



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé :

Contribution à l'étude mycologique des fruits à coque commercialisés à
Constantine

Préparé et soutenu par : SAYAD Ghada

le 23 / 09/ 2021

SOUILAH Nourhane

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. MIHOUBI Ilham

Professeur UFM Constantine

Rapporteur : Mme. GHORRI Sana

MCB- UFM Constantine

Examineurs : Mme. BENSERRADJ Ouafa

Université Adelhafid Boussouf -Mila

*Année universitaire
2020- 2021*

Remerciements

Avant tous, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous remercions chaleureusement notre encadreur, M^{me} GHORRI SANA. MCB à l'Université Des Frères Mentouri Constantine¹, d'avoir assuré l'encadrement de notre mémoire, et de nous avoir profité de ses connaissances scientifiques. On la remercie également pour sa patience, sa disponibilité et pour ses conseils précieux.

On tient également à témoigner nos gratitudeux aux membres de jury, M^{me} MIHOUBI Ilhem Professeur à l'Université Des Frères Mentouri Constantine¹, d'avoir accepté de présider ce jury, qu'elle trouve ici l'expression de nos profondes reconnaissances. Et à M^{me}. BENSERRADJ Ouafa du Université Adelhafid Boussouf -Mila, d'avoir examiné notre mémoire, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous devons une mention particulière aux ingénieurs de laboratoire pour leur efficacité du point de vue méthodologie au niveau du laboratoire de microbiologie

Nous remercions les employés du département des sciences de la nature et de la vie.

Dédicace

Du profond de cœur, Je dédie ce modeste travail à tous qui me sont chers.

A La mémoire de ma mère qui n'a jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. Puisse Dieu, le Tout Haut, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A mon cher père qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

A mes chers frères : Lamine et Zinedine, qui m'ont aidé et supporté dans les moments difficiles.

A toute ma famille.

A toute la promotion 2 ème Année Master MBF 2021, et spécialement à ma collègue de ce travail « Nourhane ».

Ghada

Dédicace

Avant tout mes sincères remerciements reviennent à Allah le tout puissant
pour tous ses dons.

Du profond du mon cœur je dédie ce travail A mes très chers parents

Chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et l'affection que j'ai toujours eus
pour toi. Tes conseils, ta bienveillance et tes encouragements m'ont permis de
dépasser toutes les difficultés.

Cher père

Qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

Que Dieu vous garde et vous procure, maman et toi, longue vie, santé et bonheur,
afin que vous demeuriez le soleil qui illumine notre vie

A ma sœur Maïssa et mon petit frère siradj Eddine

A mes familles maternelles et paternelles

A tous mes amies sans exception

Nourhane

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
I. Revue bibliographique	3
I.1. Les fruits à coque.....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Caractéristiques alimentaires des fruits à coques.....	3
I.1.3. Avantages des fruits à coque pour la santé.....	4
I.1.4. Stockage des fruits à coque.....	5
I.2. Généralités sur les moisissures	6
I.2.1. Les Principales propriétés des Champignons	7
I.2.2. La classification des champignons.....	8
I.2.2.1. Les Zygomycètes... ..	9
I.2.2.2. Les Ascomycota... ..	10
I.2.2.3. Les Basidiomycètes.....	10
I.2.2.4. Les Chytridiomycètes	12
I.2.3. Modes de reproduction.....	12
I.2.3.1. La reproduction sexuée	12
I.2.3.2. La reproduction asexuée	12
I.2.4. Mode de vie des moisissures	13
I.2.4.1. Le saprophytisme	13
I.2.4.2. Le parasitisme	13
I.2.4.3. La symbiose	14
I.2.5. Conditions de développement des moisissures	14
I.2.5.1. Conditions physicochimiques.....	14
I.2.5.1.1. La température.....	14

