou *fungi imperfecti* (**Leyral et Vierling, 2007**).

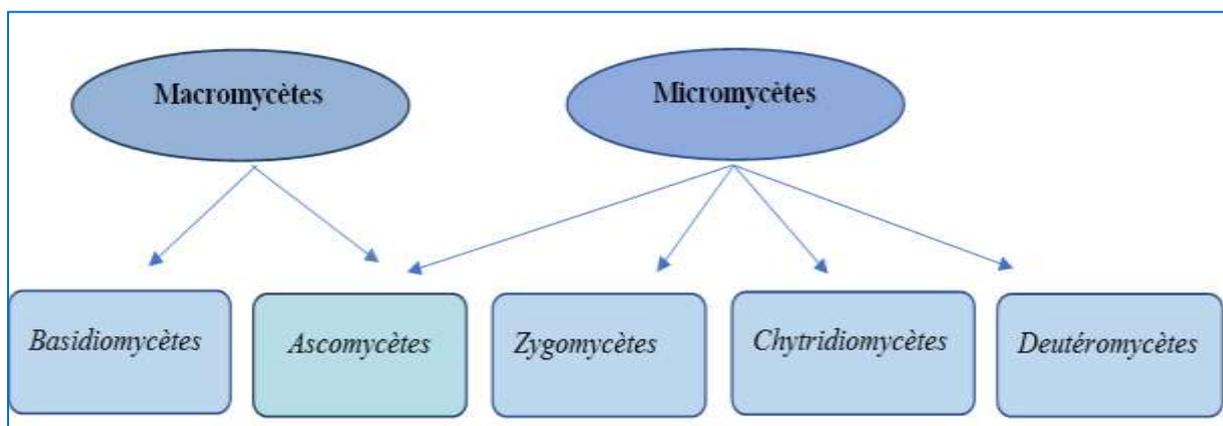
La classification actuelle des mycètes (**Tableau 1**) distingue six embranchements ou divisions (**Guezlane-Tebibel et al., 2012**).

Les Deuteromycota ne sont pas un véritable embranchement. En effet, les mycètes anamorphes ; qui ont une reproduction asexuée, y sont regroupés (**Blackwell et al., 2012**). Le tri est en cours, et les Fungi qui y sont classés trouvent peu à peu leur place chez les Ascomycota et les Basidiomycota (**Branger et al., 2007**). Ainsi, la découverte de la reproduction sexuée, téléomorphe, d'un mycète permet de le reclasser dans l'embranchement adéquat en lui donnant un nouveau nom (**Guezlane-Tebibel et al., 2012**).

Les champignons holomorphes ; possédant les deux formes sexuée et asexuée, ont deux noms de genre et d'espèce différents. La priorité est donnée à la forme sexuée, dite parfaite (**Tableau 2**).

**Tableau 1** : Caractéristiques des principaux embranchements des mycètes  
(Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).

Règne	Divisions	Classes
Fungi	<b>Deutéromycota</b> (Adelomycètes) : reproduction asexuée seule connue (Fungi Imperfecti)	<i>MyceliaSterilia</i> Coelomycètes Hyphomycètes Blastomycètes
	<b>Chytridiomycota</b> : espèces aquatiques dont les zoospores portent un flagelle.	Chytridiomycètes
	<b>Glomeromycota</b> : reproduction asexuée ; mycélium siphonné.	Gloméromycètes
	<b>Zygomycota</b> : reproduction asexuée ; espèce à spores non flagellées, mycélium siphonné.	Zygomycètes Trichomycètes
	<b>Ascomycota</b> : reproduction sexuée ; hyphes septés.	Ascomycètes
	<b>Basidiomycota</b> : reproduction sexuée ; hyphes septées, spores portées par des bastides.	Basidiomycètes



**Fig. 1** : Les classes de Mycètes (Chabasse, 2009)

**Tableau 2** : Champignons holomorphes de la classe des Ascomycètes  
(Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).

Forme parfaite ou sexuée (Ascomycètes)	Forme imparfaite ou asexuée (Ascomycètes Imparfais ou Deutéromycètes)
<i>Eurotium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Talaromyces sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
<i>Gibberella sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>

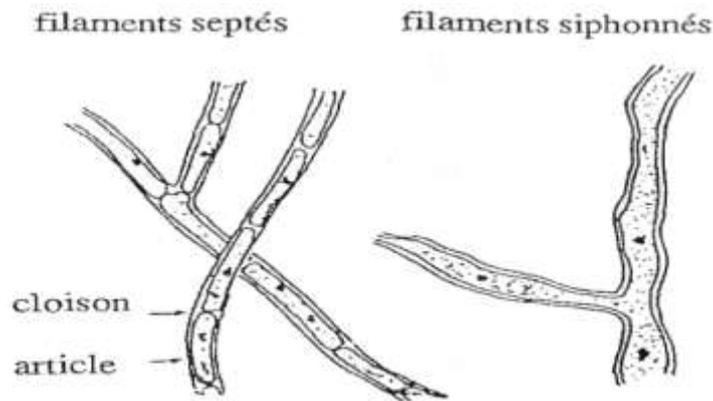
### 3. Morphologie et structure

Les champignons filamenteux sont des thallophytes, c'est-à-dire ils ne possèdent pas de véritables tissus différenciés (Bourgeois *et al.*, 1996; Héritage *et al.*, 1996). La structure fondamentale est appelée hyphe (filament mycélien) mesurant de 2 à 15 µm de diamètre et de longueur indéterminée. L'ensemble des hyphes forment le mycélium ou thalle pluricellulaire (Sylviane *et al.*, 2011). Cependant le thalle est issu par la croissance d'un amas de filaments enchevêtrés et ramifiés (Bourgeois *et al.*, 1996; Héritage *et al.*, 1996).

Le thalle est constitué soit :

- De filaments siphonnés (coenocytiques), non cloisonnés, sous forme de cellules allongées contenant plusieurs noyaux dans le cas des phycomycètes ;
- De filaments septés ou cloisonnés comme chez les septomycètes. Dans les parties jeunes du thalle les cloisons sont percées de pores permettent le passage du cytoplasme et des noyaux d'un article à un autre, alors que dans les parties âgées, les septa sont fermés isolant les parties en voie de dégénérescence des parties actives (Fig.2) (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).

La cellule fongique (hyphe) est limitée par deux enveloppes : la paroi et la membrane cytoplasmique renfermant le cytoplasme et certains organites cellulaires (des ribosomes, des mitochondries, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des vésicules, et des lysosomes), et un ou plusieurs noyaux (Guezlane-Tebibel, 2008).



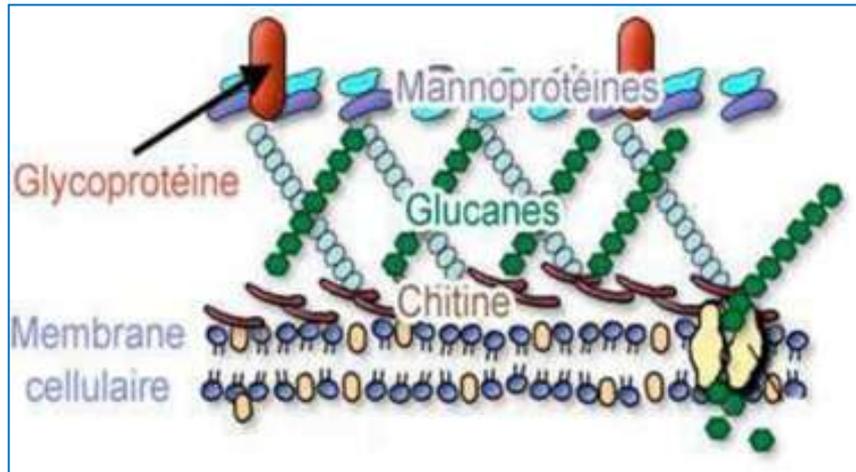
**Fig. 2** : L'aspect des différents thalles mycéliens (Larchier, 2007)

Les parois cellulaires fongiques sont structurellement uniques et diffèrent grandement de la paroi cellulaire végétale. Les parois cellulaires sont composées de glycoprotéines et de polysaccharides principalement de glucanes et de chitine. Des composants supplémentaires des parois sont présents et varient selon les types de champignons. La paroi protège la cellule contre les changements de pression osmotique et maintient la forme de la cellule face au stress environnemental (Bowman *et al.*, 2006).

Ainsi, elles sont formées de couches distinctes disposées les unes sur les autres, et mesurant de 150 à 230 nm et est composée de 10 à 20% de protéines, de 80% de polysaccharides antigéniques constitués de :

- La chitine (polycondensat linéaire de  $\beta$ -D 1,4- N Acétyl-glucosamine),
- La cellulose (polycondensat linéaire de  $\beta$ -D-1-4- glucose) des mannanes ou des glucanes ;
- Parfois de la mélanine (champignons noirs) (Fig. 3) [1].

La chitine est un composé spécifique et majeur de la paroi des champignons. Elle a, de ce fait, un rôle taxonomique important. Néanmoins, chez certaines espèces, elle peut être partiellement ou totalement remplacée par la cellulose (ex : les Oomycètes sont complètement dépourvus). La chitine est sous forme de micro-fibrilles entourées d'une couche de protéines, et d'une couche de glycoprotéines enchâssées dans une matrice de glucanes et de mannanes, puis d'une couche externe de glucanes [2].



**Fig. 3** : La structure de la paroi fongique [3]

L'accroissement des filaments s'effectue par l'apex où les réactions du métabolisme primaire ; indispensable au développement des cellules fongiques, se déroulent. Les filaments engendrent des formations un peu plus différenciées et adaptées aux fonctions de reproduction et de dissémination des moisissures nommées spores. C'est un petit corps reproducteur pouvant résister aux conditions extrêmes et devenir un nouvel organisme dans des conditions propices (Leyral et Vierling, 2007; Bourgeois *et al.*, 1996) [4].

#### 4. Biologie et écologie des moisissures

##### 4.1. Reproduction des moisissures

Les champignons filamenteux se reproduisent grâce à leurs spores, selon deux modes : sexué et asexué. Un micromycète se reproduit soit sous forme asexuée, ou sexuée ou les deux ensembles, il est alors, qualifié d'anamorphe, de téléomorphe ou d'holomorphe respectivement. Les moisissures qui ne produisent pas de spores, sont classées parmi les « *Mycélia stérilia* » (Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012).

##### 4.1.1. Reproduction asexuée

C'est le mode de reproduction le plus répandu dans la nature. Elle est assurée par la production de spores d'origine végétative issues de simples mitoses. Les spores de la reproduction asexuée sont produites soit :

- A l'intérieur d'un sac, le sporocyste ou le sporange à l'extrémité d'un filament spécialisé appelé sporocystophore ou sporangiophore : les sporocystospores ou sporangiospores qui sont des spores endogènes (endospores) ;

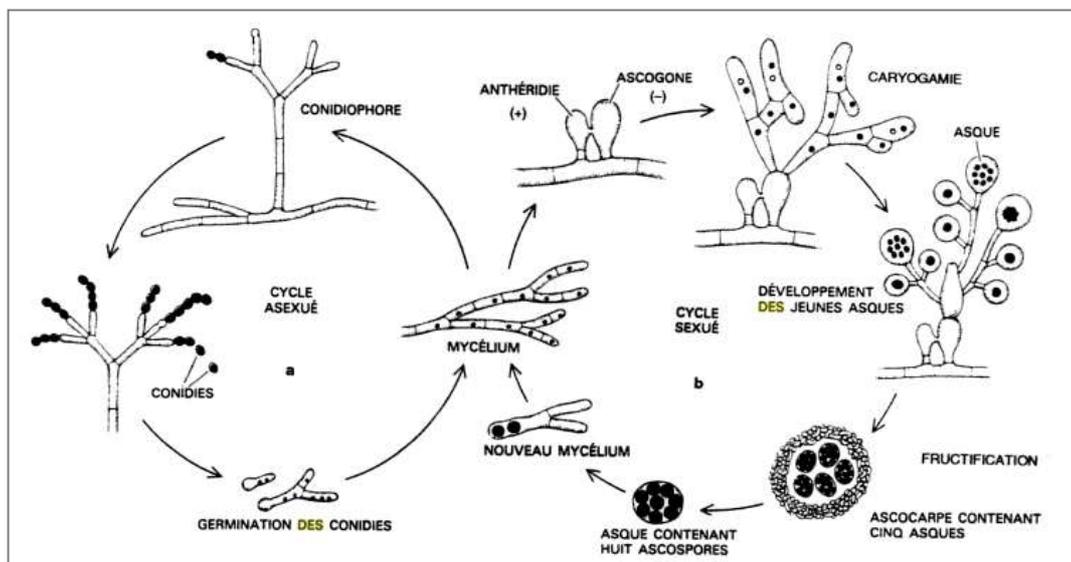
- A l'extérieur d'un organe spécialisé, le conidiophore sur lequel se forment les conidies ou conidiospores ;
- Par la transformation directe d'un filament donnant des arthrospores (**Guezlane -Tebibel et al., 2012; Leyral et Vierling, 2007**).

#### 4.1.2. Reproduction sexuée

Elle est moins fréquente que la reproduction asexuée, la production de spores dans ce cas est due à la rencontre des filaments spécialisés, la conjugaison des noyaux et la réduction chromatique. Elle se déroule en trois types de phases :

- **Une plasmogamie** : phase où se produit la fusion protoplasmique (cytoplasmique) qui met en présence deux noyaux à l'intérieur d'une même cellule : le noyau haploïde d'une cellule donneuse (+) pénètre dans le cytoplasme d'une cellule receveuse (-) ;
- **Une caryogamie** : les noyaux (+) et (-) fusionnent pour former le noyau diploïde d'un zygote ;
- **Une réduction chromatique ou méiose** : le noyau diploïde donne naissance à des noyaux haploïdes (spores sexuées). Les noyaux issus de la méiose sont parfois recombinaisonnés (**Tortora, 2017**).

Cette phase produit quatre types de spores sexués : les zygotes ou œufs, les zygosporés, les ascospores, les basidiospores (**Guezlane-Tebibel, 2012; Leyral et Vierling, 2007**).



**Fig. 4** : La reproduction des moisissures [5]

## 4.2. Conditions de croissance des moisissures

Les champignons filamenteux ont besoin pour leur développement de :

### 4.2.1. Facteurs nutritionnels

Les moisissures sont des chimio-hétérotrophes qui sont nourrit par absorption ; ce mode de nutrition consiste à absorber les petites molécules organiques du milieu, et à les digérer à l'extérieur de leur « corps » en l'hydrolysant au moyen de puissantes enzymes. Ils n'ont pas le pouvoir de photosynthèse puisqu'ils sont dépourvus de chlorophylle (**Tortora et al., 2011**). La plupart des moisissures exigent peu d'éléments nutritifs essentiels pour leur développement (**Alix et al., 2002**).

#### 4.2.1.1. Source de carbone ou d'énergie

Les micromycètes exigent des composés organiques comme source d'énergie. Sous l'action des enzymes excrétées par les cellules fongiques, dans l'environnement, des polymères complexes comme la cellulose, la lignine et les composés pectiques peuvent être "digérés" par de nombreux champignons (**Guezlane-Tebibel et al., 2016**).

Les moisissures préfèrent les sources de carbone facilement métabolisables par rapport à d'autres sources comme les hydrocarbures. En effet, le carbone facilement métabolisé réprime la synthèse des enzymes liées au catabolisme des autres hydrocarbures, assurant ainsi une utilisation préférentielle de la source de carbone pour chaque espèce (**Tableau 3**). Ce mécanisme est connu sous le nom de « répression du carbone » (**Ruijter et Visser, 1997**).

#### 4.2.1.2. Source d'azote :

La majorité des champignons assimilent les deux types d'azote : ammoniacal et nitrique (**Fig. 5**). Néanmoins, ils ne peuvent pas fixer l'azote atmosphérique. Les sources d'azote organique peuvent être utilisées sous formes d'acides aminés (l'acide glutamique, l'acide aspartique et l'alanine) qui sont facilement assimilables et sont directement absorbés à travers la barrière membranaire. Par contre les peptides et les protéines doivent être d'abord hydrolysés par des protéases fongiques en acides aminés absorbables (**Nicklin et al., 2000; Davet et Rouxel, 1997**). Les acides aminés aromatiques sont de mauvaises sources d'azote pour la croissance (**Botton et al., 1990**).

**Tableau 3** : Quelques exemples d'utilisation de sources de carbone spécifiques  
(Davet et Rouxel, 1997).

Sources de carbone	Champignons
Galactose	<i>Fusarium oxysporum</i>
Raffinose	<i>Verticullium fungicola</i>
Sorbose	<i>Verticullium spp</i> <i>Fusarium oxysporum</i> ; <i>F. sp. Apii</i>
Cellulose	<i>Verticullium tricorpus</i>
Inuline	<i>Fusarium oxysporum</i>
Acide polygalacturonique	<i>Verticullium dahliae</i>
Acide gallique	<i>Rhizoctonia solani</i>
Oxalate de potassium	<i>Sclerotium rolfsii</i>

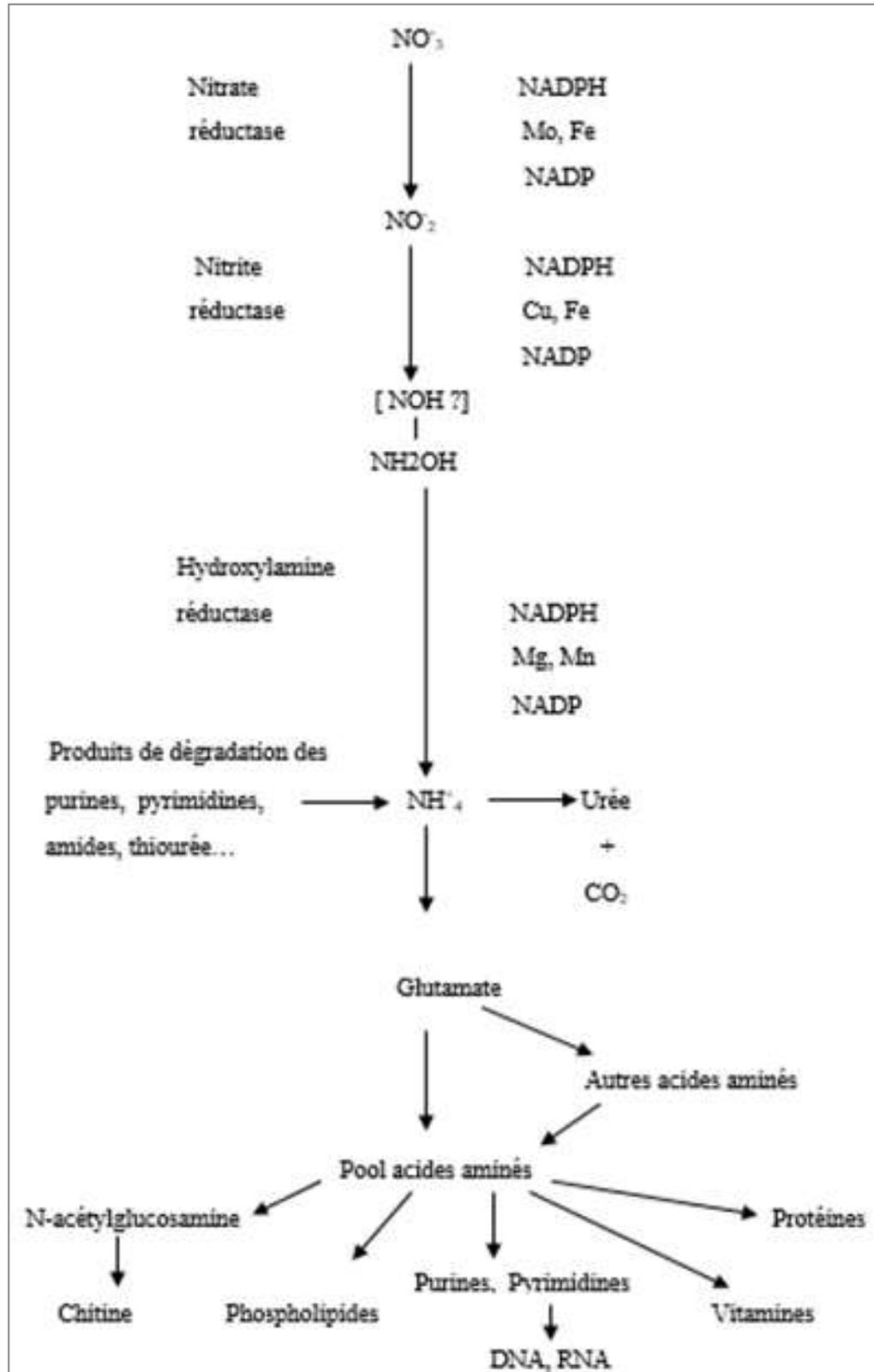
#### 4.2.1.3. Les éléments minéraux :

Malgré l'utilisation du carbone et d'azote, les champignons ont besoin des éléments minéraux majeurs (le phosphore, le potassium, le magnésium et le soufre) et d'oligoéléments (Cu, Mn, Mo, Fe, Zn) qui sont essentiels pour leur croissance (Davet et Rouxel, 1997). Ces éléments en traces sont nécessaires à la plupart des espèces fongiques pour la production des cytochromes, des pigments, d'acides organiques, etc. (Boiron, 1996).

#### 4.2.1.4. Besoin en vitamines et en facteurs de croissance :

Plusieurs moisissures exigent diverses vitamines à de très faibles concentrations ( $10^{-5}$  à  $10^{-12}$  Molaire) pour leur croissance. La thiamine et la biotine en particulier sont indispensables car elles interviennent dans les réactions de carboxylations comme co-enzymes (Boiron, 1996).

Les facteurs de croissance sont des composées nécessaires à la croissance de ces micro-organismes tels que les stérols, les acides gras, les purines et les pyrimidines, en quantité relativement importante. Les stérols jouent un rôle majeur dans la composition des membranes fongiques et leur perméabilité (Boiron, 1996).