I.2.5.1.2. L'humidité	15
I.2.5.1.3. Activité de l'eau	15
I.2.5.1.4. L'oxygène	15
I.2.5.1.5. pH	15
I.2.5.2. Les nutriments.....	15
I.2.5.2.1. Azote.....	15
I.2.5.2.2. Vitamine	16
I.2.5.2.3. Carbone	16
I.3. Généralités sur les mycotoxines.....	16
I.3.1. La biosynthèse des mycotoxines.....	17
I.3.2. Mycotoxinogénèse.....	18
I.3.3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines.....	19
I.3.3.1. Facteurs intrinsèques.....	19
I.3.3.2. Facteurs extrinsèques.....	19
I.3.4. Les principales mycotoxines.....	21
I.3.4.1. Les Aflatoxines.....	21
I.3.4.2. L'Ochratoxine A.....	21
I.3.4.3. Les Trichothécènes.....	22
I.3.4.4. La Zéaralénone.....	22
I.3.4.5. Les Fumonisines.....	22
I.3.4.6. La Patuline.....	22
I.3.5. Les principales moisissures toxigènes	23
I.3.5.1. Le genre <i>Penicillium</i>	23
I.3.5.2. Le genre <i>Aspergillus</i>	24
I.3.5.3. Le genre <i>Fusarium</i>	26
I.3.6. Méthodes de détection des mycotoxines dans les aliments.....	27
II. Matériel et Méthodes.....	29
II.1. Etude mycologique des fruits à coque.....	29
II.1.1. Echantillonnage.....	29
II.1.2. Isolement de la flore fongique.....	31
II.1.2.1. Méthode directe d'Ulster.....	31
II.1.2.2. Méthode indirecte de dilution.....	32
II.1.3. Purification	32

II.1.4. Identification morphologique.....	32
II.1.4.1. Identification macroscopique	33
II.1.4.2. Identification microscopique.....	33
III. Résultats et discussion.....	34
III.1. Etude mycologique des fruits à coque	34
III.1.1. Isolement des souches fongiques.....	34
III.1.2. Identification morphologique des souches fongiques	35
III.1.2.1. Identification macroscopique.....	35
III.1.2.2. Identification microscopique... ..	43
Conclusion et perspectives	52
Références bibliographique	53
Annexe.....	66
Résumé.....	67

Liste des abréviations

Ac : acide acétique.

AFs : Aflatoxines totales.

Am env : Amande enveloppé.

Am i : Amande intérieur.

Am nu : Amande nu.

Ar env : Arachide enveloppé.

Ar i : Arachide intérieur.

Ar nu : Arachide nu.

Aw : Activity Water/Activité de l'eau.

Ca : calcium.

DON : Déoxynivalénol.

EFSA : Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

ELISA : Enzyme-linkedimmunosorbentassay.

FB1 : Fumonisine B1.

G : grossissement.

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

HR : humidité relative.

K : potassium.

Na : sodium.

N i : Noix intérieur.

N env : Noix enveloppé.

N nu : Noix nu.

NRPS : Non-ribosomal peptides synthétases.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OTA : Ochratoxine A.

PAT : Patuline.

PDA : Potato Dextrose Agar.

PH : Potentiel hydrogène.

PKS : les polypeptides synthases.

SAB : Sabouraud.

TCT : Trichothécènes.

TS : Terpènes synthases.

ZEN : Zéaralénone.

Liste des figures

Figure 1 : Fruits A Coque (Noix).....	3
Figure 2 : Quelques champignons filamenteux.....	7
Figure 3 : Représentation schématique de l'hyphe.....	8
Figure 4 : Structure de l'hyphe coenocytique des Zygomycètes.....	9
Figure 5 : Cycle de reproduction sexuée et asexuée des Zygomycètes.....	9
Figure 6 : Structure du mycélium cloisonné des Ascomycètes.....	10
Figure 7 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Ascomycètes... ..	10
Figure 8 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes.....	11
Figure 9 : Les grands groupes des eumycètes.....	11
Figure 10 : Biosynthèse de quelques mycotoxines.....	18
Figure 11 : Profils schématiques des limites croissance/pas de croissance pour les genres <i>Fusarium</i> , <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	20
Figure 12 : Aspect microscopique de <i>Penicillium</i> : 1- <i>Penicillium</i> monoverticille 2- <i>Penicillium</i> bi verticille.....	24
Figure 13 : Tête Aspergillaire d' <i>Aspergillus ochraceus</i> (A), en microscopie électronique (B).....	25
Figure 14 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de <i>Fusarium</i>	27
Figure 15 : Préparation des dilutions décimales.....	32
Figure 16 : Pourcentage des isolats fongiques obtenus de chaque type de fruit a coque	35
Figure 17 : graphe représente les genres fongiques identifiés par apport aux différentes échantillons	46
Figure 18 : Diagramme représente le pourcentage des isolats fongiques identifiés... ..	50

Liste des tableaux

Tableau 1 : compositions nutritive des noix (100 g de noix brute).....	4
Tableau 2 : Propriétés principales des champignons.....	7
Tableau 3 : Quelques toxines produites par le genre <i>Penicillium</i>	24
Tableau 4 : Quelques toxines produites par le genre <i>Aspergillus</i>	25
Tableau 5 : Quelques toxines produites par le genre <i>Fusarium</i>	27
Tableau 6 : Tableau représente les différentes variétés des échantillons étudiés	29
Tableau 7 : Observations macroscopiques des différents isolats obtenus.....	36
Tableau 8 : Observations microscopiques des différents isolats obtenus	43

Introduction

La sécurité sanitaire des aliments, dont la qualité microbiologique est une composante essentielle, représente un enjeu considérable sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour renforcer les barrières aux importations. De plus, elle a un rôle évident à jouer dans la prévention des maladies d'origine alimentaire (Larpent *et al.*, 2001).

Comme ailleurs, la population algérienne consomme de grandes quantités de fruits à coques directement ou sous forme d'ingrédients dans des préparations traditionnelles préparées pendant les festivités notamment au cours du mois de Ramadan et des festivités (baptême, circoncision, mariage...) (Matmoura *et al.*, 2019).

Les fruits à coques contiennent des nutriments riches donc sont très vulnérables et propices à des contaminations par des champignons toxigènes en raison de mauvaises conditions ; météorologiques, environnementales et du stockage (Marie-paule, 2003).

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Ils sont omniprésents dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats (Gacem *et al.*, 2012). En effet, leur développement indésirable peut modifier l'aspect des produits alimentaires (production de pigments foncés comme la mélanine), et les caractéristiques organoleptiques, (Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002). Par ailleurs, certains champignons toxigènes, peuvent produire des métabolites secondaires lors de leur croissance sur l'aliment dites mycotoxines (Bennett et Klich, 2003).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, toxiques, excrétées par certaines moisissures qui se développent sur divers produits agricoles sous des conditions environnementales particulières (Krska, 2009). Elles ont selon leurs structures chimiques des effets immunodépresseurs, hémorragiques, hépatotoxiques, néphrotoxique, neurotoxiques, oestrogéniques ainsi que, à plus long terme et pour certaines, des effets mutagènes et cancérigènes (Cahagnier *et al.*, 1998).

Dans les pays industrialisés, des normes strictes sur les produits importés ont été adoptées pour cerner les problèmes engendrés par ces substances. Tandis que les pays en développement ne sont pas encore protégés contre les aliments contaminés (Canadas, 2006).

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur « une contribution à l'étude mycologique des fruits à coque commercialisés à Constantine ».

Cette étude, repose sur plusieurs points importants : (i) L'isolement des souches fongiques à partir de différents fruits à coque, commercialisés à Constantine ; (ii) La purification et l'identification des isolats obtenus ; (iii) L'analyse des résultats obtenus.

Ce manuscrit est structuré comme suit :

- La première partie de notre travail est consacrée à la description de données bibliographiques relatives aux champignons d'une manière générale, aux champignons mycotoxique et finalement aux fruits à coque et leur importance.
- La seconde partie est consacrée au travail expérimental et est basé sur les différentes techniques utilisées, suivie d'une autre partie exposant, comparant et discutant les résultats obtenus.
- La dernière partie est une conclusion générale clôturant notre travail.