**Fig. 5** : Résumé de l'utilisation de l'azote par les champignons (Botton *et al.*, 1990)

## 4.2.2. Facteurs environnementaux

### 4.2.2.1. L'activité de l'eau ou l' $A_w$

L'activité en eau du substrat, notée  $A_w$ , correspond à un paramètre qui permet de quantifier la quantité d'eau disponible nécessaire à la croissance fongique. L' $A_w$  varie entre 0 (toute l'eau est retenue) et 1 (eau pure) (Tabuc, 2007), en fonction de l'hygrométrie et dépend à la fois des caractéristiques chimiques et physiques du substrat. Elle montre la relation entre l'humidité des aliments et la capacité des micro-organismes à se développer sur eux. En dessous d' $A_w$  de 0,65, le développement fongique n'est plus possible (Tableau 4) (John *et al.*, 2009; Reboux, 2006). Les moisissures sont classées en trois groupes en fonction de l' $A_w$  optimale de développement :

- Les moisissures xérophiles qui se développent sur des substrats ayant des  $A_w$  basses comprises entre 0,65 et 0,8. C'est l'exemple des moisissures du genre *Aspergillus* ;
- Les moisissures xérotolérantes se développent sur des substrats dont l'activité en eau est comprise entre 0,8 et 0,90. Ce groupe comprend les *Penicillium* ;
- Les genres hygrophiles, leurs conditions optimales de développement sont représentées par une humidité importante ( $A_w$  supérieur à 0,9). Ce groupe comprend les mucorales, *Stachybotrys*, saprophytes ou pathogènes et les *Fusarium* (Park *et al.*, 2007).

L'humidité a un grand effet sur le développement des moisissures et sur la germination des spores (Bourgeois, 1989).

### 4.2.2.2. La température

La température joue un rôle très important dans la croissance mycélienne, elle intervient à la sporulation et à la germination des spores (Bourgeois, 1989).

La végétation maximale des moisissures apparaît entre 20°C et 30°C, mais les champignons tolèrent, généralement, une température de 5°C à 40°C. Il y a des espèces de moisissures psychrophiles qui tolèrent des températures basses voire même négatives ; jusqu'à -10°C c'est le cas de *Fusarium tricinctum*. Par ailleurs, certaines espèces peuvent croître à des températures supérieures à 50°C (Tableau 4) (Leyral et Vierling, 2007).

### 4.2.2.3. Le pH

Le pH est un facteur important pour le développement des moisissures, alors les champignons filamenteux peuvent se développer à un pH de 4 à 8 (Tahani et Elamrani, 2008). Il existe des pH pour lesquels la croissance fongique est optimale. Généralement ces

pH sont entre 5 à 6 (Tabuc, 2007). Les micromycètes se développent mieux en milieu légèrement acide et tolèrent même des pH très bas. Mais il y a des espèces qui croissent à pH de 2 à 5 (Abdel massih, 2007).

#### 4.2.2.4. L'oxygène (Aération)

Les moisissures sont des organismes aérobies qui ont besoins d'oxygène pour effectuer une croissance normale (Tabuc, 2007). Cependant, de nombreuses espèces peuvent fermenter les glucides. La plupart peuvent se développer même si la teneur en oxygène est dix fois plus faible que celle de l'atmosphère (en microaérobie). Seulement quelques espèces sont anaérobies strictes et colonisent des biotopes particuliers (Abdel massih, 2007; Botton *et al.*, 1990).

**Tableau 4** : L'exigence en termes de température et d'humidité pour le développement de quelques espèces de moisissures (Leyral et Vierling, 2001)

Espèce	Température (°C)		Humidité (aw)
	Intervalle	Optimum	
<i>Aspergillus flavus</i>	10 - 43	30	0,82 - 0,99
<i>A. parasiticus</i>	-	30	0,83
<i>A. ochraceus</i>	8 - 37	25 - 31	0,79
<i>A. niger</i>	11 - 48	17 - 42	0,90 - 1
<i>Fusarium solani</i>	-	27 - 31	0,87 - 0,90
<i>F. graminearum</i>	-	24 - 26	0,9 - 0,99
<i>F. sporotrichoides</i>	0,2 - 35	22,7 - 27	0,88 - 0,99
<i>F. Moniliforme</i>	20 - 37	22.5 - 27.5	0,87 - 0,99
<i>P. verrucosum</i>	0 - 31	-	0,80
<i>P. chrysogenum</i>	5 - 37	23	0,78 - 0,81
<i>P. frequentans</i>	5 - 37	23	0,80

#### 4.2.2.5. La lumière

La lumière influence la croissance des moisissures par une destruction photochimique des constituants du milieu, ou par une action directe sur le métabolisme fongique en stimulant la biosynthèse de divers pigments (Boiron, 1996). Elle peut agir aussi sur la sporulation (Botton *et al.*, 1990).

### 4.3. Ecologie des moisissures

Les moisissures colonisent, presque tous les types d'écosystèmes ; un grand nombre d'espèces semblent capable d'utiliser des matières organiques, tels que la lignine, la cellulose ou d'autres polysaccharides, qui ont été ajoutés aux sols ou aux eaux par la végétation morte. Ces champignons saprophytes se nourrissent de matières organiques en décomposition d'origine végétale : feuilles mortes, fumier etc. Ils sont largement répartis dans le monde, exigeant seulement que leurs habitats aient une teneur organique suffisante pour soutenir leur croissance [6]. Certaines espèces de moisissures vivent en symbiose avec les végétaux et d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux et même de l'homme. Elles sont aérobies, acidophiles, mésophiles (20 à 30°C) avec un besoin faible en eau; certaines espèces sont osmophiles, halophiles ou xérophiles (Carip, 2008).

## II. Les moisissures toxigènes :

### 1. Les principales moisissures toxigènes

Les moisissures sont capables de causer d'importantes détériorations, notamment dans le domaine agronomique (Nguyen, 2007). Des champignons filamenteux, dits toxigènes, ont la capacité de produire des mycotoxines, si les conditions favorables sont réunies. Ces moisissures et leurs mycotoxines secrétées sont susceptibles de contaminer les aliments, dans les champs ou après les récoltes, lors du transport, du stockage et même lors de la distribution des aliments. Les produits agricoles sont fréquemment contaminés par plusieurs moisissures capables de produire chacune plusieurs toxines.

Les mycotoxines sont des contaminants naturels, définies comme étant des métabolites secondaires toxiques, produits par plusieurs espèces de champignons filamenteux, surtout par ceux appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps* (Tableau 5) (Dragacci *et al.*, 2011; Marin *et al.*, 2013).

#### 1.1. Genre *Fusarium*

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux appartenant à la division des Deutéromycètes. Leur nom, *Fusarium*, fait référence à leurs spores en forme de fuseau du latin « *fusus* », décrites comme ayant une forme de canoë. Ce genre regroupe de nombreuses espèces anamorphes. Les formes sexuées comme *Gibberella* et *Nectria* sont rattachées à l'embranchement des Ascomycètes. Les *Fusaria* sont cosmopolites. Chez certaines espèces, la conservation du mycélium dans le sol et sa dissémination sont facilitées grâce à l'existence de chlamydospores

**Tableau 5** : Mycotoxines et champignons responsables de leur production (El Khoury, 2007)

Champignons	Toxines
<i>Aspergillus</i>	- Aflatoxines, Stérigmatocytine, Ochratoxine A (OTA).
<i>Penicillium</i>	- Patuline, Citrinine (CIT), Acide pénicillique, Pénitrem A, Acide cyclopiazonique, Ochratoxine A.
<i>Fusarium</i>	- Trichothécènes (DON : Déoxynivalénol, NIV : Nivalénol, Toxine T-2, DAS : Diacétoxyscipenol), Zéaralénone, Fumonisines, Fusarine, Moniliformine.
<i>Alternaria</i>	- Alternariol, Acide Ténuazonique.
<i>Claviceps</i>	- Alcaloïdes de l'Ergot.

### 1.1.1. Critères d'identification

L'approche classique d'identification des moisissures est basée sur les critères de classification observables macroscopiquement et microscopiquement (Carlotti, 2014).

#### 1.1.1.1. Macroscopiques

Les *Fusarium* poussent sur le milieu de sabouraud mais ils se développent mieux sur le milieu PDA.

- La croissance est rapide ; la température optimale de croissance varie entre 22°C et 37°C ;
- Les colonies sont planes et d'aspect cotonneux, voire floconneux (fig. 6) ;
- La couleur des colonies peut être : blanche, crème, jaune, brune, rose, rouge, violette ou lilas selon les espèces (Chabasse *et al.*, 2002).

#### 1.1.1.2. Microscopiques

Les conidiophores courts, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des sporodochies et portent des masses de spores. Les phialides, plus ou moins allongées, peuvent avoir un ou deux sites de bourgeonnement, pour la production des conidies dont la forme est un critère d'identification des espèces. Les cellules conidiogènes peuvent produire différents types de spores (Chabasse *et al.*, 2002) :



**Fig. 6** : Aspect macroscopique de *Fusarium spp* [7]

#### ❖ Les macroconidies

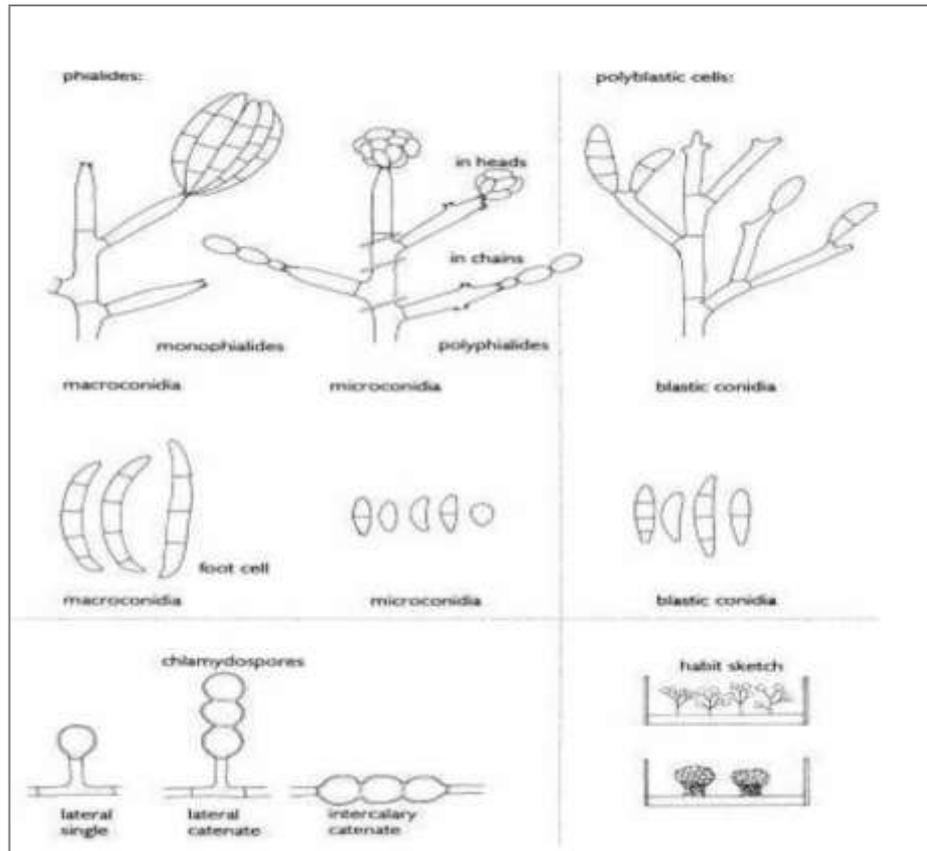
Le principal caractère microscopique de reconnaissance des Fusariarésides dans la présence de macroconidies fusiformes, cloisonnées et de grande taille. La cellule basale est pédicellée et la cellule apicale forme un crochet, idéal pour la dissémination. De plus, leur taille défère selon les espèces, les macroconidies peuvent être droites, à courbure dorsoventrale et dont le côté dorsal est nettement plus incurvé que le côté ventral. Dans ces spores, les cellules au milieu de la spore sont, généralement, plus larges que les cellules trouvées aux extrémités (Leislie et Summerell, 2006).

#### ❖ Les microconidies

Elles sont petites, septées ou non (0 à 2 septa) pour certaines espèces. Leur formes sont diverses : fusiformes, ovoïdes, piriforme ou réniforme. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. Cependant les cellules conidiogènes sur lesquelles elles sont formées sont soit monophialides, soit polyphialides ainsi que leur arrangement peut être seul, en chaîne ou en bouquet (Heit, 2015).

#### ❖ Chlamydo-spores

Ce sont des spores résistantes ne se détachant pas de la moisissure. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. De ce fait, la présence ou l'absence de chlamydo-spores est un caractère primaire dans la taxonomie de *Fusarium*. Elles peuvent être terminales ou intercalaires et peuvent résister des années dans le sol, préservant ainsi le champignon. Elles peuvent être formées seules, par paires, ou en touffes ou en chaînes, et elles sont parfois rugueuses ou lisses (fig.7) (Nelson *et al.*, 1994).



**Fig. 7** : La croissance du thalle de *Fusarium* [8].

### 1.1.2. Importance

Le genre *Fusarium* rassemble un grand nombre d'espèces phytopathogènes. Il a un impact économique important car c'est un contaminant de nombreuses céréales (blé tendre et dur, orge, maïs, avoine, seigle et triticales) dans toutes les régions du monde (Uhlig *et al.*, 2007).

La contamination de l'orge, par *Fusarium*, peut entraîner la brûlure de l'épi, et en cas de contamination extrême l'orge peut apparaître rose (Frederic. Miller, 2011). Ce genre se développe préférentiellement sur les végétaux sénescents ou stressés. Il est impliqué dans la pourriture des tiges, des fruits et du système racinaire. Les *Fusaria* produisent des mycotoxines et sont susceptibles de causer des infections et des intoxications graves chez l'Homme et chez les animaux, surtout d'élevage. Ces infections sont réunies sous le terme de fusarioses (Gauthier, 2016; Heit, 2015).

Les espèces du genre *Fusarium* produisent une gamme de composés phytotoxiques comme l'acide fusarique, les fumonisines (FUM B1 et B2), l'eniantin, la zéaralénone et les

tricothécènes (Richard, 2007). Ces métabolites possèdent des activités biologiques variées et causent des dégâts morphologiques, physiologiques et métaboliques comprenant les nécroses, la chlorose, la réduction de la germination des graines et la diminution de la croissance des plantes (McLean, 1996).

## 1.2. Genre *Aspergillus*

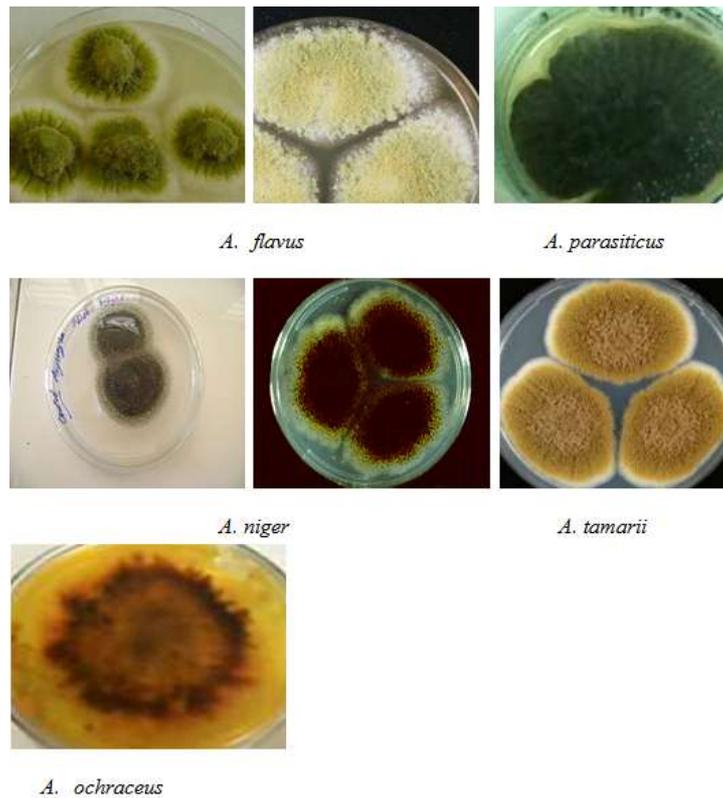
Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus* (Gams *et al.*, 1986). Certaines formes sexuées d'*Aspergillus spp* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Sur les 180 espèces, une vingtaine est pathogène pour l'Homme et les animaux.

Ces champignons, très nombreux, sont saprophytes du sol, cosmopolites et ubiquitaires. Ils sont le plus souvent présents dans les zones tropicales et subtropicales, donc adaptés à des climats chauds et à des milieux pauvres en eau. Ils disposent d'un équipement enzymatique leur permettant de se développer et de coloniser presque tous les environnements, leur habitat est varié : débris organiques, végétaux en décomposition, maisons (poussières, climatiseurs, bouche d'aération, terre des plantes en pots) (Maslin *et al.*, 2004).

### 1.2.1. Critères d'identification

#### 1.2.1.1. Macroscopiques

Les *Aspergillus* ont une croissance rapide sur les milieux de culture classiques. Après 48 heures d'incubation, les colonies sont plates, formées de courts filaments aériens, blancs et après 96 heures d'incubation, les colonies prennent leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La plupart des espèces poussent à 20-25°C et les thermophiles se développent au-delà de 35°C et parfois même jusqu'à 57°C. Les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. De plus, la couleur des colonies permet parfois une orientation rapide de l'identification : par exemple *Aspergillus candidus* est blanc, *Aspergillus niger* est noir et les autres comme *Aspergillus glaucus* et *Aspergillus flavus* sont dans les tons verts (fig. 8) (Makhlouf, 2019).

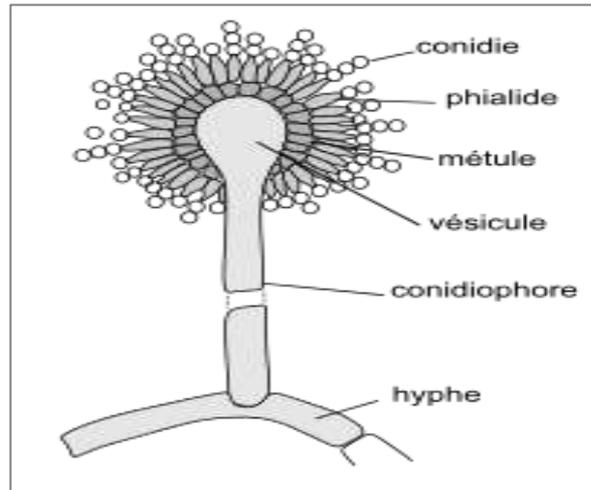


**Fig. 8 :** Espèces d'*Aspergillus* identifiées à partir d'échantillons de graines d'arachide (Guchi *et al.*, 2014)

### 1.2.1.1. Microscopiques

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins. Ces filaments sont de diamètre fin et régulier, ils sont septés et ramifiés. L'identification du genre *Aspergillus* repose sur la mise en évidence des têtes aspergillaires à l'examen microscopique (fig. 9). En effet, sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés appelés conidiophores qui se terminent par une vésicule sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question.

Les phialides sont soit directement insérées sur la vésicule (tête unisériée), soit portées par de petits articles insérés sur la vésicule: les métules (tête bisériée). Les spores unicellulaires sont de forme variable, globuleuses, subglobuleuses ou elliptiques. Elles peuvent être lisses ou recouvertes d'aspérités plus ou moins marquées, et sont de pigmentations diverses (Quatresous, 2011).



**Fig. 9** : Tête aspergillaire bisériée (Quatresous, 2011)

### 1.2.2. Importance

D'autres espèces sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie de biotechnologies, impliquées dans la production des acides organiques, des enzymes et de pigments. *Aspergillus niger* est utilisé pour la synthèse de l'acide citrique et l'acide gluconique, ainsi que pour la production d'alpha amylase, de lipase, de pectinase etc. Dans les pays asiatiques, *Aspergillus oryzae* est utilisé pour la production de produits fermentés à base de soja. Plusieurs métabolites secondaires d'*Aspergillus* ont également une importance économique majeure dont les statines et leurs dérivés qui sont les plus rentables. Ces médicaments anti-cholestérol font, désormais, partie des médicaments les plus largement utilisés (Bennett, 2010).

Quelques espèces d'*Aspergillus* notamment *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus* et *A. niger* sont responsables d'une infection nommée aspergillose qui atteint l'homme et les animaux (Visagie, 2014).

Nombreuses sont les espèces d'*Aspergillus* qui synthétisent des toxines fongiques responsables de pathologies chez l'Homme et l'animal (76). Certaines espèces sont les producteurs majeurs de l'OTA qui fait partie des mycotoxines les plus menaçantes (Keller *et al.*, 2005).

### 1.3. Genre *Penicillium*

Le genre *Penicillium* compte entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphes de certaines d'entre

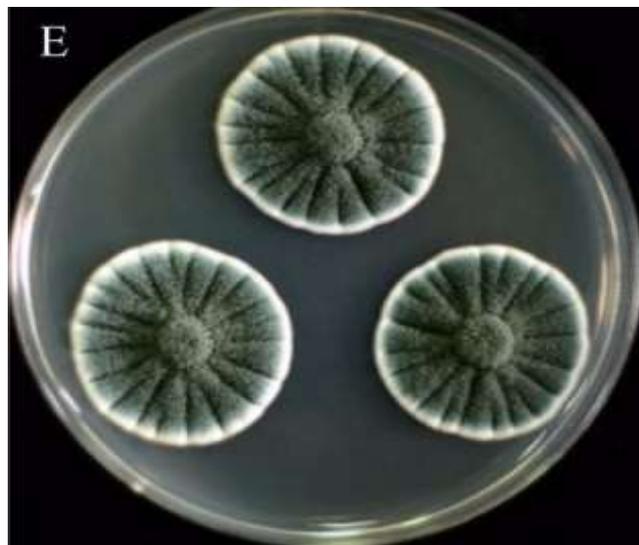
elles appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces* (Yadav, 2018).

Ce sont des champignons polyphages et saprophytes, présents aussi bien dans le sol et les matières organiques en décomposition que dans les denrées alimentaires telles que les céréales, les arachides et les produits laitiers (Storey *et al.*, 2004).

### 1.3.1. Critères d'identification

#### 1.3.1.1. Macroscopiques

- Les espèces du genre *penicillium* poussent et se développent sur les milieux de culture CYA et MEA (Visagie, 2014) ;
- Leur croissance est rapide et optimale à des températures comprises entre 20°C et 27°C ;
- Aspect des colonies : duveteux voire poudreux et à contour irrégulier ;
- Couleur des colonies : variable, le plus souvent vert grisâtre (fig. 10), plus rarement blanches mais parfois grise, jaune ou rose. le revers est incolore ou foncé (Chabasse, 2002).