**Revue
bibliographique**

I. Revue bibliographique

I.1. Les fruits à coque

I.1.1. Définition

Les fruits à coque (communément appelés « noix ») font partie de l'alimentation humaine depuis la préhistoire. Ils constituent un groupe alimentaire indépendant. Selon la définition botanique, une noix est simplement un fruit séché avec une graine (rarement deux) dans laquelle les parois de l'ovaire sont très dures (pierreuses ou ligneuses) à maturité, et la graine est libre ou libre dans la paroi ovarienne. Cependant, le mot « noix » est communément utilisé pour désigner n'importe quel gros noyau huileux dans une coquille qui peut être consommé comme nourriture tels que ; les amandes, les noix du Brésil, les noix de cajou, les noisettes, les macadamias, les arachides, les noix de pécan, les pignons, les pistaches et les noix. Bien que les arachides soient classées en tant que légumineuses, en raison de leur composition nutritive similaire et de leurs avantages prouvés pour la santé cardiovasculaire, elles sont généralement considérées comme une noix (Rojas *et al.*, 2005) (Figure 1).



Figure 1 : fruits à coque (noix) (Anonyme 1).

I.1.2. Caractéristiques alimentaires des fruits à coque

Les noix sont couramment consommées dans le régime méditerranéen, et leur consommation a été recommandée aux populations du monde entier (Corella, 2014). Les noix, telles que les amandes, les noisettes, les noix de cajou, les noix du Brésil, les macadamias, les noix et les pistaches, les cacahuètes, sont des aliments riches en nutriments ayant chacun une composition unique. En général, ces aliments contiennent des acides gras monoinsaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) ; protéine ; les fibres solubles et insolubles ;

les vitamines E et K ; folate ; la thiamine ; tels que le magnésium, le cuivre, le potassium et le sélénium ; et des substances telles que les caroténoïdes xanthophylles, les antioxydants et les composés phytostérols (Tableau 1), avec des avantages reconnus pour la santé humaine (Souza *et al.*, 2015).

Tableau 1 : Composition nutritive des noix (pour 100 g de noix brute) (Souza *et al.*, 2015).

	Amande	Noix de cajou	Arachide	Noix
Calories	576	533	567	654
Eau (g)	4,4	5,2	6,5	4,1
Matière grasse (g)	49,9	43,9	49,2	65,2
AGMI (g)	3,8	7,8	6,3	6,1
AGPI (g)	31,6	23,8	24,4	9
AGS (g)	12,3	7,8	15,6	47,2
Protéine (g)	21,2	18,2	25,8	15,2
CHO (g)	21,6	30,2	16,1	13,7
Fibre (g)	12,5	3,3	8,5	6,7
Ca (g)	269	37	92	98
Mg (mg)	270	292	168	158
Na (mg)	1	12	18	2
K (mg)	733	660	705	441
P (mg)	481	593	376	346
B-carotène (ug)	1	0	0	12
a-carotène (ug)	0	0	0	0
Phytostérols (mg)	197	151	Na	110,2
Total phénols (mg)	287	137	406	1567
Vitamine E (mg)	25,6	0,9	8,3	0,7

CHO, hydrates de carbone ; **AGMI**, acides gras monoinsaturés; **AGPI**, acides gras polyinsaturés; **AGS**, acides gras saturés.

I.1.3. Avantages des fruits à coques pour la santé

Les études épidémiologiques et/ou cliniques ont suggéré que la consommation régulière de noix avait un impact bénéfique sur la santé, comme l'obésité, l'hypertension, le diabète et les maladies cardiovasculaires, avec diminution des médiateurs de maladies chroniques telles que le stress oxydatif, l'inflammation, l'adiposité viscérale, l'hyperglycémie, la résistance à l'insuline, la dysfonction endothéliale et le syndrome métabolique (Blanco *et al.*, 2014). En effet, quatre études prospectives menées aux États-Unis ont rapporté un effet bénéfique de la consommation de noix sur l'incidence des maladies coronariennes (cardio-vasculaire) après un suivi allant de six à 18 ans de sujets précédemment en bonne santé. Les études ont montré que

comparativement aux individus qui consommaient rarement ou jamais de noix, ceux qui consommaient des noix deux fois ou plus par semaine avaient 47% moins de risque de mort cardiaque subite (Rose, 2010).