**Fig. 10** : Aspect macroscopique de *Penicillium* (Kim *et al.*, 2007)

### 1.3.1.2. Microscopiques

Le genre *Penicillium* se distingue par son organisation en pinceau du latin *Penicillius*. Le mycélium végétatif est constitué de filaments hyalines, cloisonnées et étroites, qui peuvent être submergées ou aériennes. Le thalle porte les conidiophores, simples ou ramifiés, septés, relativement étroits, portant une structure ramifiée, fructifère à l'apex, le pénicille. Les cellules conidiogènes (phialides) peuvent être portées directement à l'apex du conidiophore ou sur un ou plusieurs niveaux de rameaux. Les cellules conidiogènes sont, généralement, en forme de flacon avec une base renflée, à partir desquelles les conidies (spores) sont produites sous forme de chaînes non ramifiées. Les conidies sont, hyalines, petites, de formes diverses allant de globuleuses à cylindriques et de lisses à fortement rugueuses (**Peberdy, 1987**).

### II.1.3.2. Importance :

Certaines *Penicillia* ont un intérêt industriel comme *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti*, qui sont utilisés pour la fabrication de certains fromages (**Ropars et al., 2020**). Quant à *Penicillium griseofulvum* et *Penicillium chrysogenum*, ils sont cultivés, au niveau de l'industrie pharmaceutique, pour la production de la griséofulvine qui est un antifongique et des pénicillines qui sont des antibiotiques (**Hargop, 2006**).

Certaines espèces sont pathogènes pour l'homme et les infections peuvent être causées par le champignon ou par ses toxines. Ces dernières peuvent bloquer la croissance et la reproduction (**Ropars et al., 2020**).

Le genre *Penicillium* compte au moins 18 espèces mycotoxinogènes qui sont productrices de l'OTA, la citrinine, la patuline, l'acide cyclopiazonique, l'acide penicillique, la roquefortine, la frequentine, la palitentine, l'acide mycophénolique, la gliotoxine, la citreoviridine et la rubratoxine B. Par ailleurs, ces espèces fongiques ainsi que les mycotoxines qu'elles produisent, envahissent les graines après leur récolte, causant des pertes économiques importantes dans différentes régions du monde (**Ismail et Papenbrock, 2014**).

### 1.4. Genre *Alternaria*

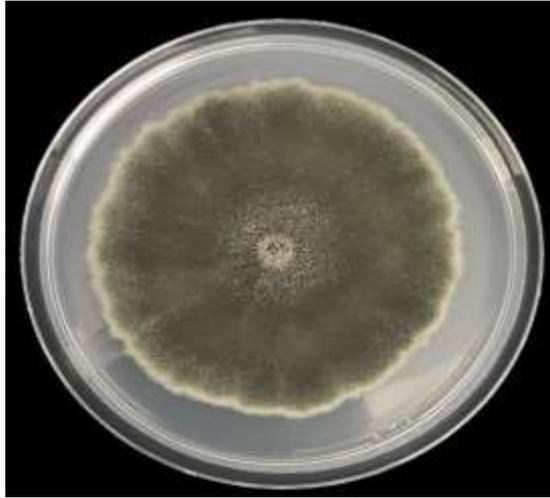
Ces mycètes filamenteux appartiennent à la division des Deutéromycètes. Plus de 80 espèces sont identifiées. *Clathrospora*, *Lewia*, *Pleospora* sont les formes parfaites qui font partie des Ascomycètes. *Alternaria alternata* est la principale espèce de ce genre.

*Alternaria spp* est un genre ubiquitaire, cosmopolite et saprophyte dont plusieurs espèces se trouvent dans le sol ou sur des tissus végétaux morts (**Pryoretal., 2000**).

### 1.4.1. Critères d'identification

#### 1.4.1.1. Macroscopiques

Les colonies d'*Alternaria spp* ont un aspect velouté, de couleur grise à noire (**fig. 11**) et à croissance rapide et leur température optimale de croissance est comprise entre 22°C et 27°C (**Guillaume, 2006**).



**Fig. 11** : Aspect macroscopique d'*Alternaria alternata* [3]

#### 1.4.1.1. Microscopiques

Les espèces de ce genre ont un mycélium cloisonné, des conidiophores courts et cloisonnés, lisses, droits ou flexueux et de couleur foncée. A leur extrémité, il y a des chaînes simples ou ramifiées, irrégulières et brunes de conidies (**fig. 12**) qui initialement ovales, prennent une forme de massue en vieillissant. Elles sont pluricellulaires et divisées par des cloisons longitudinales ou transversales (**Achetbi, 2021**).



**Fig. 12** : *Alternaria alternata* observée au microscope [4]

### 1.4.2. Importance

Certaines espèces comme *Alternaria spp* peuvent devenir des agents pathogènes opportunistes responsables de maladies atteignant l'Homme, les plantes et les insectes (Bennoit, 2011). De nombreuses espèces sont des phytopathogènes pouvant attaquer une large gamme de plantes telles que les céréales, les cultures maraîchères et fruitières. *A. alternata* et *A. infectoria* sont responsables de la plupart des cas de maladies chez l'homme. Seule une dizaine d'individus du genre *Alternaria* est productrice de toxines fongiques (Paccoud *et al.*, 2022).

### 1.5. Genre *Claviceps*

Les espèces de *Claviceps* sont classées dans la division des Ascomycètes, ordre des Sphaeriales et famille des Clavicipitaceae. Ce genre regroupe une cinquantaine d'espèces produisant plus de cinquante alcaloïdes différents (Alderman, 1993). Les *Claviceps* prolifèrent dans les zones tempérées car leur croissance nécessite des températures comprises entre 5 et 20°C.

*Claviceps purpurea* est l'espèce la plus fréquente et la plus nocive pour l'Homme, les animaux et les végétaux [9].

Elle est l'agent de l'ergot du seigle qui infecte les grains des céréales et des graminées et de l'ergotisme chez l'Homme et l'animal (Bouchet *et al.*, 2005).

#### 1.5.1. Critères d'identification

##### 1.5.1.1. Macroscopiques

Les différentes espèces se distinguent par la couleur, la forme et la taille du sclérote, appelé également ergot. Le sclérote est la forme de résistance du champignon durant l'hiver (Gauthier, 2016). Son enveloppe protectrice est rigide et de couleur brun-violacé à noir, présentant plusieurs sillons longitudinaux, dont l'un plus marqué du côté concave. Il forme une masse allongée, arquée, fine aux deux extrémités, mesurant de 1 à 4 centimètres de long sur 2 à 7 millimètres de diamètre. Les ergots de culture étant plus gros que les ergots sauvages. Il comprend aussi quelques fendilles transversales (Karch, 2019).

Composé d'un amas compact de filaments mycéliens, le sclérote germe, au printemps, et le stroma, devient l'organe dans lequel se réalise l'élaboration des ascocarpes, producteurs de spores (fig.13). Le sclérote est la forme de résistance de *Claviceps spp*, alors que la sphacélie en est la forme végétative. Une température de 12°C est idéale pour le

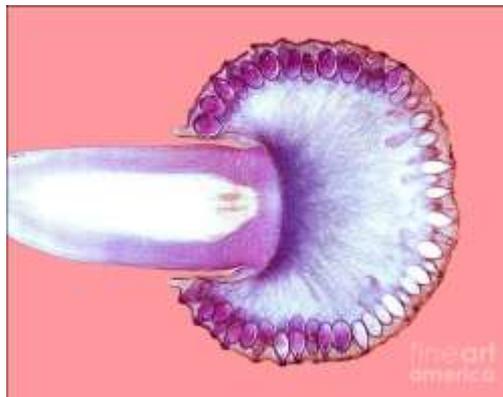
développement des sclérotes et la production de spores. Mais, un temps frais et humide favorise la germination des ergots (**Gauthier, 2016**).



**Fig. 13** : Sclérote de *Claviceps microcephala* [10]

#### 1.5.1.2. Microscopiques

En coupe transversale, des filaments sont enchevêtrés, avec les hyphes centraux qui ont l'aspect d'un pseudo-parenchyme formé de cellules arrondies, renfermant des granulations protéiques et des gouttelettes huileuses. Cependant les cellules de la périphérie sont brunes et rectangulaires et renferment des ilots de pseudo-filaments, des globules huileuses et ne contiennent ni spores ni cristaux (**fig.14**) (**Karch, 2019**).



**Fig. 14** : Forme microscopique de *Claviceps purpurea* [5]

### 1.5.2. Importance :

La plupart des agents saprophytes phytopathogènes se développent dans les organes reproducteurs des végétaux. Les espèces de *Claviceps* n'infectent que les fleurs des hôtes sensibles ; l'infection implique le remplacement de l'ovaire par une structure spécialisée qui se développe en un sclérote (une masse dure et compacte du tissu fongique) (Pitt *et al.*, 2012). *Claviceps spp* est le parasite de plus de 600 plantes monocotylédones des familles des Poaceae, des Juncaceae et des Cyperaceae (Paul et Schiff, 2006).

Chez l'Homme, *Claviceps purpurea* est responsable de l'ergotisme, anciennement appelé « Mal des Ardents ». Autrefois, causé par l'ingestion de farines contaminées par les alcaloïdes produits par le sclérote de *Claviceps spp*. De nos jours, les cas d'ergotisme sont rares voire inexistantes.

Les alcaloïdes de l'ergot ont des propriétés thérapeutiques remarquables. D'après Stoll, (1965) « L'ergot est un véritable monument de trésors pharmacologique ». Les propriétés vasoconstrictrices de l'ergotamine et de ses dérivés hémi synthétiques sont actuellement utilisées pour traiter les cas d'hypotensions orthostatiques et de crises migraineuses (Fangeat, 2008).

## 2. Les types de moisissures toxigènes

### 2.1. Les moisissures de champ

Les principaux genres sont: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* et *Fusarium*. Ces moisissures peuvent survivre pendant des années dans la graine sèche. Parmi les quatre genres, la toxicité de *Fusarium spp* présente un grand risque pour la santé humaine et animale. Les espèces de ce genre contaminent diverses cultures, principalement le maïs, le blé, le mil et le sorgho, ainsi que des plantes ligneuses. Le genre *Fusarium* est considéré comme "champignon des champs", qui secrète des toxines lorsque les conditions lui sont favorables (Atoui, 2006).

### 2.2. Les moisissures de stockage

Les principaux genres inclus dans cette catégorie sont : *Aspergillus* et *Penicillium*. Le premier genre est considéré comme champignon d'entreposage, bien que la contamination débute fréquemment dans les champs. Ils sont trouvés dans les céréales (maïs, orge, blé) suite à de mauvaises conditions de stockage, à une humidité élevée et à une basse température (Alves de Oliveira, 2013).

Le genre *Fusarium* (champignon des champs) peut apparaître durant le stockage avec un taux d'humidité élevé et une température basse. Presque tous les champignons des stocks envahissent d'abord, et de préférence, le germe des grains, ce qui a pour effet immédiat la réduction du pouvoir germinatif. Les différents facteurs environnementaux, la nature du substrat, le degré de contamination initial, ainsi que les modes de stockage, ont une incidence très importante sur les dégâts causés par le développement fongique, la production des mycotoxines, et la perte de qualité des grains (Atoui, 2006).

### **III. les aliments de bétail : contamination, conséquences et prévention**

#### **1. Contamination des aliments de bétail par les moisissures**

##### **1.1. Les fourrages**

Ils constituent une part importante de la ration des ruminants, et peuvent présenter un risque supplémentaire d'apport de mycotoxines lorsqu'ils sont de mauvaise qualité, ou lorsque les procédés de conservation sont défectueux. Dans le cas de lots de fourrages contaminés, les animaux peuvent être exposés aux mycotoxines durant une longue période.

La contamination des fourrages par les moisissures s'effectue essentiellement au stade de la récolte et durant la conservation. Les principales moisissures retrouvées dans les fourrages conservés appartiennent à des espèces saprophytes et ubiquistes. Elles appartiennent essentiellement aux genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Monascus*, *Geotrichum*, *Trichoderma*. Ainsi, la détermination de la composition de la flore des fourrages secs peut être utilisée comme un critère d'évaluation de la conservation de ces aliments (Boudraet *al.*, 2002).

##### **1.2. L'ensilage**

Une soixantaine d'espèces ont été isolées des ensilages, mais un nombre limité peut effectivement se développer au sein de la masse, du moins pour un ensilage de bonne qualité, comme le *Byssochlamys* spp, le *P. roqueforti* et le *Monascus* spp après 3 à 4 mois de conservation. L'ensilage est parfois l'objet d'atteinte fongique souvent macroscopiquement visible et localisée en surface et aux endroits en contact avec l'air (Driehuis et Oude-Elferink, 2000).

##### **1.3. Foin et paille**

Après la récolte et le séchage, la flore du champ plus hygrophile laisse place à la flore de stockage avec des micro-organismes xérotolérants dont les plus représentatifs sont les *Aspergillus* et les *Penicillium*. *Stachybotrys atra*, qui peut coloniser aussi bien le foin que la

paille, est une espèce cellulolytique dont le développement est favorisé par l'humidité. La stachybotryotoxicose affecte plusieurs animaux notamment les ruminants (**Berthier et Valla, 2002**).

#### **1.4. Le concentré**

Les céréales sont des vecteurs importants de mycotoxines, particulièrement pour les aflatoxines puisqu'elles sont universellement consommées par l'homme et les animaux (**Foraison, 2013**). Généralement, les petits grains (blé, riz, etc.) sont moins facilement contaminés que les gros, tel que le maïs. C'est l'enveloppe des grains qui est souvent la plus riche en mycotoxine ; son élimination après broyage permet de diminuer significativement le taux de mycotoxines des farines, mais pose un nouveau problème sanitaire lorsque le son est récupéré pour l'alimentation de bétail (**Berthier et Valla, 2002**).

### **2. Les conséquences d'un développement fongique**

Le développement des moisissures s'accompagne d'une modification plus ou moins importante de l'aliment, et d'une production de mycotoxines dangereuses pour l'homme et les animaux.

#### **2.1. Altération de la valeur alimentaire et des qualités organoleptiques**

Les micromycètes possèdent des enzymes très variées qui leur permettent d'utiliser plusieurs types de substrats. Sous certaines conditions, notamment de température et d'humidité, ils peuvent se développer et provoquer de multiples modifications biochimiques et nutritionnelles. Un développement fongique même minime sur les fourrages confère à ces derniers un goût de moisi et/ou une diminution de l'appétibilité qui peut constituer un facteur de refus ou une diminution de l'ingestion. Les pertes touchent essentiellement la matière sèche (MS), les glucides et les produits azotés (**Boudra et al., 2002**).

#### **2.2. Effets sur la santé animale et humaine**

Certaines espèces fongiques sont responsables de mycoses et de réactions allergiques chez l'homme et l'animal. *A. fumigatus* est une espèce fréquemment retrouvée dans les fourrages et connue pour être responsable d'aspergillose pulmonaire et de mammites chez les animaux (**Boudra et al., 2002**).

En raison des propriétés immunosuppressives de la plupart des mycotoxines, leur ingestion même à faibles doses augmente l'incidence des maladies dans les troupeaux et entraîne une diminution de leurs performances zootechniques. Les pertes de performances (chute de la production de lait, perte d'état corporel, ...) se situent entre 5 et 10% avec des

rations moisies même en l'absence de mycotoxines. Mais les mycotoxines augmentent ces pertes en causant des avortements, des maladies respiratoires, des déplacements de caillette, etc. De plus, leur effet est amplifié avec le stress (**Animal Feed News, 2008**).

Une autre conséquence de la contamination des aliments pour animaux par les mycotoxines est la possibilité de transfert de ces toxines et/ou de leurs métabolites dans les produits animaux notamment le lait. Parmi ces toxines, l'aflatoxine M1 est douée d'un redoutable effet cancérigène (**Yiannikouris et Jouany, 2002**).

### **3. Contrôle du développement des moisissures**

Etant donné que les moisissures peuvent se développer sur les plantes pendant leur culture ou sur les produits agricoles pendant leur stockage et elles ont, lorsque les conditions sont favorables, la capacité de produire des mycotoxines. La première stratégie pour diminuer le taux de mycotoxines est donc de limiter la prolifération des moisissures.

#### **3.1. Les bonnes pratiques de cultures**

Pour prévenir la contamination fongique au champ plusieurs points doivent être respectés. D'abord, des pratiques culturales adaptées permettent de réduire les risques de contamination :

- la gestion des résidus de culture du précédent cultural (**Barrier-Guillot et al., 2007**) est très importante pour éviter une contamination des futures cultures ;
- La rotation culturale et le labour permettent également de limiter la contamination fongique (**Munkvold, 2003; Champeil, 2004**) ;
- la semaison des cultures doit s'effectuer dans une période ne contribuant pas au stress de la plante car cela favorise la prolifération des champignons ;
- L'utilisation d'agents anti-fongiques peut aussi apporter une garantie complémentaire lorsqu'un risque prévisible existe (**Paul et al., 2008**) ;
- Des variétés de plantes sélectionnées sur le critère de résistance aux moisissures peuvent être en priorité cultivées (**Snijders, 2004**) ;
- La présence d'insectes ravageurs de culture, comme la pyrale, induisant des lésions dans les tiges et les épis, favorise l'entrée des moisissures dans la plante (**Sinha et Sinha, 1990**). Il est donc important de limiter l'accès des produits agricoles à ces insectes.

### 3.2. Les bonnes pratiques de stockage

Plusieurs facteurs importants peuvent être maîtrisés pour éviter une contamination fongique durant le stockage. Cependant, les bonnes pratiques de stockage ne sont pas les mêmes, elles varient selon le type d'aliment. Dans le foin, le facteur limitant le développement des moisissures est la faible humidité (séchage rapide et humidité inférieure à 10-20%), alors que dans les ensilages, ce sont les conditions d'anaérobiose (tassage) et de  $\text{pH} < 4$ . Dès la mise en silo, il est très important de mettre l'ensilage dans des conditions d'anaérobiose précoces et durables (hachage fin, bon tassage, teneur en matière sèche pas trop élevée) et d'assurer un départ rapide de la fermentation (possibilité de rajouter des conservateurs) (**Baillyet al., 2006**). En effet, bien qu'aérobies obligatoires, les champignons peuvent continuer à respirer à des concentrations en oxygène de 4 % (**Duquesnoy, 2005**).

Pour les céréales, les facteurs limitant sont la température et l'humidité des grains (**Fangeat, 2008; Yiannikouris et Jouany, 2002; Laumonier, 2006**). L'intégrité physique des grains stockés doit être préservée. Un mélange de grains et/ou un temps de stockage long doivent être évités pour diminuer la contamination fongique. Le contrôle des conditions de stockage (séchage, contrôle de la température, humidité, oxygénation des silos...) est très important afin d'éviter la prolifération de moisissures et l'éventuelle production de mycotoxines (**Schrödter, 2004**). Pendant le stockage dans des silos, une concentration faible en  $\text{O}_2$  ( $< 1\%$ ) et une augmentation du taux de  $\text{CO}_2$  sont efficaces pour prévenir le développement des moisissures (**Driehuis et Oude-Elferink, 2000**).

Un tri peut être effectué pour éliminer les grains contaminés. Ils n'ont ni la même forme, ni la même couleur, ni la même densité que les grains sains. Les grains peuvent alors être triés selon leur apparence (tri simple) ou selon leur densité (ségrégation par le poids) (**Afolabi et al., 2006 ; Kabak et al., 2006**).

**PARTIE  
PRATIQUE**

## I. Matériel et méthodes

### 1. Examen mycologique des aliments des ruminants

#### 1.1. Échantillonnage des aliments

Pour la réalisation de cette étude, 14 échantillons d'aliments de bétail ont été prélevés au hasard (**Fig. 15**), en suivant certaines précautions d'échantillonnage :

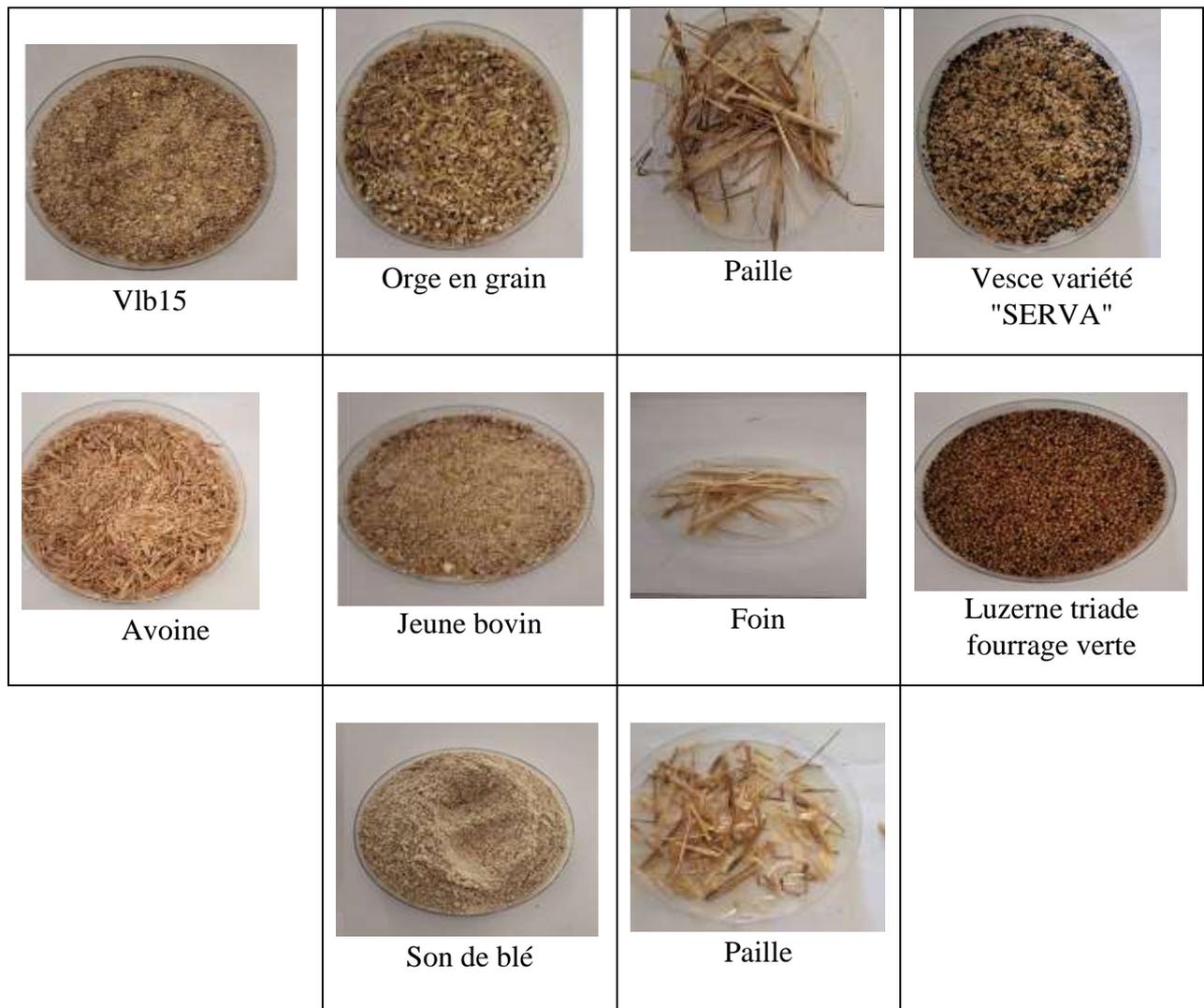
- Prise de 8 à 10 échantillons provenant de la surface, des côtés ou des rebords (endroits plus propices à l'apparition de moisissures), et des couches profondes des lots d'aliment de stockage. Les prélèvements ont été effectués à l'aide de gants stériles pour chaque aliment ;
- Mélange des échantillons (8 à 10 prises) d'un même aliment afin d'avoir l'échantillon composite final ;
- Mise de l'échantillon composite dans un sac en papier propre, fermé et bien protégé contre la contamination extérieure ;
- Respect des règles d'hygiène générale pour la personne effectuant le prélèvement ;
- Etiquetage des sacs de prélèvements en mentionnant sur l'étiquette la date de prélèvement, le nom de l'aliment, le nom de la ferme, la durée de stockage de l'aliment.
- Acheminement rapide des échantillons vers le laboratoire et conservation dans un endroit frais et sec jusqu'à leurs analyses (**FAO, 2006**).

Les échantillons proviennent de 13 aliments différents (orge, aliment ovin, son de blé, ensilage de maïs, paille, luzerne triade, vlb17, vlb15, concentré, vesce variété "SERVA", avoine, foin, jeune bovin). La collecte a été faite au printemps et précisément au mois d'avril de l'année 2022.

L'échantillonnage a été réalisé au niveau de trois types de fermes :

Une ferme pilote, une ferme traditionnelle et une ferme école située dans la même région de Guelma (**Tableau 6**). En outre, une fiche d'enquête (**voir annexe 1**) a été remplie pour chaque ferme lors de sa visite.

Tous les échantillons ont été transportés au laboratoire de l'université du 8 Mai 45 de Guelma dans les heures qui suivent leur prélèvement, où ils ont été conservés dans de bonnes conditions de température, à l'abri de la lumière et loin de toute contamination par les champignons jusqu'à leur analyse mycologique.



**Fig. 15** : Les différents types d'aliments analysés.

Aucun échantillon n'a présenté de signes visibles de contamination par les moisissures au moment de la collecte.

**Tableau 6** : Origine et type des différents aliments analysés.

Fermes	Abréviation	Type de ferme	Date de prélèvement	Types d'aliments
INSTITUT TECHNOLOGIQUE D'AGRONOMIE ET D'ELEVAGE	F1	Ferme école	18-04-2022	Vlbc17 Vlbc15 Vesce variété "SERVA" Luzerne triade Avoine Orge en grain Aliment ovine Concentré Jeune bovin
MEKHENCHA NAFAA	F2	Ferme pilote	18-04-2022	Ensilage Foin Paille
HRIDI-AMAR	F3	Ferme traditionnelle	26-04-2022	Son de blé Paille

## 1.2. Les milieux de culture

### 1.2.1. Préparation des milieux de culture

Quatre milieux de culture (MEA, sabouraud, CYA, PDA) ont été utilisés pour l'analyse mycologique. Ces milieux ont été préparés au laboratoire dans de bonnes conditions d'hygiène, en suivant les manipulations suivantes :

- Peser les quantités de produits requis (**annexe 2**) ;
- Mettre les produits pesés dans un Bécher avec 500 ml d'eau distillée ;
- Mettre le Bécher sur un agitateur magnétique chauffant et le laisser mélanger pendant 20 minutes (**fig. 16**) ;
- Une fois que l'agar soit bien dissoute et les autres ingrédients également, verser le milieu préparé dans des flacons en verre propres et secs.



**Fig. 16** : Milieu de culture sur agitateur magnétique chauffant.

### 1.2.2. Ajustement du potentiel d'hydrogène

Le pH est mesuré l'aide d'un pH-mètre de type 'Ohaus'. Avant chaque mesure, l'électrode du pH-mètre est nettoyée avec de l'eau distillé et séchée avec du papier buvard.

La mesure est faite par immersion de l'extrémité de l'électrode dans le milieu de culture (**fig. 17**). La valeur du pH s'affiche immédiatement sur l'écran, tous les milieux ont été ajustés à un pH de 5,6.



**Fig. 17** : Mesure et ajustement du pH d'un milieu de culture.

### 1.2.3. Stérilisation des milieux de culture

La stérilisation des milieux de culture permet de détruire tous les germes qui peuvent être présents au départ dans le milieu de culture. Les flacons remplis de milieux de culture sont déposés dans l'autoclave pour être stérilisés par de la vapeur d'eau sous pression à 120°C pendant 20 minutes.

### 1.2.4. Addition de l'antibiotique

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique de la famille des phénicolés qui permet d'inhiber la plupart des bactéries. Il a été ajouté aux différents milieux de culture utilisés pour inhiber toute prolifération bactérienne, à raison de 10 µl par 100 ml de milieu.

## 1.3. Coulage des milieux de culture en boîtes Petrie

Au préalable, il faut mettre les flacons de gélose dans le bain marie pour les faire fondre à 50°C (**fig. 18**), nettoyer la paillasse à l'eau de javel et allumer le bec Bunsen au moins 10 minutes avant de faire couler la gélose.

Une fois le milieu gélosé fondu, il faut ouvrir le flacon dans le périmètre de stérilité en maintenant le bouchon entre la paume de la main droite et l'auriculaire. Passer l'ouverture du flacon dans la flamme du bec Bunsen et verser 10 à 20 ml du milieu dans la boîte de Petri de façon à couvrir le fond. Laisser la boîte à moitié ouverte en direction de la flamme pendant quelques instants pour l'évacuation de la vapeur d'eau. Passer l'ouverture du flacon dans la flamme une deuxième fois puis couler les boîtes suivantes de la même manière.

Déplacer les boîtes par glissement doux sur une zone plus froide de la paillasse et les fermer dès qu'elles sont complètement solidifiées. Ensuite, retourner les boîtes pour empêcher l'eau de condensation accumulée sous le couvercle de retomber sur le milieu et le stockage doit se faire dans cette position. Le délai de conservation des boîtes de Pétri préparées ne doit pas excéder trois ou quatre jours (**Camille, 2008**).



**Fig. 18** : Milieu gélosé en surfusion.

## 1.4. Isolement, repiquage et purification des moisissures

### 1.4.1. Technique d'isolement

L'étude de la mycoflore a été réalisée par la méthode indirecte. Les échantillons de la paille et du foin ont été découpés en petits fragments de 2 à 3 mm tandis que l'orge et l'avoine ont été broyées avec un broyeur électrique (KENEMATICA AG). Dans des conditions stériles et près du bec Bunsen, cinq échantillons, de chaque aliment, ont été prélevés à l'aide d'une pince stérile et déposés à cinq endroits différents dans une boîte de Pétri, de façon qu'ils soient suffisamment espacés (**fig. 19**). Sur chaque boîte ont été inscrits les noms du milieu, de l'aliment et de ferme. Les boîtes de Pétri ont été ensuite fermées avec un film transparent, et incubées à 25°C à l'étuve pendant 3 à 5 jours, afin de favoriser la croissance des moisissures (**Davet et Rouxel, 1997; Botton *et al.*, 1990**).



**Fig. 19** : Technique d'isolement.

### 1.4.2. Repiquage et purification

Après 4 à 5 jours d'incubation et pousse des colonies fongiques, plusieurs repiquages des souches de moisissures ont été effectuées sur les mêmes milieux de cultures et dans des conditions stériles jusqu'à l'obtention de souches pures. Le choix des souches de moisissures à prélever a été réalisé à l'œil nu, en tenant compte de la ressemblance des thalles.

Le repiquage a été effectué par prélèvement d'un fragment mycélien à la marge du thalle ; à l'aide d'une anse de platine stérilisée à la flamme du bec Bunsen, tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte de Petri. Le fragment a été déposé au centre d'un milieu neuf en boîte de Petri, puis les boîtes ont été étiquetées, fermées avec et déposées à l'étuve réglée à 25°C (**Botton *et al.* 1990; Davet et Rouxel, 1997**).

### 1.5. Identification des moisissures

#### 1.5.1. L'observation macroscopique

L'identification des moisissures repose sur l'observation macroscopique des colonies fongiques en boîtes de Petri le 3<sup>ème</sup> jour voire le 4<sup>ème</sup> jour après l'incubation (cultures jeunes) et sur des cultures de 7 jours, cela dépend de la vitesse de croissance de la souche. Les caractères cultureux macroscopiques ont été notés pour chaque colonie à savoir : la vitesse de croissance, l'aspect du thalle, la forme de la surface de la colonie, la couleur de la colonie (surface et revers), la présence d'un pigment diffusible ou d'exsudats des moisissures (**Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012**).

#### 1.5.2. Observation microscopique

L'étude microscopique est basée sur l'observation des structures caractéristiques des souches fongiques :

- ✓ Le mycélium : cloisonné (septé) ou non cloisonné (coenocytique) ;
- ✓ Les spores : forme, taille, mode d'insertion aux filaments, spores isolées, en chaînes, en grappe, portées par des conidiophores, etc.

Elle nécessite la préparation des lames par la technique du drapeau, qui consiste à couper un morceau de cellophane adhésive (de scotch) collé à une de ses extrémités par une pince et de l'appliquer sur le bord de la colonie, puis le décoller délicatement pour le recoller ensuite sur une lame sur laquelle est préalablement déposé une goutte de bleu de méthylène (**Guezlane-Tebibel *et al.*, 2012**).

L'observation microscopique a été effectuée au 7<sup>ème</sup> jour, pour pouvoir observer des structures bien différenciées et caractéristiques de l'espèce. En effet, l'identification repose principalement sur la formation des spores.

Les lames préparées ont été observées aux objectifs (x 40) et (x 60). L'identification a été réalisée selon la clé d'identification de **Botton *et al.*, (1990)**.

### 1.6. Expression des résultats

La fréquence d'isolement (Fr), et la densité relative(Dr) des espèces ont été calculées selon la méthode de **Gonzalez *et al.* (1995)** et **Kollu *et al.* (2009)**.

$$Fr (\%) = \frac{\text{nombre des échantillons avec un genre ou une espèce}}{\text{nombre total des échantillons}} \times 100$$

$$Dr (\%) = \frac{\text{nombre des isolats d'un genre ou d'une espèce}}{\text{nombre total des champignons isolés}} \times 100$$

## II. Résultats

### Identification des moisissures contaminant les aliments des ruminants

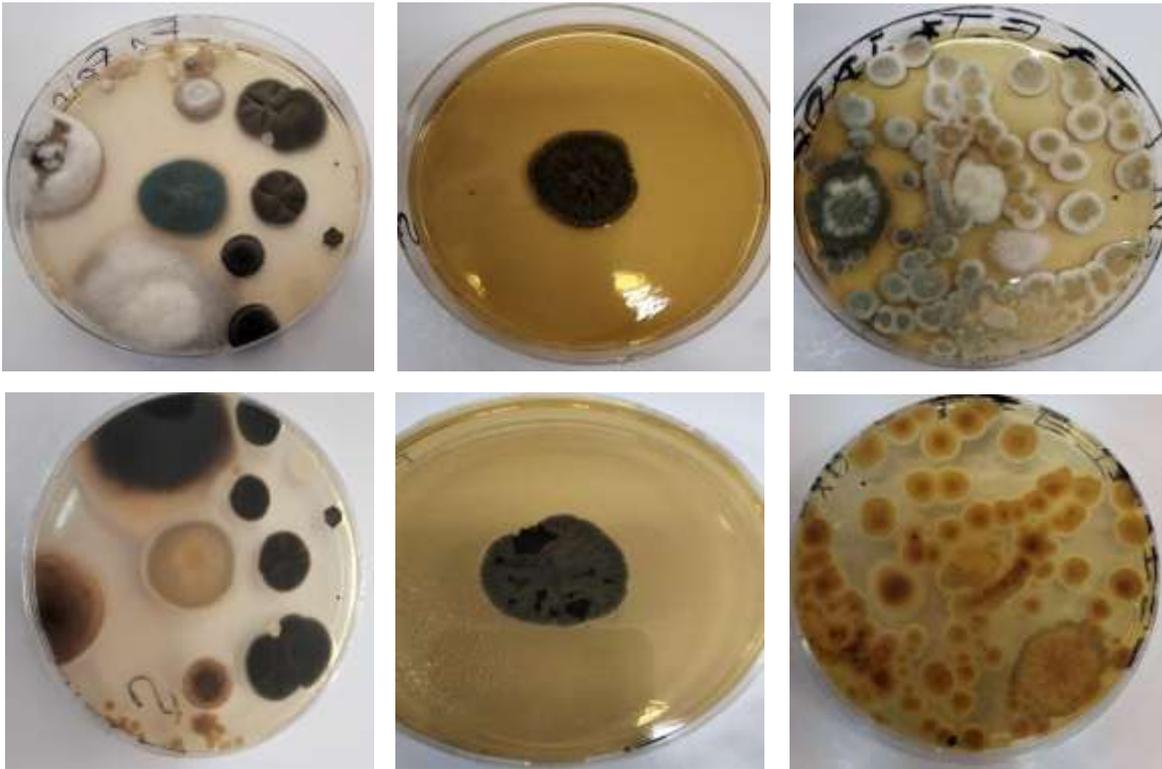
En se référant à la clé d'identification de **Botton et al., (1990)**, plusieurs genres et quelques espèces ont pu être identifiés en se basant sur l'aspect macroscopique des colonies, leur couleur (recto et verso), leur vitesse de croissance et l'observation microscopique des moisissures qui repose principalement sur le mode de formation des spores (conidies), leur type de groupement, leur couleur et leur forme ainsi que le type de thalle (**fig. 20 à 47**).

Une description morphologique des espèces fongiques isolées, basée sur les caractères culturels est présentée dans le (**tableau 7**).

**Tableau 7** : Caractères culturels de quelques espèces de moisissures isolées

Genre	Espèce	Thalle	Couleur de colonie	Couleur de revers et Milieu de culture	Vitesse de croissance	Aspect des colonies
<i>Mucor</i>	<i>M. circinelloides</i>	Non cloisonné	Brun jaunâtre claire ou blanc gris ou noir	Incolore sur MEA	Très Rapide	Velouté
<i>Rhizomucor</i>	<i>R pusillus</i>	Non Cloisonné Ramifié	Blanc puis gris à noir	Incolore sur S	Très Rapide	Filamenteux
	<i>R pusillus</i>	Non cloisonné Très ramifié	Blanc puis gris à noir	Incolore sur CYA	Très Rapide	Filamenteux Laineux
	<i>R miehei</i>	Très ramifié Non cloisonné spores globuleux	Blanc puis gris	Incolore sur CYA	Rapide	Laineux
<i>Alternaria</i>	<i>A alternata</i>	Cloisonné Ramifié	Noir	Noir sur PDA	Rapide	Velouté
	<i>A alternata</i>	Cloisonné ramifié	Noir	Noir sur CyA	Rapide	Velouté
	<i>Alternaria sp</i>	Ramifié Cloisonné	Noir	Noir sur MEA	Rapide	Velouté

Genre	Espèce	Thalle	Couleur de colonie	Couleur de revers et Milieu de culture	Vitesse de croissance	Aspect des colonies
<i>Aspergillus</i>	<i>A flavus</i>	Non cloisonné	Jaune à orange	Incolore sur S	Rapide	Velouté
	<i>A flavus</i>	Non cloisonné	Ver bleu vert blanchâtre	Incolore sur PDA	Rapide	Poudreux
	<i>A fumigatus</i>	Non cloisonné	Noir	Incolore ou brun-Rouge sur MEA	Rapide	Filamenteux
<i>Penicillium</i>	<i>P citrinium</i>	Cloisonné Thalle porte 3 métules ou chaque métule porte 3 phialides	Vert à gris	Jaune à orange sur MEA	Très lente	Velouté
	<i>P citrinium</i>	Cloisonné thalle porte 2 ramifications chaque ramifications porte 2 métules chaque métule porte 2 phialides	Vert a gris	Jaune à orange sur PDA	Très lente	Velouté
	<i>P sp<sub>1</sub></i>	Cloisonné	Blanc a gris à noir	Jaune agris sur S	Très lente	Filamenteux
<i>Fusarium</i>		Cloisonné Très rammifie	Vert	Incolore sur S	Rapide	Laineux
Cladosporium	<i>C Cladosporiodes</i>	Cloisonné	Vert	Noir verdâtre sur S	Rapide	Velouté



**Fig 20** : Colonies de moisissures poussant sur différents milieux de culture après 7 jours d'incubation



**Fig 21** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Aspergillus flavus* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de luzerne triade



**Fig 22** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Aspergillus fumigatus* sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de Vbl 17



**Fig 23** : Aspect macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Aspergillus fumigatus* sur milieu MEA d'un échantillon de Vesce versé variété



**Fig 24** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Penicillium citrinum* sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de luzerne triade



**Fig 25** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Penicillium citrinum* sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de luzerne triade



**Fig 26** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Penicillium sp1* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon d'orge



**Fig 27** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Penicillium sp2* sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de foin



**Fig 28** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Rhizopus oryzae* sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de Vesce versé variété.



**Fig 29** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Rhizopus stolonifer* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de VbL15.



**Fig 30** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) *Rhizopus oligosporus* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon d'orge



**Fig 31** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Fusarium oxysporum* sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de VLB17



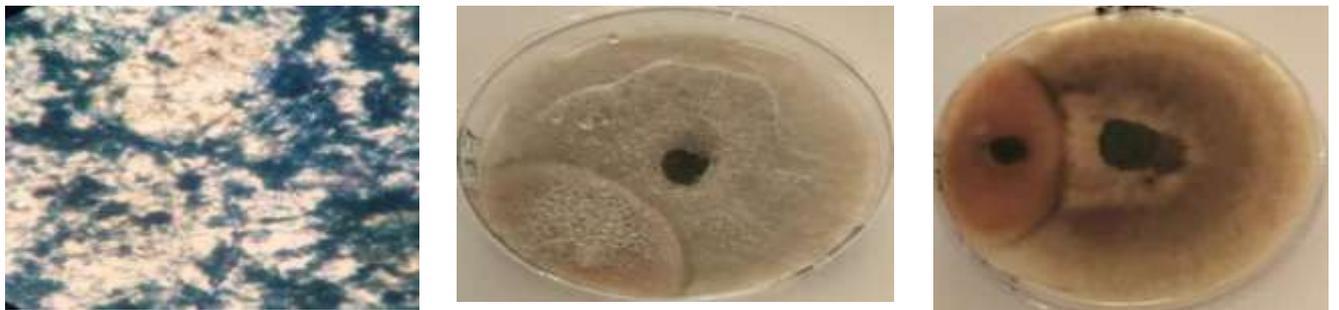
**Fig 32** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Fusarium sp* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de paille



**Fig 33** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Cladosporium cladosporioides* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de luzerne triade



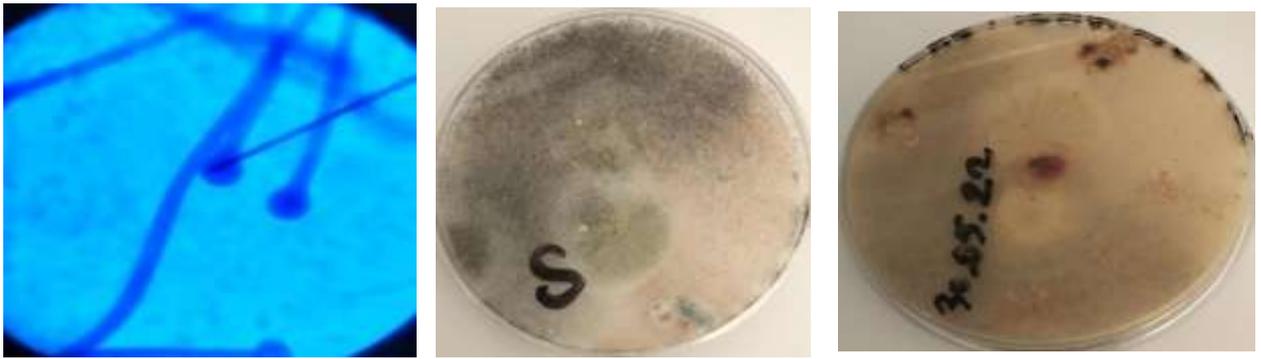
**Fig 34** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Cladosporium cladosporioides* sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de luzerne triade



**Fig 35** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Cladosporium sp* sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de foin



**Fig 36** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Cladosporium resinae* sur milieu sabouraud, isolé d'un échantillon de foin



**Fig 37** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) *Rhizomucor pusillus* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de son de blé.



**Fig 38** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Rhizomucor miehei* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de foin.



**Fig 39** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x60) *Rhizomucor pusillus* sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de foin



**Fig 40** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Geotrichum candidum* sur milieu MEA, isolé d'un échantillon de foin



**Fig 41** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Geotrichum candidum* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de paille



**Fig 42** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique(x40) de *Geotrichum sp* sur milieu Sabouraud, isolé d'un échantillon de foin



**Fig. 43** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Alternaria alternata* sur milieu PDA, isolé d'un échantillon de luzerne triade



**Fig. 44** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Alternaria alternata* sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de paille



**Fig. 45** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) *Alternaria sp* sur milieu Sabouraud, isolé de l'orge



**Fig. 46** : Aspect macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) de *Mucor circinelloides* sur milieu MEA, isolé du paille



**Fig. 47** : Aspects macroscopique (recto et verso) et microscopique (x40) d'*Aspergillus flavus* sur milieu CYA, isolé d'un échantillon de foin

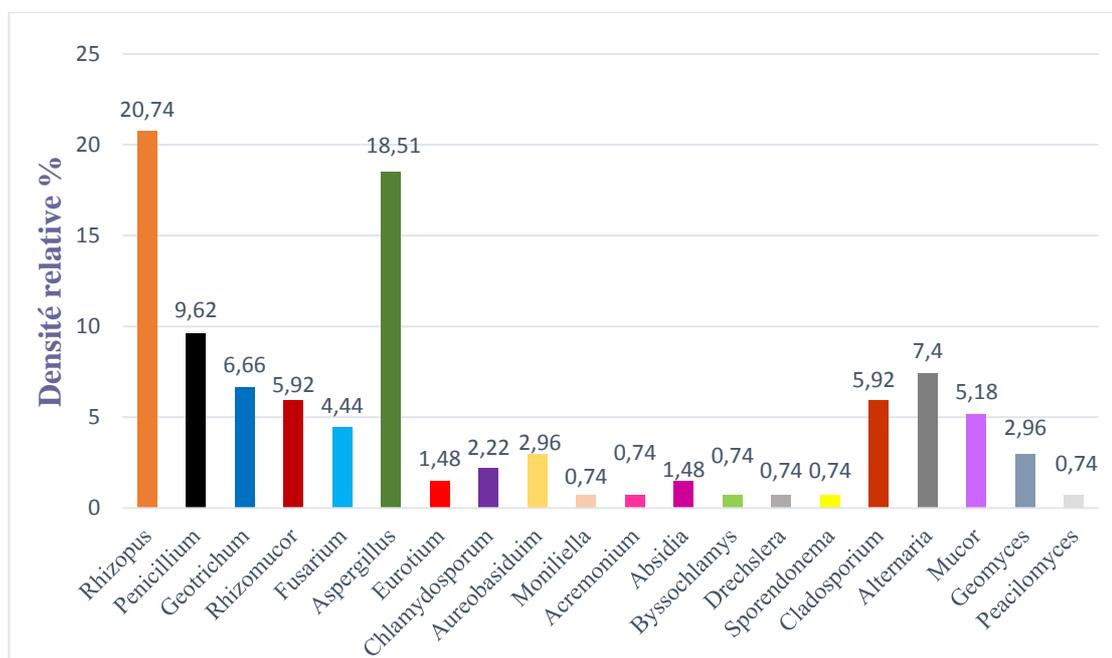
## 2. Prédominance de la mycoflore totale isolée

Les analyses mycologiques ont révélées que tous les échantillons des aliments des ruminants analysés (n= 14) sont contaminés par différentes souches de moisissures. Au total, 135 souches fongiques ont été isolées à partir des aliments distribués aux animaux des trois fermes situées dans la région de Guelma.

Les observations macroscopiques et microscopiques ont permis d'identifier vingt genres fongiques (**fig. 48**), présentés dans l'ordre décroissant de prédominance comme suit :

*Rhizopus* (20,74%), *Aspergillus* (18,51%), *Penicillium* (9,62%), *Alternaria* (7,40%), *Geotricum* (6,66%), *Cladosporium* (5,92%), *Rhizomucor* (5,92%), *Mucor* (5,18%), , *Fusarium* (4,44%), *Aureobasidium* (2,96%), *Geomyces* (2,96%), *Chlamydosporum* (2,22%), *Eurotium*

(1,48%), *Absidia* (1,48%), *Moniliella* (0,74%), *Acremonium* (0,74%), *Byssochlamys* (0,74%), *Drechslera* (0,74%), *Sporendonema* (0,74%), *Paecilomyces* (0,74%).



**Fig. 48 :** Densité relative des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons analysés

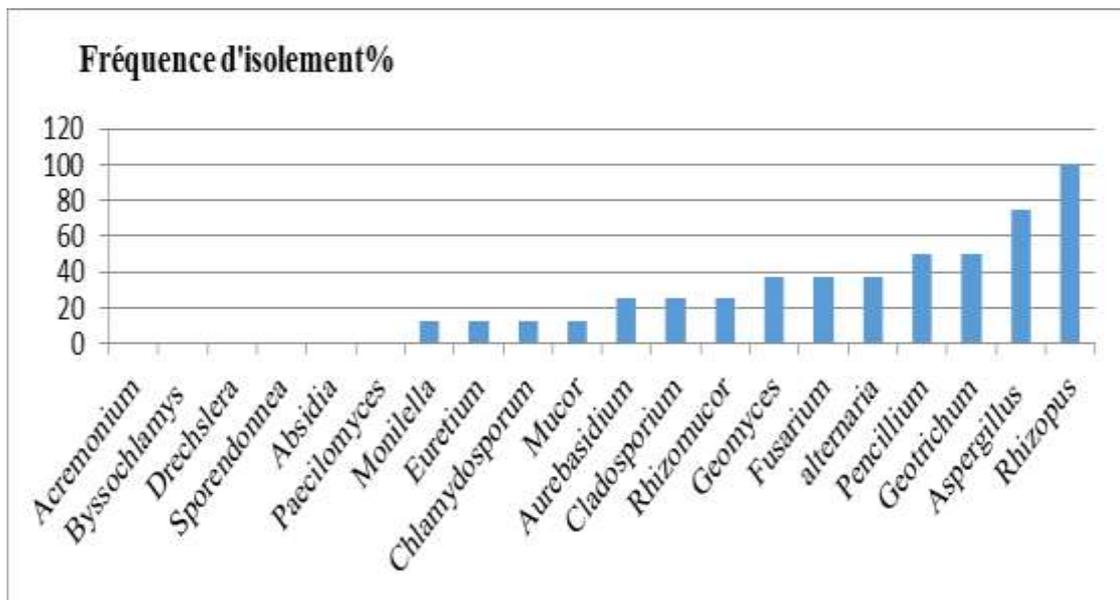
Nous avons classés les genres des souches isolés selon leur prédominance en :

- **Genres dominants :** *Rhizopus* (20,74%), *Aspergillus* (18,51%).
- **Genres moins dominants :** *Penicillium* (9,62%), *Alternaria* (7,40%).
- **Genre minoritaires :** *Geotrichum* (6,66%), *Cladosporium* (5,92%), *Rhizomucor* (5,92%), *Mucor* (5,18%), *Fusarium* (4,44%), *Eurotium* (1,48%), *Chlamydosporum* (2,22%), *Aureobasidium* (2,96%), *Moniliella* (0,74%), *Acremonium* (0,74%), *Byssochlamys* (0,74%), *Drechslera* (0,74%), *Sporendonema* (0,74%), *Absidia* (1,48%), *Geomyces* (2,96%), *Paecilomyces* (0,74%).

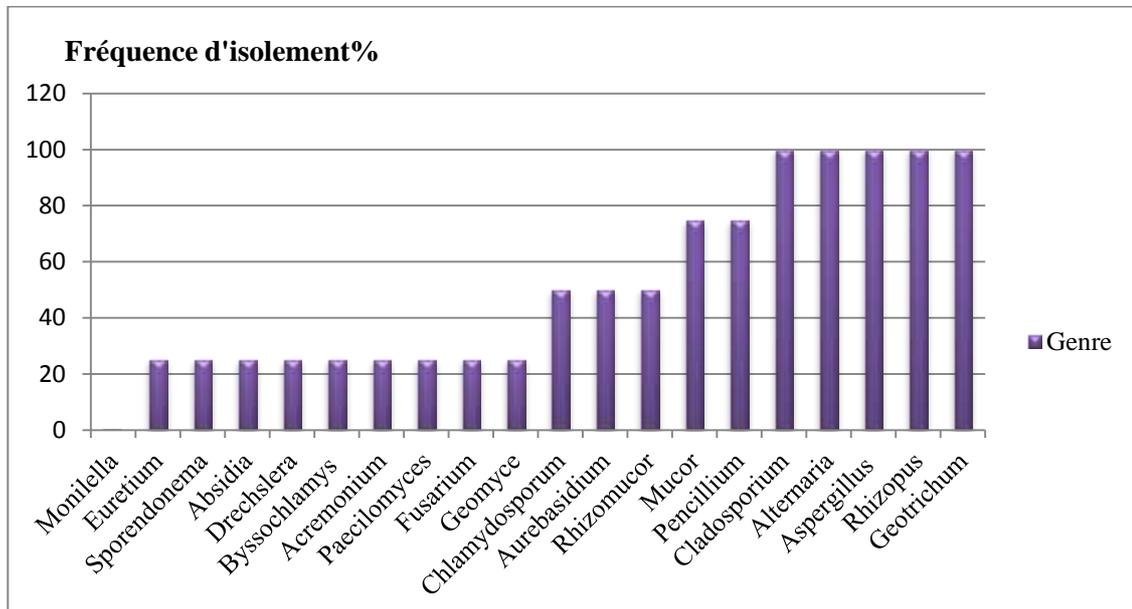
### 3. Résultats de l'analyse des échantillons d'aliment par ferme

#### ➤ Fréquence d'isolement (Fr)

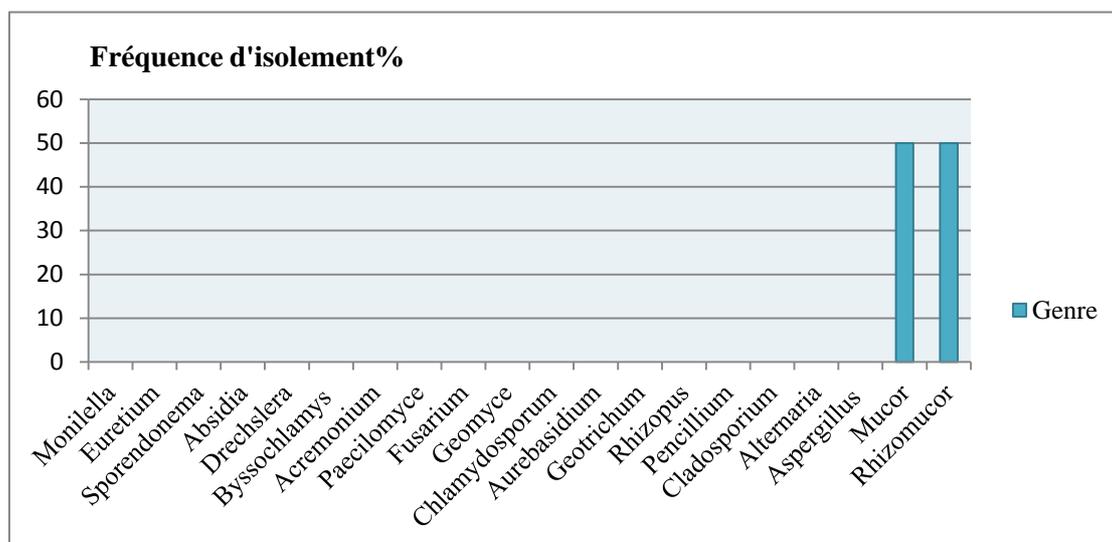
Dans les trois fermes, les moisissures contaminant les différents aliments distribués ont été identifiées, et la fréquence d'isolement pour chaque genre a été déterminée (**fig. 49 à 51**).



**Fig. 49 :** Fréquence d'isolement des genres de moisissures dans la ferme 1



**Fig. 50 :** Fréquence d'isolement de genres de moisissures dans la ferme 2

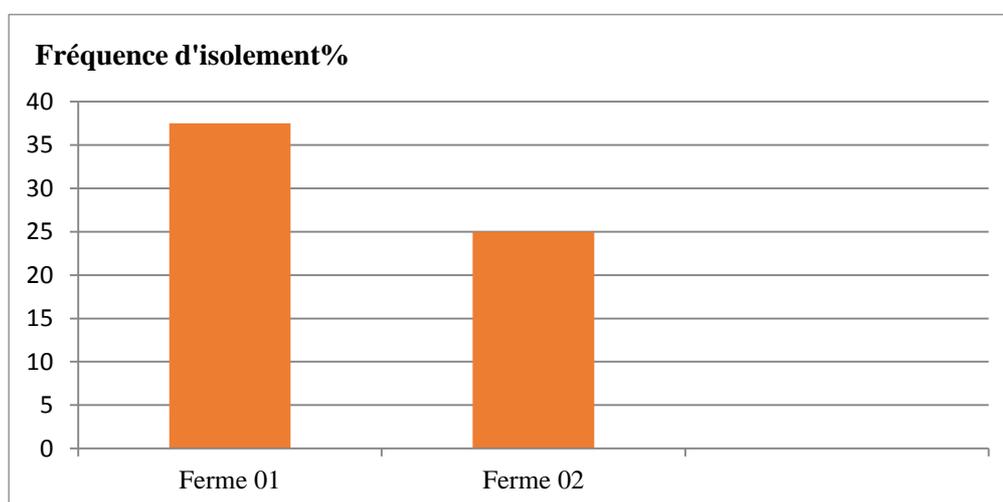


**Fig. 51** : Fréquence d'isolement des genres de moisissures dans la ferme 3

#### ❖ Genres minoritaires :

En termes de fréquence d'isolement (Fr%), certains genres ont été faiblement marqués dans plusieurs aliments, avec des fréquences d'isolement de 0,74% à 2,96%.

Le genre *Geomyces* semble être présent dans les échantillons analysés des deux fermes (F1 et F2) seulement, avec une fréquence qui varie de 25 % à 37,5 % (**fig. 52**).



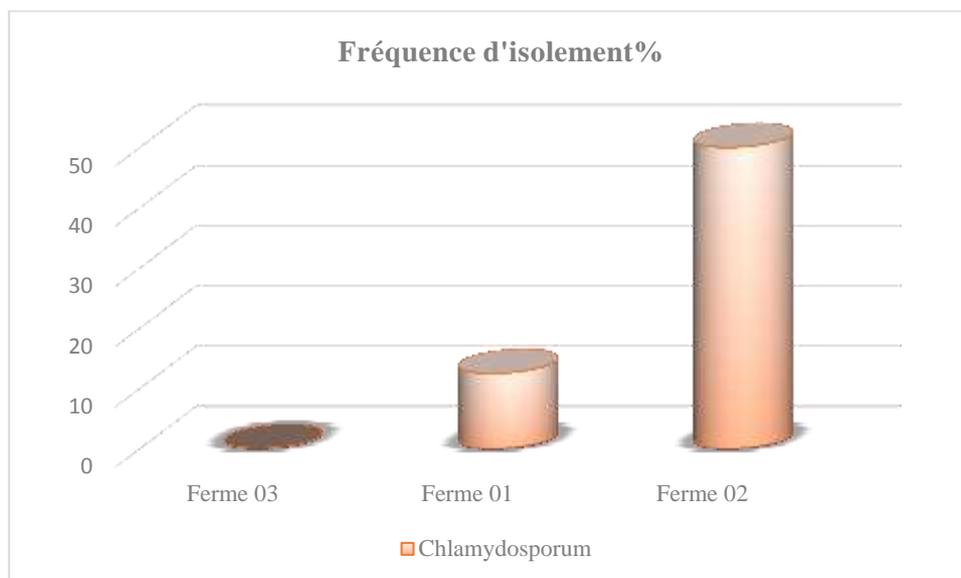
**Fig. 52** : Fréquence d'isolement du genre *Geomyces* dans tous les échantillons analysés de chaque ferme

Les aliments analysés des F1 et F2 sont contaminés par le genre *Eurotium*, avec des fréquences d'isolement respectives de 12,5% à 25%. Par contre, les aliments de F3 sont dépourvus de toute contamination par ce genre (**fig. 53**).



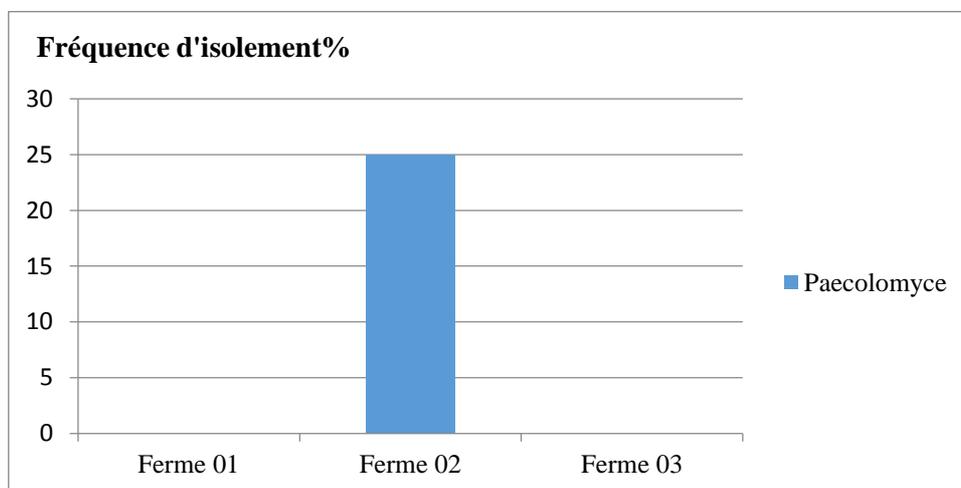
**Fig. 53** : Fréquence d'isolement du genre *Eurotium* dans tous les échantillons analysés de chaque ferme

Le genre *Chlamydosporum* semble être présent dans tous les échantillons analysés de F1 et F2, avec une fréquence qui varie de 12,5% à 50%, à l'exception des échantillons de F3 (Fr : 0%) (**Fig. 54**).



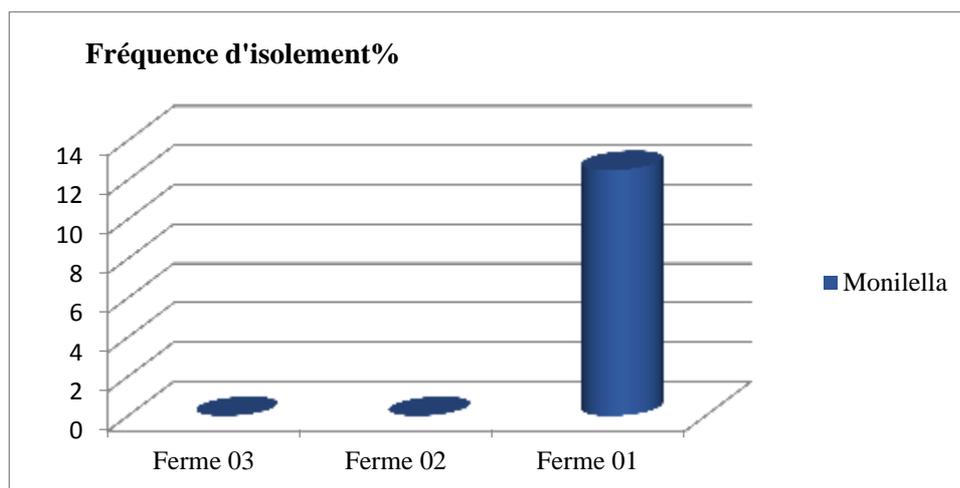
**Fig. 54** : Fréquence d'isolement du genre *Chlamydosporum* dans tous les échantillons analysés

Le genre *Paecilomyces* est présent seulement dans les échantillons analysés de F2, avec une fréquence d'isolement de 25% (Fig. 55).



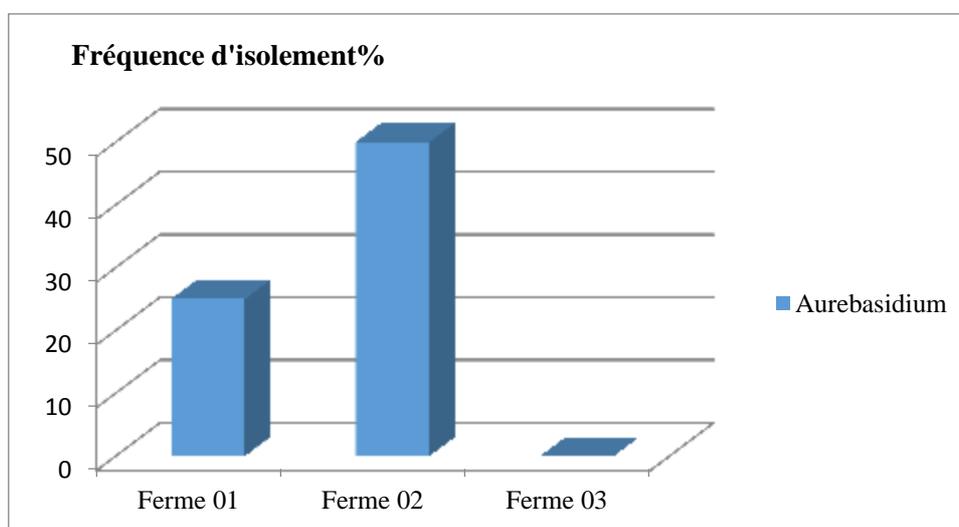
**Fig. 55** : Fréquence d'isolement du genre *Paecilomyces* dans tous les échantillons analysés

Le genre *Moniliella* a été isolé des échantillons analysés de F1 uniquement avec une fréquence de 12,5 % (Fig. 56).



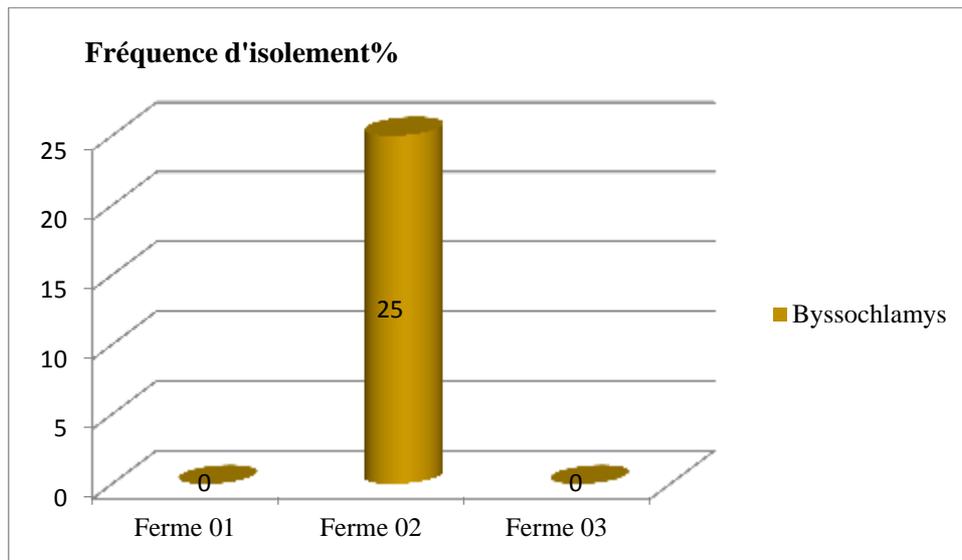
**Fig. 56** : Fréquence d'isolement du genre *Monilella* dans les échantillons analysés

Le genre *Aureobasidium* a été isolé des échantillons analysés de F1 et F2, avec une fréquence d'isolement de 25% à 50% respectivement, par contre les échantillons de F3 sont dépourvus de ce genre (**Fig. 57**).



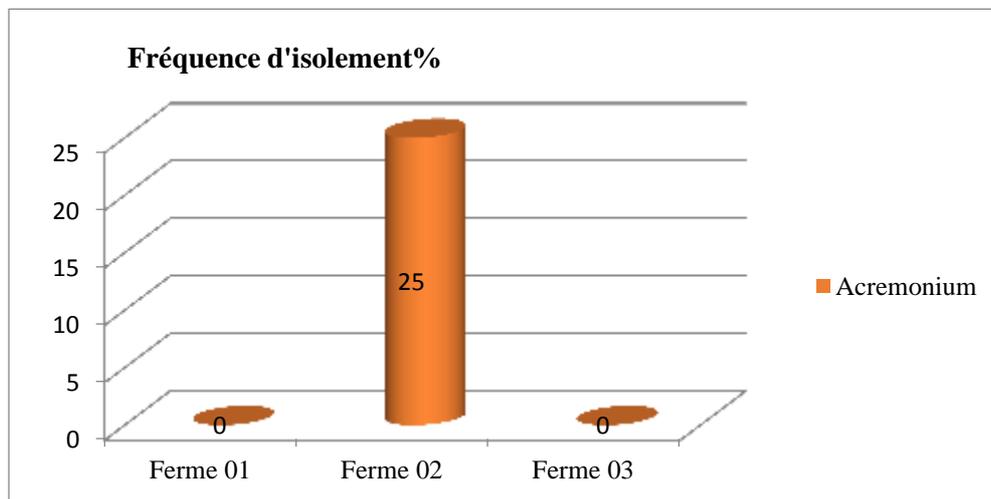
**Fig. 57** : Fréquence d'isolement du genre *Aureobasidium* dans les échantillons analysés de chaque ferme

Les aliments analysés de F2 sont contaminés par le genre *Byssochlamys*, avec une fréquence d'isolement de 25%. Par contre, les aliments des fermes F1 et F3 sont dépourvus de toute contamination par ce genre (**Fig. 58**).



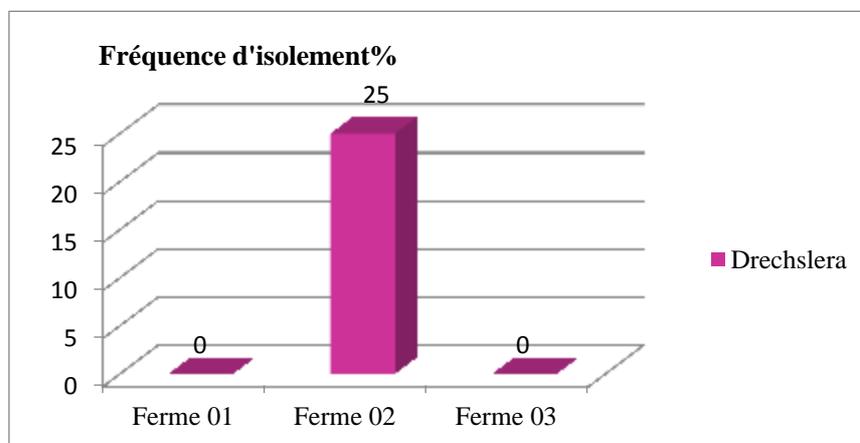
**Fig. 58** : Fréquence d'isolement du genre *Byssochlamys* dans les échantillons analysés

Les aliments analysés de F2 sont contaminés par le genre *Acremonium*, avec une fréquence de 25%. Par contre, les aliments des fermes F1 et F3 sont dépourvus de toute contamination par ce genre (**Fig. 59**).



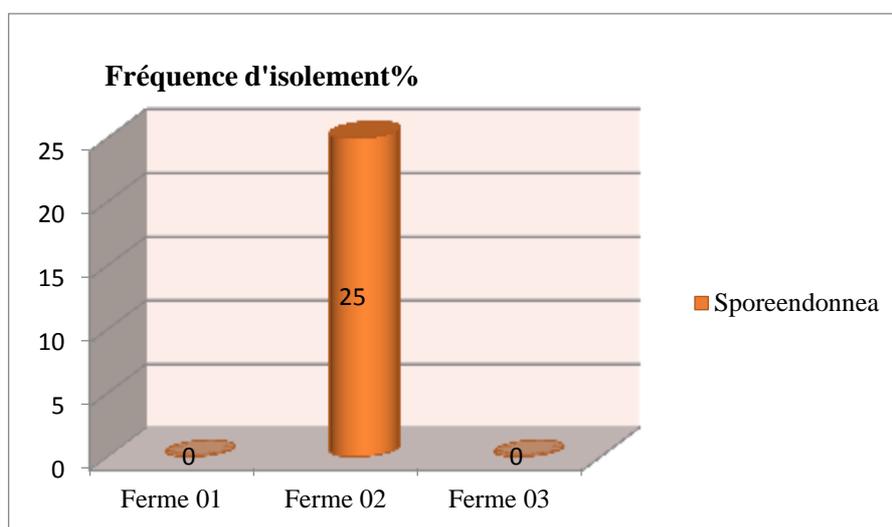
**Fig. 59** : Fréquence d'isolement du genre *Acremonium* dans les échantillons analysés

Le genre *Drechslera* semble être présent dans les échantillons analysés de F2, avec une fréquence de 25%, par contre les échantillons de F1 et F3 sont dépourvus de ce genre (**Fig. 60**).



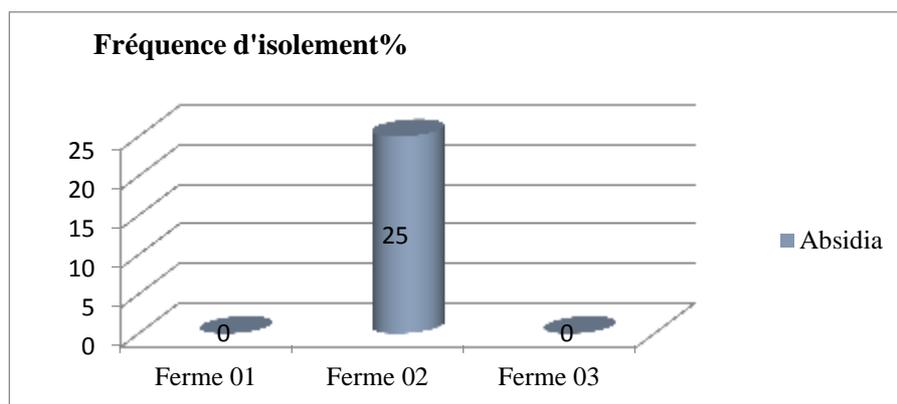
**Fig. 60** : Fréquence d'isolement du genre *Drechslera* dans les échantillons analysés

Le genre *Sporendonema* a été isolé des échantillons analysés de F2, avec une fréquence de 25%, par contre les échantillons de F1 et F3 sont dépourvus de ce genre (**Fig. 61**).



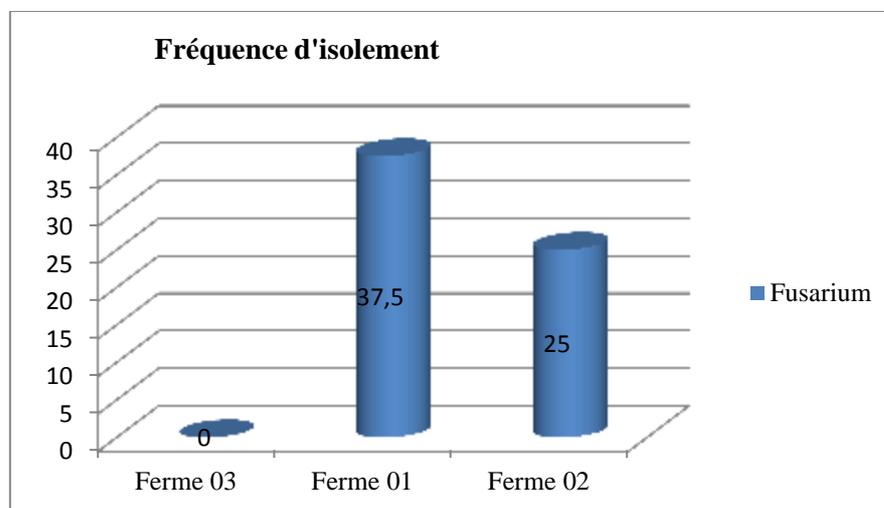
**Fig. 61** : Fréquence d'isolement du genre *Sporendonema* dans les échantillons analysés

Le genre *Absidia* a été isolé uniquement des échantillons analysés de F2, avec une fréquence de 25% (**Fig. 62**).



**Fig. 62** : Fréquence d'isolement du genre *Absidia* dans tous les échantillons analysés

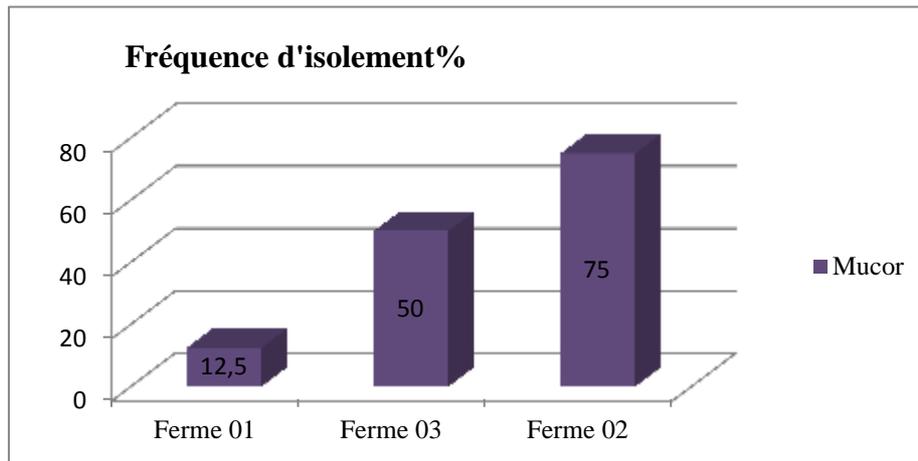
Les aliments analysés, de F1 et F2 sont contaminés par le genre *Fusarium* et ont une fréquence 25% et 37,5% respectivement. Par contre, les aliments de F3 sont dépourvus de toute contamination par ce genre (**Fig. 63**).



**Fig. 63** : Fréquence d'isolement du genre *Fusarium* dans tous les échantillons analysés

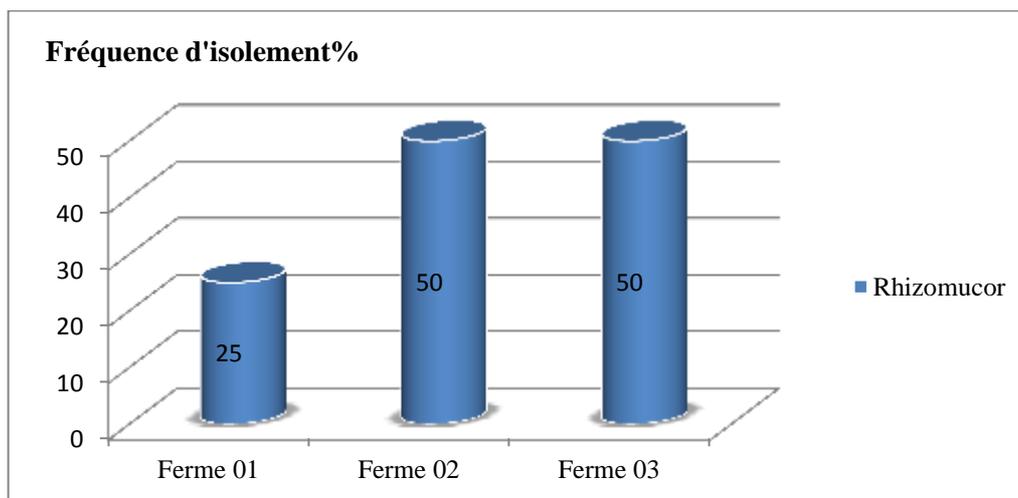
#### ❖ Genres moins dominants

Tous les aliments analysés dans les 3 fermes sont contaminés par le genre *Mucor*, avec une fréquence qui varie de 12,5% à 75% (**Fig. 64**).



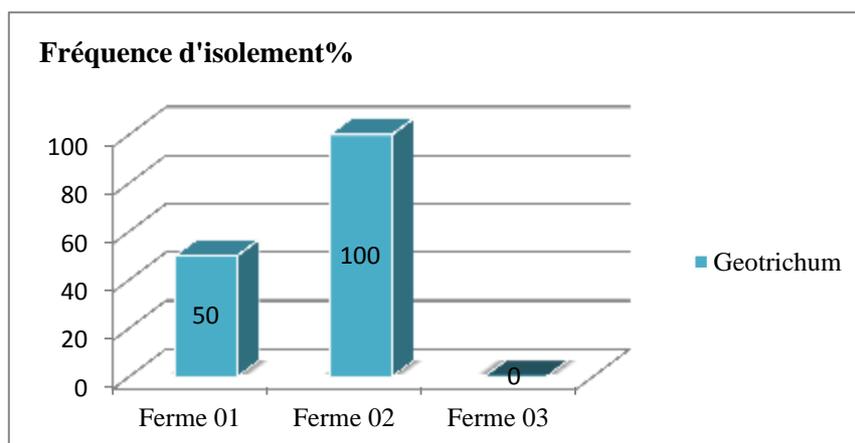
**Fig. 64** : Fréquence d'isolement du genre *Mucor* dans tous les échantillons analysés

Les aliments analysés dans les trois fermes sont contaminés par le genre *Rhizomucor*, avec une fréquence qui varie de 25 % à 50 % (**Fig. 65**).



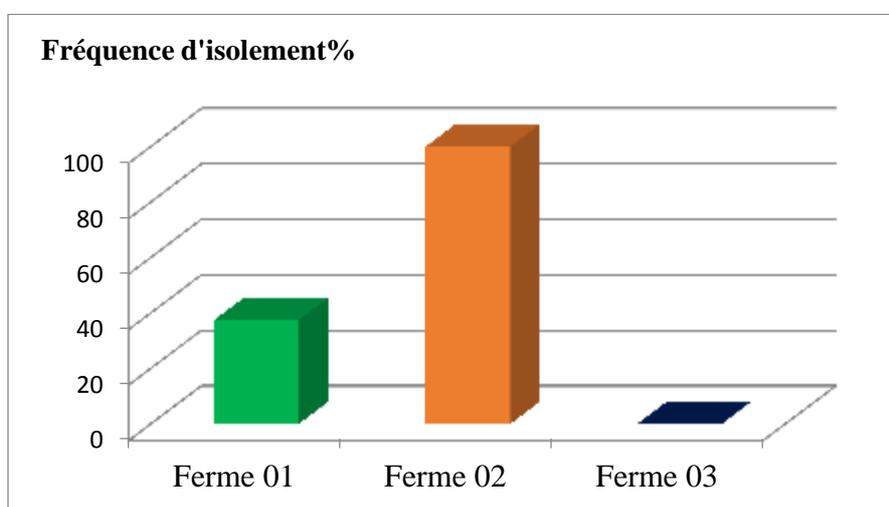
**Fig. 65** : Fréquence d'isolement du genre *Rhizomucor* dans tous les échantillons analysés

Les aliments analysés de F1 et F2 sont contaminés par le genre *Geotrichum*, avec une fréquence de contamination de 50% à 100%. Par contre, les aliments de la ferme 03 sont exempts de toute contamination par ce genre (**Fig. 66**).



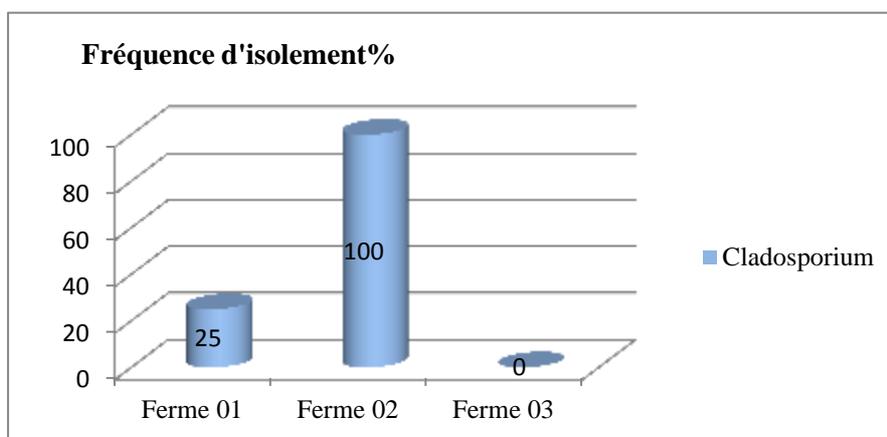
**Fig. 66** : Fréquence d'isolement du genre *Geotrichum* dans tous les échantillons analysés

Le genre *Alternaria* semble être présent dans tous les échantillons analysés de F1 et F2 avec une fréquence qui varie de 37,5 % à 100 %, à l'exception des échantillons de F3 (Fig. 67).



**Fig. 67** : Fréquence d'isolement du genre *Alternaria* dans tous les échantillons analysés

Tous les aliments de F1 et F2 sont contaminés par le genre *Cladosporium*, avec une fréquence de contamination qui variée de 25% à 100%. Par contre, les aliments de F3 sont exempts de toute contamination par ce genre (Fig. 68).

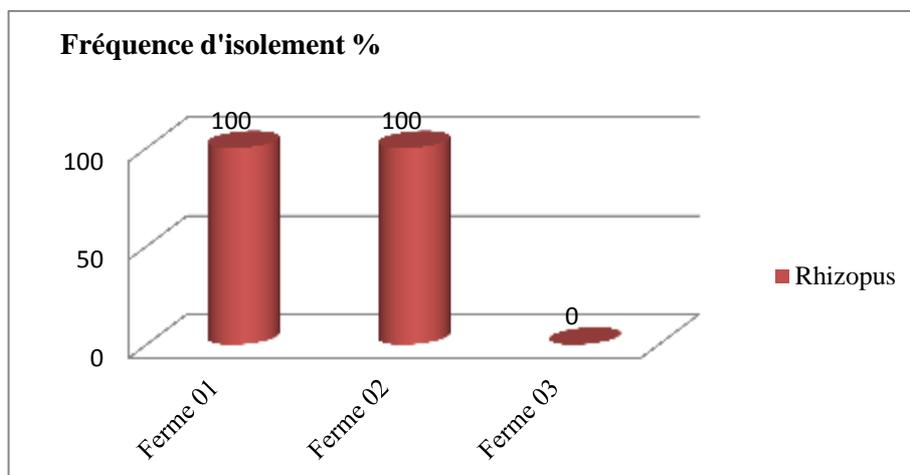


**Fig. 68** : Fréquence d'isolement du genre *Cladosporium* dans tous les échantillons analysés

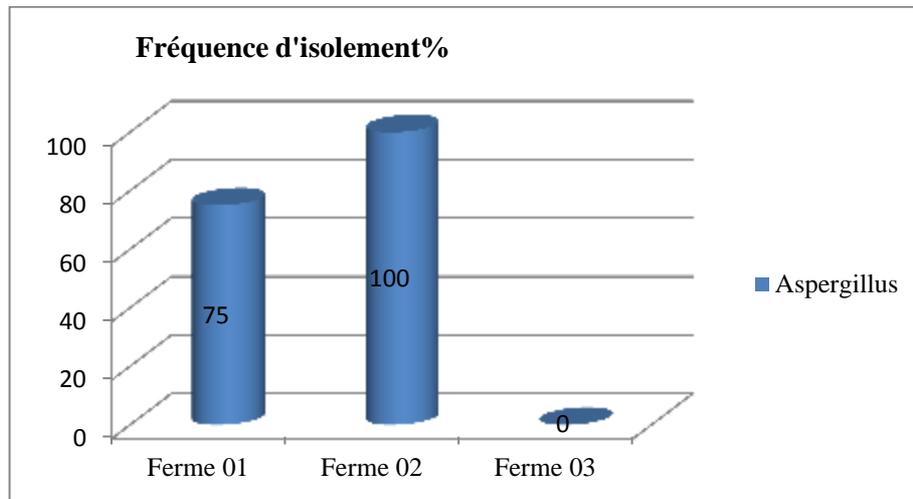
#### ❖ Genres dominants

Les aliments de F1 et F2 sont les plus contaminés par le genre *Rhizopus* avec une fréquence de 100%, alors que les échantillons de F3 en sont exempts (**Fig. 69**).

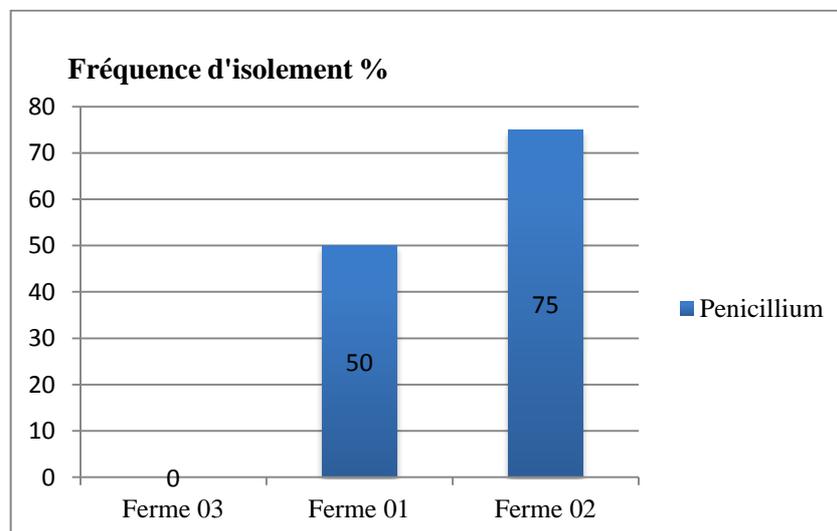
Les genres *Rhizopus*, *Aspergillus* et *Penicillium*, ont été fortement marqués dans tous les aliments des ruminants analysés de F1 et F2, avec des fréquences d'isolement allant de 50 % à 75 % pour *Penicillium* et de 100% pour *Rhizopus*, et de 50% à 75% pour *Aspergillus*. Tandis que, les aliments analysés de F3 sont dépourvus de toute contamination par ces genres (**Fig. 70 et 71**).



**Fig. 69** : Fréquence d'isolement du genre *Rhizopus* dans tous les échantillons analysés

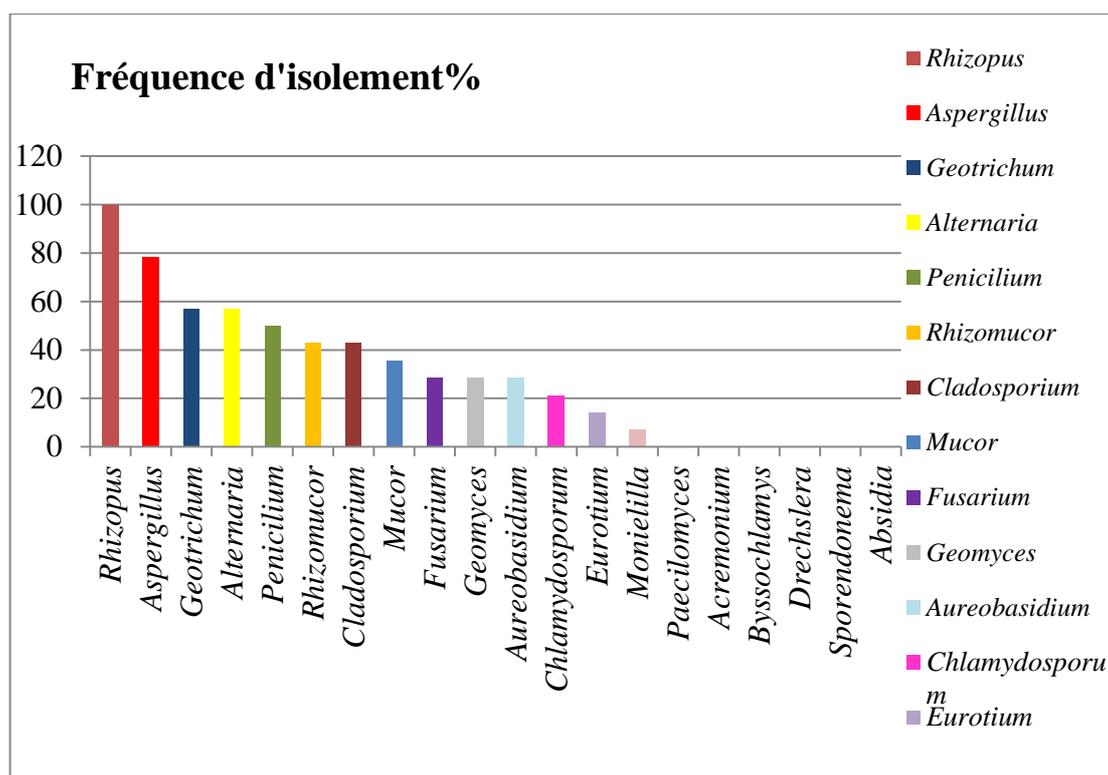


**Fig. 70 :** Fréquence d'isolement du genre *Aspergillus* dans tous les échantillons analysés



**Fig. 71 :** Fréquence d'isolement du genre *Penicillium* dans tous les échantillons analysés

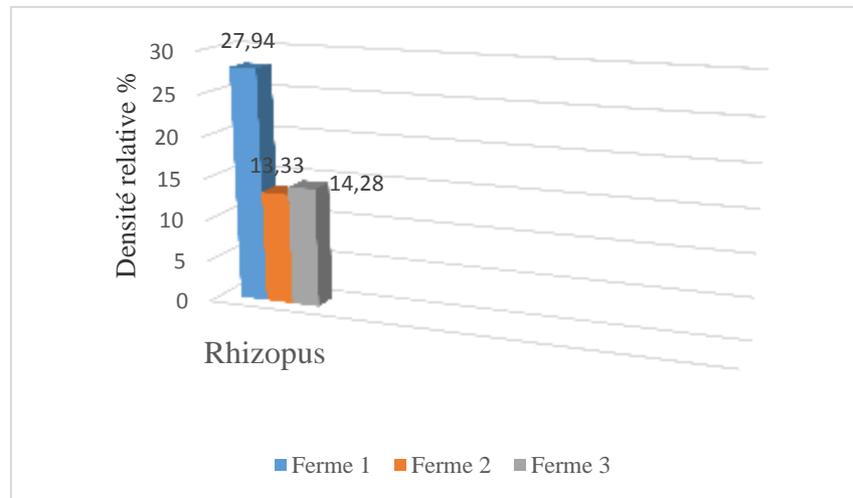
Le genre *Rhizopus* prédomine dans l'ensemble des échantillons des aliments avec une fréquence de 100% suivi d'*Aspergillus* avec une fréquence de 79%, puis vient en troisième position *Geotrichum* et *Alternaria* avec une fréquence de 57%. Les autres genres sont moins dominants voire minoritaire (**fig. 72**).



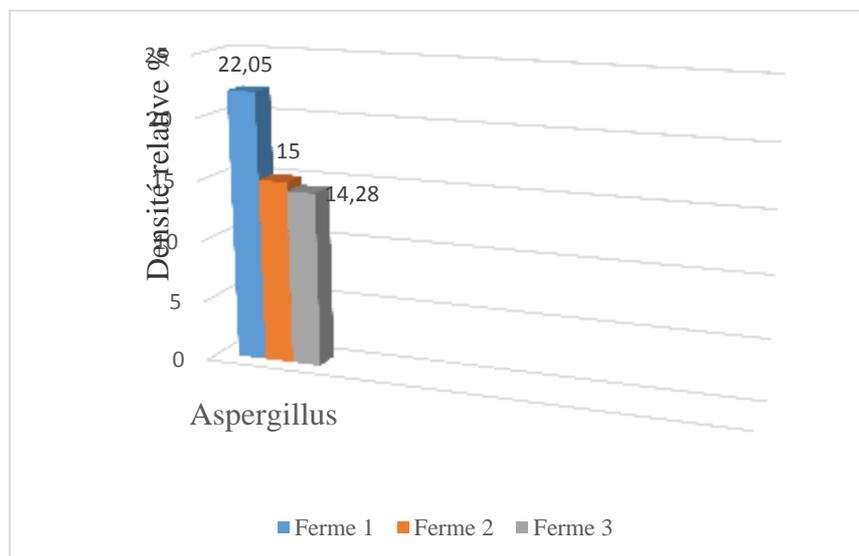
**Fig. 72** : Fréquences d'isolement des genres de moisissures isolés de l'ensemble des échantillons analysés

➤ **Densité relative (Dr) :**

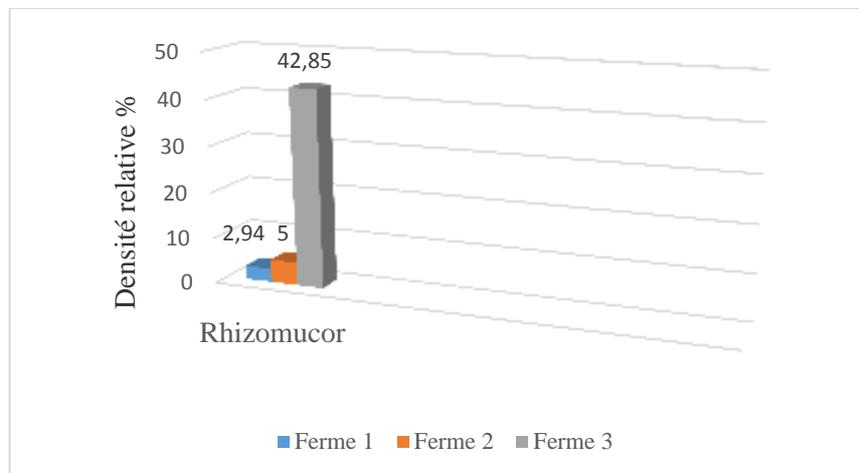
Selon la prédominance des genres par ferme, les genres *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* sont les plus dominants dans les aliments analysés ; *Rhizomucor* (Dr : 42,25% dans les aliments de F3), *Rhizopus* (Dr : 27,94% dans les aliments de F1), *Aspergillus* (Dr : 22,05 dans les aliments du F1 (**fig. 73 à 78**)).



**Fig. 73** : Densité relative du genre *Rhizopus* dans toutes les fermes

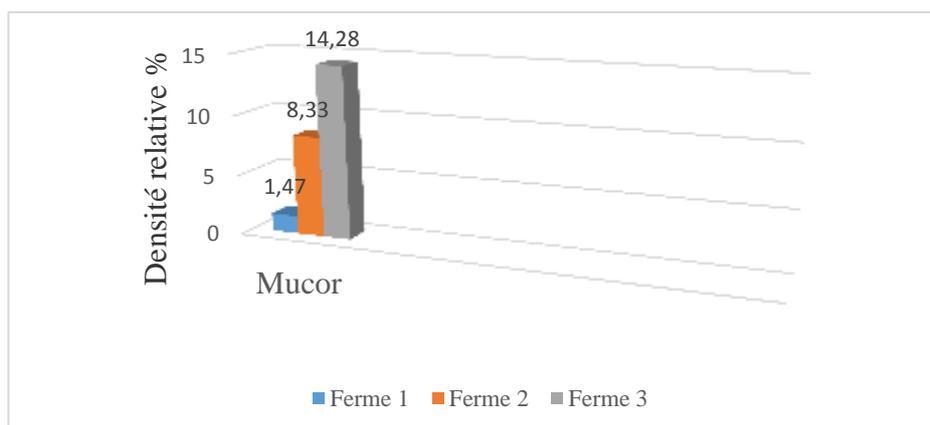


**Fig. 74** : Densité relative du genre *Aspergillus*

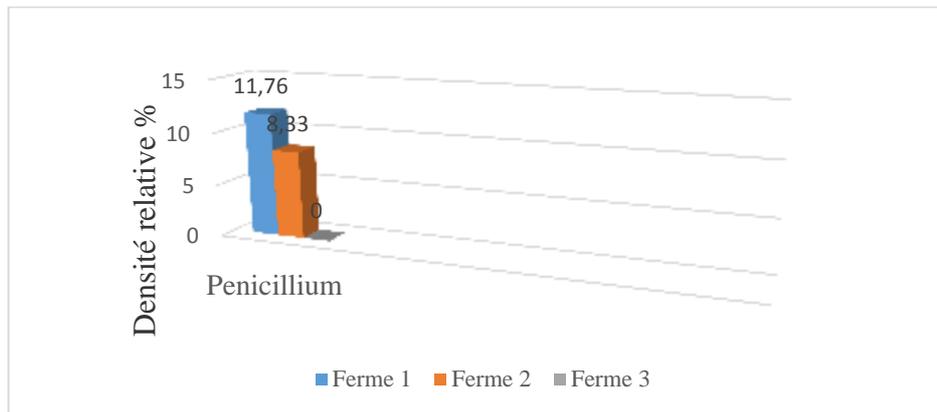


**Fig. 75 :** Densité relative du genre *Rhizomucor*

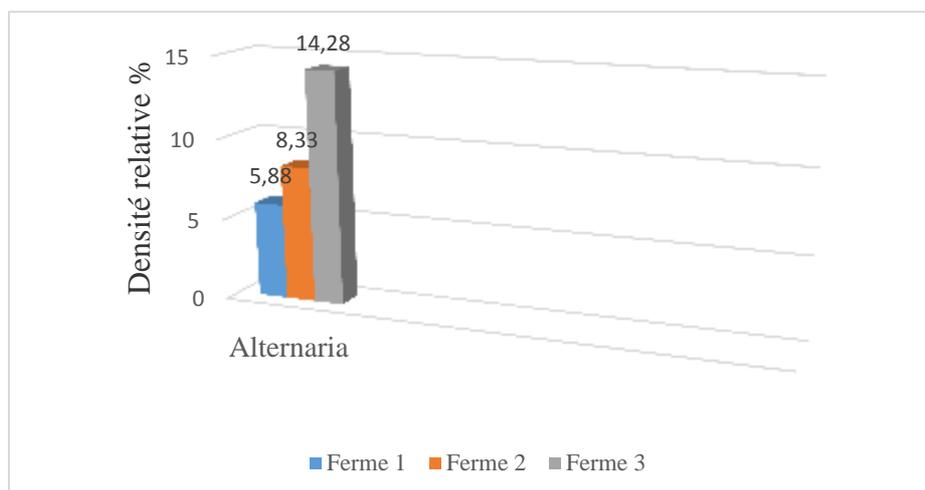
Il y a d'autres genres qui ont des densités relatives moyennes : *Mucor* (Dr : 14,28% dans les aliments de F3), *Penicillium* (Dr : 11,76% dans les aliments de F1), *Alternaria* (Dr : 14,28% dans les aliments de F3).



**Fig 76 :** Densité relative du genre *Mucor*



**Fig. 77** : Densité relative du genre *Penicillium*



**Fig. 78** : Densité relative du genre *Alternaria*

Les genres : Geomyces, Geotrichum, Cladosprium, Eurotium, Aureobasidium, Chlamydosporum, Absidia, Paecilomyces, Moniliella, Byssochlamys, Sporendonema, Drechslera, Fusarium, Acremonium sont les moins contaminants de l'ensemble des aliments analysés, avec des Dr maximales de : 4,41%, 8,33%, 3,33%, 1,66%, 3,33%, 3,33% , 3,33%, 1,66%, 1,47%, 1,66%, 1,66%, 1,66%, 5,88%, 1,66% respectivement.

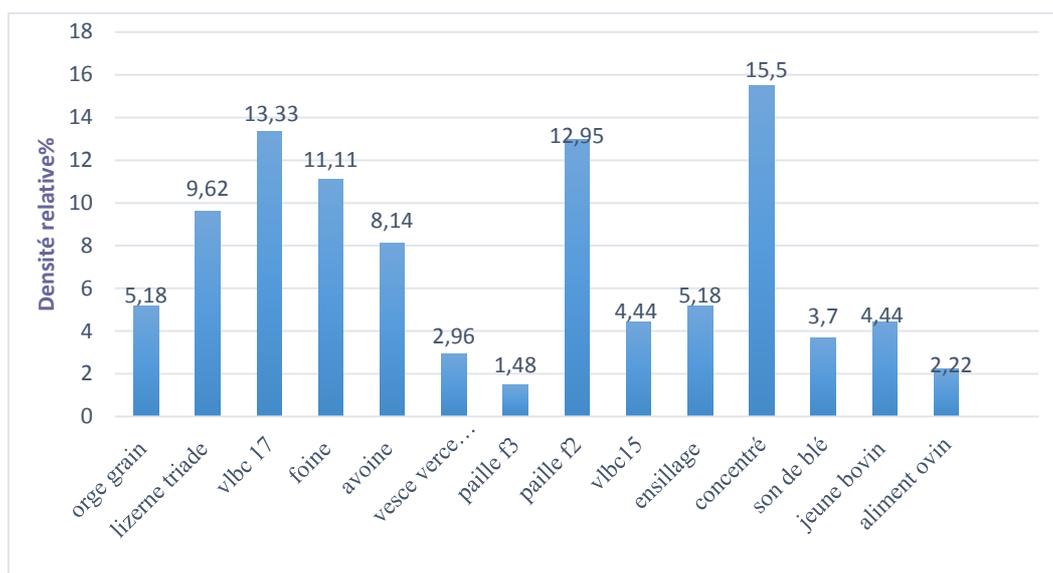
#### 4. Résultats de l'analyse mycologique par aliment

Le **tableau 8**, montre que dans le concentré, 21 souches fongiques ont été isolées, *Aspergillus* s'avère le genre majoritaire dans cet aliment. Dans la paille, 17 souches fongiques ont été isolées appartenant à 15 genres différents. Le foin a été révélé contaminer avec 15 souches fongiques. Le genre *Aspergillus* présente une nette dominance suivi de *Rhizopus*. L'aliment VLB 17 s'est révélé contaminer par 18 souches fongiques avec une prédominance de *Rhizopus* et d'*Aspergillus*.

**Tableau 8** : Nombre de souches de moisissures isolés dans chaque type d'aliment

	Orge grain	Luzerne Triade	Paille, F02	VLB15	Avoine	Fusilage	Jeune bovin	Concentré	Foin	Vesce Versé	Son de blé	VLB17	C. Aliment ovin	Paille F03
<i>Rhizopus</i>	1	1	1	2	2	2	3	3	2	2	1	5	3	0
<i>Aspergillus</i>	0	4	1	1	4	1	1	4	3	1	1	4	0	0
<i>Pencillium</i>	2	3	1	0	1	1	0	3	0	0	0	2	0	0
<i>Geotrichum</i>	0	1	1	1	1	1	0	1	2	0	0	1	0	0
<i>Rhizomucor</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1	2	0	0	1
<i>Fusarium</i>	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Cladosporium</i>	0	1	1	0	0	1	0	1	2	0	0	2	0	0
<i>Alternaria</i>	1	2	1	0	1	1	0	2	1	0	1	0	0	0
<i>Mucor</i>	0	0	2	0	0	0	0	1	2	0	0	1	0	1
<i>Geomyces</i>	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paecilomyces</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eurotium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Aurobasidium</i>	1	0	1	0	1	0	0	0	1		0	0	0	0
<i>Chlamydosporium</i>	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Monilella</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Acremonium</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Byssosclavus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Drechslera</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Sporendonema</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Absidia</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<b>Nombre total</b>	<b>7</b>	<b>13</b>	<b>17</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>21</b>	<b>15</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>18</b>	<b>3</b>	<b>2</b>

Le concentré, le VLB 17 et la paille sont les aliments les plus contaminés avec une densité relative de 15,5% ; 13,33% et 12,95% respectivement (**fig. 79**).



**Fig. 79** : Densité relative des moisissures isolées de l'ensemble des échantillons par aliment

### III. Discussion

Les résultats de cette étude ont montré que l'ensemble des aliments analysés étaient contaminés. Au total, 135 souches fongiques ont pu être isolées, avec une densité variable suivant l'aliment considéré.

Selon **Sreenivasa et al. (2011)**, la densité relative des genres de moisissures indique l'étendue de la contamination avant et pendant le stockage, ainsi que les dommages des paramètres de qualité physiologiques, nutritionnels et biochimiques des grains des aliments de bétails. La détermination de la flore fongique des fourrages secs peut être utilisée comme un critère d'évaluation de la conservation de ces aliments (**Boudra et al., 2002**).

L'alimentation de bonne qualité est importante pour le maintien des fonctions physiologiques des animaux et pour un système immunitaire qui lutte contre les diverses pathologies.

Parmi les moisissures qui ont été identifiées à partir des échantillons des aliments de ruminants, il y a les moisissures de champs comme *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* qui sont hygrophiles préférant le milieu dont l'activité de l'eau ( $A_w$ ) est plus élevée et les moisissures de stockage (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Eurotium*), qui sont généralement capables de se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales, au cours de stockage.

Les mucorales (*Mucor*, *Absidia*, *Rhizomucor* et *Rhizopus*) sont des champignons peu cellulolytiques et non osmophiles se développant généralement sur les graines très altérées (**Pitt et Hocking, 2009 ; Richard *et al.*, 2003 ; Botton *et al.*, 1990**).

La mycoflore est d'un grand intérêt en raison de la production potentielle de mycotoxines qui peuvent contaminer les produits agricoles comme le blé, l'avoine, l'orge, etc. Les mycotoxines notamment l'aflatoxine B1, peuvent être métabolisées dans l'organisme animal en métabolites plus toxiques telle que l'aflatoxine M1 et se trouvent dans les produits d'origine animale, comme la viande ou le lait (**Greco *et al.*, 2014 ; Greco *et al.*, 2012**).

Les résultats obtenus montrent que le concentré ; qui est un aliment composé en majeure partie de maïs, est un substrat favorable à la croissance des moisissures. Le genre le plus dominant est *Aspergillus* suivi par *Rhizopus*. D'après **Tabuc, (2007)**, les aliments composés des ruminants peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales, ou dans les autres ingrédients tels que les oléagineux qui entrent dans leur composition. La contamination par les moisissures peut survenir avant la récolte, elle peut être aggravée par les conditions d'entreposage, comme elle peut aussi survenir au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage (**FAO, 2012**).

Cette étude a montré une fréquence et une dominance de *Rhizopus* suivi par *Aspergillus* dans la majorité des aliments des trois fermes visitées. Dans une étude similaire **Redouane-Salah (2016)**, a isolé 247 souches fongiques à partir de 40 échantillons d'aliments de bétail. Le genre *Aspergillus* et *Penicillium* prédominaient dans la majorité des échantillons des aliments analysés.

La haute fréquence de *Rhizopus* et d'*Aspergillus* est due sans doute aux pratiques agricoles inadéquates et aux mauvaises conditions de stockage. En effet, les visites des fermes nous ont permis de constater que les conditions de stockage sont moyenne et que certains aliments sont stockés à l'extérieur ou à l'intérieur de pièces mal ventilées. Selon **Wagara *et al.*, (2014)**, les conditions défavorables pendant le transport et la commercialisation favorisent la croissance fongique et par conséquent la production des mycotoxines.

## Conclusion

La contamination des aliments des ruminants par les moisissures a des effets néfastes sur la santé des animaux et de l'Homme car ces mycètes peuvent synthétiser des mycotoxines lorsque les conditions sont favorables.

Dans la région de Guelma, 14 échantillons d'aliments de ruminants collectés de trois élevages ont été analysés. L'observation macroscopique et microscopique des souches fongiques isolées à partir de ces aliments sur quatre milieux de culture (Sabouraud, PDA, CYA, MEA), a permis l'identification de 135 isolats répartis en vingt genre de moisissures :

*Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Geomyces*, *Eurotium*, *Aureobasidium*, *Chlamydosporum*, *Moniliella*, *Acremonium*, *Byssochlamys*, *Drechslera*, *Sporendonema*, *Absidia*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*.

Les genres dominants sont *Rhizopus* et *Aspergillus* avec des densités relatives de 20,74% et 18,51% respectivement alors que *Penicillium* et *Alternaria* sont moins dominants, ayant des densités relatives de 9,2% et 7,4%. Les autres genres sont minoritaires.

*Rhizopus* et *Aspergillus* appartiennent aux moisissures de stockage, leur présence signe que les aliments sont entreposés dans de mauvaises conditions.

Les analyses mycologiques ont révélées aussi que les échantillons de la ferme 2 sont contaminés par 19 genres avec des fréquences d'isolement de 100% pour *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Geotrichum*, de 75% pour *Mucor*, *Penicillium*, de 50% pour *Aureobasidium*, *Chlamydosporum*, *Rhizomucor* et de 25% pour *Fusarium*, *Eurotium*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Sporendonema*, *Absidia*, *Byssochlamys*, *Aureobasidium*, *Drechslera*. Par contre, les deux aliments de la ferme 3 sont contaminés uniquement, par *Mucor* et *Rhizomucor* avec une fréquence d'isolement égale de 50%. Ces mucorales sont des moisissures non osmophiles et peu cellulolytiques qui apparaissent sur des aliments très altérés.

De plus, le concentré est l'aliment le plus contaminé par les champignons filamenteux. En effet, 21 souches ont pu être identifiées appartenant à 12 genres.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**A**

- ABDEL MASSIH, M. 2007:** Moisissure : identification, source de contamination et moyens de lutte. P3.
- ACHETBI, H. 2021.** Les Alternarioses (*Alternaria* spp.) des agrumes : Diagnostic et méthodes de lutte. In IAV.
- AFOLABI, C.G., BANDYOPADHYAY, R., LESLIE, J.F., EKPO, E.J. 2006.** Effect of sorting on incidence and occurrence of fumonisins and *Fusarium verticillioides* on maize from Nigeria. *J. Food Prot.*, 69, 2019-2023.
- ALDERMAN S.C. 1993.** Aerobiology of *Claviceps purpurea* in Kentucky bluegrass. *Plant Dis* : 77
- ALIX, M.J. MARC. 2002.** Les Risques à la Santé Associés à la présence de moisissures en milieu intérieur. Institut national de santé publique Québec. P 8)
- ALVES D'OLIVEIRA, L. 2013.** Mycotoxicozes chez les vaches laitières : mesures pratiques de maîtrise et prévention.
- ATOUI, A.K.2006.** Approche de la mycotoxinogénèse chez *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius* : étude moléculaire et physiologique .thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse ,1-10.P226.

**B**

- BAILLY, J.D., BAILLY S., LE BARS J. 2006.** Les altérations fongiques de l'ensilage de maïs et leurs conséquences, conduite à tenir. *Bulletin des GTV 035*. pp. 37-41.
- BARRIER-GUILLOT, B., PONS, B., DELAMBRE, L., GOUET, H. 2007.** Effet des pratiques culturales sur le niveau de production de DON sur blé : synthèse de trois années d'enquêtes. Congrès Mycotoxines fusariennes des céréales – Arcachon - 11–13 septembre 2007.
- BELKAID.M., KELLOU.D., ZENAID.N. 1990.** Cours de parasitologie tome 03 mycoses.P83.
- BENNOIT.C. 2011.** Réponses adaptatives D'ALTERNARIA BRASSICICOLA AU STRESS OXYDATIF LORS DE L'INTERACTION AVEC LES BRASSICACEES Rôle du métabolisme du mannitol et des Glutathion-S-transférases. 202 pages. Thèse De Doctorat D'Ecole Doctorale VENAM, Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale, Faculté des Sciences d'Angers.
- BEVILACQUA.A., ROSARIA.M.C., SINIGAGLIA .M. 2017.** The microbiological quality of food, foodborne spoilers .ELSEVIER .P :310.

- BLACKWELL, M., VILGALYS, R., JAMES.T-Y., TAYLOR, J-W. 2012.** Fungi, Eumycota : mushrooms, sac fungi, yeast, molds, rusts, smuts, etc...Version 30 january 2012.
- BOIRON, P. 1996.** Organisation et biologie des champignons. Edition : NATHAN, Paris, PP 11- 16, 28-39, 99-101.
- BOTTON, B., BRETON, A., FEVRE, M., GUY, P.H., LARPENT, J.P., VEAU, P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2<sup>ème</sup> Édition : MASSON, (Paris). P : 442.
- BOUCHET P, GUIGNARD J-L, POUCHUS Y-V. 2005.** Les champignons, mycologie +
- BOUDIH ,S. 2011.**Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers .évolution de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro .thèse de l'université paris est ,spécialité :science de la vie et de la santé . École doctorale : agriculture, alimentation. Biologie, environnement et santé .p ; 186.
- BOUDRA, H. 2002.** La contamination par les moisissures et les mycotoxine des fourrage conservés signification et prévention.
- BOURGEOIS. C-M., MESCLE. J-F., JUCCA.J.1. 1996.** Microbiologie alimentaire, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition : Tec&Doc Lavoisier, France p216 -244.
- BOWMAN, S-M., FREE, S-J. 2006.** The structure and synthesis of the fungal cell wall. BioEssays 28(8). pp.799-808.
- BRAGER, A., RICHER, M.M., ROUSTEL, S. 2007.**Alimentation sécurité et contrôles microbiologiques, Edition : Educaagri.PP :38.

## C

- CARIP, C. 2008.** Microbiologie, hygiène, bases microbiologiques de la diététique. Edition : Tec &Doc Lavoisier. France. P : 123-128, 318.
- CHABASSE, D., BOUCHARA. J-P., DE GENTILE .L., BRUN. S ., CIMON .B ET PENN .P. 2002.** Les moisissures d'intérêt médical, cahier de formation en biologie médicale .n°25.p78.
- CAMILLE DELARRAS. 2008.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire .P467
- CHAMPEIL, A., FOURBET, J.F., DORE, T., ROSSIGNOL, L. 2004.** Influence of cropping system on Fusarium head blight and mycotoxin levels in winter wheat. Crop Prot., 23, 531-537.

**CRISTIAN, C.2008.** Microbiologie Hygiène, Bases microbiologiques de la diététique.Lavoisier, P 124.

**CAST REPORT .2003.** Mycotoxine : risks in plant, animal and human systems.In :J.L.RICHARD and Payne, G, A. (Eds.), Council for Agricultural Science and technology Task FORCE REPORT NO .139, Ames,Iowa,USA.ISBN1-887383-22-0.

## D

**DAVET, P., ROUXEL, F. 1997.** Détection et isolement des champignons du sol, techniques et pratiques. Edition : INRA, PP 27, 32, 33.

**DELARRAS .C. 2008.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. P :76.

**DRIEHUIS, F., OUDE-ELFERINK, S.J. 2000.** The impact of the quality of silage on animal health and food safety : à review. Veterinary Quaterly, PP 22, 212-216.

**DUQUESNOY, N. 2005.** Les substances naturelles à effet oestrogénique dans l'alimentation des ruminants : revue de la littérature. Annales de Médecine Vétérinaire. Vol 149, PP. 202-212.

## E

**EL KHOURY, A. 2007.** Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais : Occurrence et Origine. Thèse Présentée pour obtenir le titre de Docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.

## F

**FANGEAT, L. 2008.** Les mycotoxines chez les bovins. Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon. P149.

**FORAISON, J. 2013.** Excrétion urinaire des mycotoxines chez les bovins : Essai d'utilisation d'un test ELIZA de détection de la zearalenone dans les urines. Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon. P120.

**FREDRIC, P.MILLER., AGNES, F.VANDOME., JOHN MC BREWSTER(ED). 2011.** Penicillium :genre(biologie),Champignon,Deutermycota,Télémorph,Ascomycota,Eurotiales,T halle,Sol(pédologie),Compostage,Formage.

## G

**GAUTHIER, A. 2016.**Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse d'U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES. Université de Bordeaux.

**GAMS W, CHRISTENSEN M, ONIONS A.H.S, ET AL. 1986.** Infrageneric taxo of Aspergillus, in : Samson R.A. Pitt J.I. Advances of Penicillium and Aspergillus systematics. London New-York, Plenum Publi.

**GONZALEZ H-H-L., RESNIK S-L., BOCA R-T., MARASAS W-F-O. 1995.** Mycoflora of Argentinean corn harvested in the main production area in 1990. *Mycophologia.*, **1 30** : 29-36.

**GUEZLENE, N-T., KAHLOUCHE.B., ATHAMANI, S-G. 2008.** Microbiologie. Travaux Pratiques .2<sup>ème</sup> année TCB et LMD.5<sup>ème</sup> édition corrigée11-2008. P41.

**GUEZLENE, N-T., KAHLOUCHE.B., ATHAMANI, S-G. 2008.** Microbiologie travaux pratiques 2<sup>ème</sup> édition corrigée 2012. p 32.p140.

**GUSHI,E.,AYALEW,A.,DJENE,M.,KETEMA,M.,ASALF,B.,FININSA,C. 2014.** Occurrence of Aspergillus Species in groundnut (*Archis hypogaea* L) along the value chain in different agro-ecological zones of Eastern Ethiopia.

## H

**HARGOP, D. 2006.** La pénicilline I- Découverte d'un antibiotique. Culture Sciences-chimie, Lyon.

**HEIT, S. 2015.** Identification de Fusarium et Détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse D'Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie .P13-116.

**HERITAGE, J., EVANS, E.G-V., KILLINGTON, R-A. 1996.**Introductory microbiology. Edition : Cambridge University press, PP : 8-18-23.

**HERNANDIZ, M.D.R.T. 1992.** Physiologie de Croissance de souches de Claviceps : Production d'alcaloïdes par fermentation en milieu solide. Thèse de doctorat d'université de Provence AIX-MARSEILLE 1, Spécialité de ; biologie cellulaire-Microbiologie. Mexique, P15.

## I

**ISMAIEL, A. A., PAPENBROCK, J. 2014.** The effects of patulin from *Penicillium vulpinum* on seedling growth, root tip ultrastructure and glutathione content of maize. European journal of plant pathology, PP 139, 497-509.

## J

**JOHN, I. PITT., ALISIA.D.HOCKING. 2009.** Fungi and Food Spoilage, third edition, P 03-04.P421.

**JOHN,I.PITT.,CHRISTOPHER,P.WILD.,ROBERT.A.BAAN.,WENTZEL.CAGELDE R BLOM.,MILLER.JD.,RILEY.RT.,WU.F.2012.** Proving public health through mycotoxin

control. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER LYON, France P 22.

## K

**KABAK, B., DOBSON, A.D., VAR, I. 2006.** Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed : à review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*,P 46, 593-619.

**KARCH.S.2019.**Les alcaloïdes indoloisoprénique. Cours de pharmacognésie .p 11-12.

**KELLER, N. P., TURNER, G. and BENNETT, J. W. 2005.** Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*,P 3, 937-947.

**KIM, W . K., SANG, H. K., WOO, S. K., PARK, M. S., PAUL, N. C., AND YU, S. H. 2007.** Six species of *Penicillium* associated with blue mold of grape. *Mycrobiology*, P35 180-185.

**KOLLU N-R., GIRISHAM S., REDDY S-M. 2009.** Incidence of toxigenic fusaria in feeds of Godavari belt area of Pradesh, India. *African Journal of microbiology research.*, 3.P : 119-122.

**KRÈN, V. L., CVAK. ERGOT. 1999.** The Genus *Claviceps* .*Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles* 1er Edition. 1999 p 25-519.

## L

**LAUMONNIER, G. 2006.** Analyses de fourrages, applications à l'ensilage de maïs ; méthodes, données classiques, données fournies par les firmes d'aliments. *Bulletin des GTV* 035. Juillet. Pp 42-43.

**LEMORDENT, D. 1988.** L'ergot de seigle, fléau antique, bienfait moderne. Institut de recherches et d'études sur les mondes arabes et musulmans, p. 67-77.

**LEYRAL, G. VIERLING, E. 2001.** Microbiologie et toxicologie des aliments. Hygiène de sécurité alimentaire. 3<sup>ème</sup> édition, P 267).

**Larcher, c.2007.**etude mycètes.pdf .PP 1-6.

**LESLIE, J.F., SUMMERELL.BRETT-A. 2006.** The *Fusarium* laboratory manual .PP ; 113-388.

## M

**MARIN, S., RAMOS, A., CANO-SANCHO, G. and SANCHIS, V. 2013.** Mycotoxins : occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.

**MASLIN, J.J., MORAND, G., MENARD, P., CAMPARO. 2004.** *ASPERGILLOSES .MYCOTROP MED TROP*; 64: 11-17.

**MCLEAN, M. 1996.** The phytotoxicity of Fusarium métabolites : An update since 1989. *Mycopathologia*, 133, 163-179.

**MUNKVOLD, G.P. 2003.** Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 41, 99-116.

#### N

**NELSON. PAULE.E, M. CECILIA DIGNANI, ET ELIAS J. ANAISSIE. 1994.** Taxonomy, Biologie, and clinical aspects of Fusarium species. *Clinical Microbiologie Review*, American Society for Microbiology; P: 484-504.

**NICKLIN, J., GRAEME-COOK, K., PAGET, T., KILLINGTON, R. 2000.** L'essentiel en microbiologie. Édition BERTI, Paris, 209- 213, 215- 217, 231- 235 p.

**NGYEN, M-T. 2007.** Identification des espèces de moisissure potentiellement productrices de mycotoxines dans riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam. Etude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines .thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, P23-28,32-35.

#### P

**PAUL, P.A., LIPPS, P.E., HERSHMAN, D.E., MCMULLEN, M.P., DRAPER, M.A., MADDEN, L.V. 2008.** Efficacy of Triazole-Based Fungicides for Fusarium Head Blight and Deoxynivalenol Control in Wheat : A Multivariate Meta-Analysis. *Phytopathology*, 98, 999-1011.

**PARK, J.H., COX-GANSER.JEAN.M., KREISS.K. WHITE.S.K. RAO.C.Y..2007.** Hydrophilic fungi ergosterol associated with respiratory illness in a water-damaged.p116.

**PEBERDY, JOHN F. 1937.** Penicillium and Acremonium. *Biotechnology handbooks*, Volume 1. University of Nottingham, England p 11-297.

**PRYOR, B.M., GILBERTSON, R.L. 2000.** Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences *Mycol. Printed in the United Kingdom .Res.* 104 (11) : 1312–1321 (November 2000).

**PFOHL-LESZKOWIEZ, A. 2009.** Mycotoxines :facteur de risqué de cancers. Article de synthèse. Springer –verlag.P:42-55.

#### R

**REBOUX, G. 2006.** Mycotoxine : health effects and relationship to other organic compound. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46 : p. 208-212.

**REHACEK. Z., SAJDL .P. 1990.** Ergot Alkaloids. Amsterdam: Elsevier, p 01.

**RICHARD, J. L. (2007).** Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *International journal of food microbiology*, 119, 3-10.

**RUIJTER, G. J. AND VISSER, J. (1997).** Carbon repression in *Aspergilli*. *FEMS Microbiology Letters*, 151, 103-114.

## Q

**QUATRESOUS, N. 2011.** Aspergillose humaine épidémiologie, diagnostic biologique contrôle .Thèse d'université de limoges, faculté de pharmacie .P136.

## S

**SCHRÖDTER, R. 2004.** Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxicol. Lett.*, 153, 47-49.

**SINHA, A.K., SINHA, K.K. 1990.** Insect pests, *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in stored wheat : a survey at north Bihar (India). *J. Stored Prod. Res.*, 26, 223-226.

**SNIJTERS, C.H.A. 2004.** Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicol. Lett.*, 153, 37-46.

**SYLVIANE, D., NADINE.Z-R.2011.** Danger dans l'assiette, Juin P 12 .p184.

**STOREY E, DANGMAN K.H, SCHENCK P, ET AL. 2004.** Guidance for clinicians on the recognition and management of health effects related to mold exposure and moisture indoors. Formington, University of Connecticut Health Center.

## T

**TABUC, C. 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest. Toulouse.

**TAHANI, N ET ELAMRANI, E. :** Article de synthèse ; utilisation des produits de boulangerie rassis comme aliments pour animaux : risque et danger. Les technologies de laboratoires –n°10 mai –juin 2008.

**TORTORA.G.J., FUNKE.B.R., CHRISTINE, LCASE. 2001.** Introductions à la microbiologie 2<sup>ème</sup> 2dition, P 164 et P 583).

**TORTORA. G.J., FUNKE.B.R., CHRISTINE, LCASE. 2017.** Introduction à la microbiologie. Troisième édition.2017. p 314).

## U

**UHLIG, A., KURZBACH, G., RAINER HAMANN., LUHMANN, B. 2007.** Simulation model based risk and extended simulationx system models to generate FMEA tables.

## V

**VISAGIE,C.M., SAMSON, R.A.,HIROOKA.Y., HOBRAKEN.,MWANGE,K., TANNEY,J.B.,MEIJER,M.,AMEND,A.S.,SEIFERT,K.A. 2014.**Speices diversity in *ASPERGILLUS, PENICILLIUM* and *TALAROMYCES*.

## Y

**YADAV, A. N., VERMA, P., KUMAR, V., SANGWAN, P., MISHRA, S., PANJIAR, N. ... & SAXENA, A. K. 2018.** Biodiversity of the genus *Penicillium* in different habitats. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Ed. Elsevier, p: 3-18.

**YIANNIKOURIS, A., JOUANY, J-P. 2002.** Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l’animal. *INRA Prod. Anim.*P 15, 3-16.

## W

**WHITLOW, LON W, PH.D. 2001.** La contamination des aliments par les mycotoxines : un facteur de stress additionneel pour les bovins laitiers. *DEPARTEMENT OF ANIMAL SCIENCE, NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY, RALEIGH, NE.*CRAAQ, P10-30.

**WEBOGRAPHIE :**

- [1]=><http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Mycetes.pdf>. (Consulté le 14-03-2022).
- [2]=><https://www.edilivre.com/mag/fronwidget/preview/book/id/875521/>. (Consulté le 8 mars 2022).
- [3] =><https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/bapp/2019/microorganismes%20eucaryotes.pdf> . (Consulté le 09 Février 2022).
- [4] => [www.arch.be](http://www.arch.be) . (Consulté le 1 mars 2022)
- [5] =><http://tpeconservation1s2.free.fr/moisissures.htm>. (Consulté le 29 mai 2022)
- [6]=> <https://www.britannica.com/science/fungus> . (Consulté le 19 mars 2022)
- [7] =><http://www.inspq.ca/Moisissure/fiches/fusarium-spp>. (Consulté le 15 mai 2022)
- [8]=><http://agronomie.info/fr/le-genre-fusarium/>.(Consulté 23 mars 2022)
- [9]= >[http://www.ag.uiuc.edu/~vista/pdf\\_pubs/ERGOT.PDF](http://www.ag.uiuc.edu/~vista/pdf_pubs/ERGOT.PDF). (Consulté le 6 avril 2022)
- [10]= > <http://commons.wikimedia.org> .(Consulté le 20 avril 2022)
- [11] => [http://www.allaboutfeed.net/Home/General/2008/4/Mycotoxins-in-.ANIMAL FEED NEWS](http://www.allaboutfeed.net/Home/General/2008/4/Mycotoxins-in-.ANIMAL_FEED_NEWS) .2008. Consulté le 12 février 2022

# **ANNEXES**

# Fiche d'enquête

**Wilaya :**.....

**Le**...../...../.....

**Commune :**.....

**Ferme de :**.....

**1) Type de ferme :**

**Etatique**

**Traditionnelle**

**2) Type d'élevage :**

**Bovin**

**Ovin**

**Caprin**

**Mixte**

**3) Aliments prélevés :**

**Paille**

**Orge**

**Son de blé**

**Concentré**

**Autres : -**.....

**-**.....

**4) - Date d'achat des aliments :**.....

**- Date de fabrication (concentré) :**.....

**5) Stockage des aliments :**

**Intérieur**

**Extérieur**

**6) Conditions de stockage (observation du lieu de stockage) :**

**Bonne**

**Moyenne**

**Mauvaise**

## Anexe 02 :

### Milieu MEA : (Malt Extract Agar)

Composition pour ½ litre :

Extrait de Malt.....	10 g
Glucose .....	10 g
Peptone.....	10 g
Agar agar.....	7,5 g
Eau distillée.....	500 ml

### Milieu CYA : (Czapek yeast Extract agar)

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,5 g
Czapek concentré.....	5 ml
Extrait de levure .....	2,5 g
Saccharose.....	15 g
Agar agar.....	7,5g
Eau distillée.....	500ml

### Czapek Concentré :

NaHO <sub>3</sub> .....	30 g
Kcl .....	5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O .....	5 g
Fe SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	0,5 g
Eau distillée.....	100ml

### **Milieu PDA (Potato dextrose agar)**

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200 g de pomme de terre.

Les mettre dans 700 ml d'eau distillée et porter à ébullition. Ensuite, filtrer et compléter jusqu'à 1 litre.

Extrait de pomme de terre(200g.....1L  
Agar-agar.....20 g  
Glucose.....20 g

### **Milieu Sabouraud :**

Peptone.....5 g  
Glucose.....10 g  
Agar agar.....10 g  
Eua distillée.....500 ml

## **Résumé :**

Dans la région de Guelma, 14 échantillons ; de différents aliments des ruminants, ont été collectés dans trois élevages, en respectant les contions d'échantillonnage. L'isolement, les repiquages sur quatre milieux de culture (CYA, PDA, MEA, Sabouraud) et les observations macroscopiques et microscopiques ont permis l'identification de vingt genre de moisissures est un total de 135 souches dans l'ensemble des 13 aliments analysés. *Rhizopus et Aspergillus*, prédominent avec des densités relatives respectives de 20,74% et 18,51%. Les fréquences d'isolement des deux genres sont de 100% et de 78,57% respectivement. Les autres genres sont moins dominants voire minoritaires. L'analyse mycologique des aliments a révélé que les aliments de la ferme 2 sont contaminés par une mycoflore très diversifiée avec des fréquences d'isolement allant de 25% pour les genres minoritaires à 100% pour *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* et *Geotrichum*. Par ailleurs, le concentré est l'aliment le plus contaminé car 21 souches ont été identifiées.

## **Mots clés :**

Moisissures, aliments, ruminants, analyses mycologiques.

## ملخص:

في منطقة قالمة، اخذنا 14 عينة. من علف المجترات المختلفة من ثلاث مزارع مع مراعاة شروط أخذ العينات. سمحت العزلة، والزرع على أربعة وسائط استنباتية (CYA، PDA، MEA، وSabouraud) والملاحظات العيانية والميكروسكوبية سمحت بتحديد عشرين جنساً من القوالب بإجمالي 135 سلالة في جميع القوالب 13. يسود الجذمور والرشاشيات بكثافة نسبية 20.74% و18.51%. ترددات العزل لكلا الجنسين هي 100% و78.57% على التوالي. الأنواع الأخرى أقل هيمنة أو من الأقلية. أظهر التحليل الفطري للغذاء أن الطعام من المزرعة 2 ملوث بنباتات فطرية متنوعة للغاية مع ترددات عزل تتراوح من 25% للأجناس الأقلية إلى 100% من الجذمور. الرشاشيات. الكلاوسبوريوم. النوباء بالإضافة إلى ذلك الجيوتريشوم، فإن التركيز هو أكثر الأطعمة تلوثاً لأن 21 سلالة كانت ملوثة.

## الكلمات المفتاحية:

عفن، غذاء، مجترات، التحليل الفطري.

**Abstract :**

In the Guelma region, 14 samples ; of different ruminant feedstuffs, were collected from three farms, respecting the sampling conditions. Isolation, subcultures on four culture media (CYA, PDA, MEA, Sabouraud) and macroscopic and microscopic observations allowed the identification of twenty genera of molds is a total of 135 strains in all 13 foods analyzed. *Rhizopus* and *Aspergillus* predominat with respective relative densities of 20.74% and 18.51%. The isolation frequencies of the two genders are 100% and 78.57% respectively. The other genres are less dominant or even minority. Mycological analysis of Food revealed that Food from Farm 2 is contaminated with a highly diverse mycoflora with isolation frequencies ranging from 25% for minority genera to 100% for *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, and *Geotrichum*. In addition, the concentrate is the most contaminated food because 21 strains were contaminated.

**Keywords :**

Mold, food, ruminants, mycological analysis.