I.1.4. Stockage des fruits à coque

Après la récolte, les fruits secs contiennent naturellement des espèces phytopathogènes provenant du champ, qui peuvent ou non survivre au processus de séchage. Lorsque leur activité hydrique (A_w) dépasse cependant 0,65, les fruits secs deviennent sujettes à la putréfaction par certains agents pathogènes fongiques post-récolte, notamment les *Aspergillus* xérophiles (vivant dans des milieux très pauvres en eau). La présence de telles espèces pourrait compromettre la qualité des noix et être la cause de graves problèmes de santé pour les consommateurs (Tournas *et al.*, 2015).

Les fruits à coques sont des aliments susceptibles d'infection fongique dans le champ et dans des conditions de stockage inadéquates. Les noix endommagées par les charançons ou mécaniquement pendant la récolte et le transport sont particulièrement sujettes à l'invasion fongique et à la pourriture (Nawar, 2008).

Plusieurs champignons sont capables d'infecter les noix en pleine croissance et de les endommager. L'infection est souvent facilitée par le fractionnement précoce des coques qui conduit à l'infestation par un certain nombre d'insectes hémiptères qui se nourrissent des noix et servent de vecteurs non spécifiques pour les maladies (Sallam, 2007). Les champignons saprophytes communs comprenant des espèces d'*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, d'*Eurotium* *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Ulocladium* *Epicoccum* et de *Rhizopus* (Michailides, 2006). Abdel-Gawad et Zoharii (1993) ont identifié un large éventail de moisissures provenant de cinq types de graines de noix pour la consommation humaine en Arabie Saoudite. Denizel *et al.* (2006) ont signalé que la mycoflore externe dominante des pistaches immatures de trois régions de Turquie était composée d'*A. niger*, *A. flavus* et de *Penicillium spp.* Ils ajoutent également que les noix stockés dans les entrepôts ont été largement contaminés par *A. flavus*, *A. niger* et *A. ochraceus* (Nawar, 2008).

Les pluies tardives favoriseront l'activité de *Botryodiplodia dothidea* sur les coques et les amandes des fruits secs. Comme les moisissures stockées dans les noix peuvent être dangereux, il est important de maintenir des conditions de stockage adéquates (en particulier

une faible HR (humidité relative), absence d'eau stagnante pour éviter de graves problèmes (Michailides *et al.*, 1995).

Les plus grandes menaces de infections post-récolte sont dues à *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*. Le danger est particulièrement grave car ces champignons peuvent produire des aflatoxines. Dans leur étude des moisissures d'*Aspergillus* dans les pistaches californiennes, Doster et Michalides (1994) ont signalé que plus de 99% des aflatoxines détectées étaient dans des noix brisées précocement (Nawar, 2008).

Plusieurs produits chimiques ont été utilisés comme agents de conservation dans les grains entreposés pour empêcher la croissance de moisissures pendant le séchage ambiant. La vapeur d'acide acétique (Ac) appliquée à 0,78 ml / kg à forte teneur en humidité des grains inoculés avec des conidies d'*A. flavus* prévient efficacement la croissance fongique pendant 120 jours à 20°C (Nawar, 2008).

I.2. Généralités sur les champignons

Les moisissures sont des champignons filamenteux (Figure 2) qui ont des actions bénéfiques mais aussi néfastes pour l'homme. Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier *et al.*, 1998 ; Doyle *et al.*, 1998 ; Meyer *et al.*, 2004).

L'appareil végétatif des moisissures est dépourvu de tiges, de racines, de feuilles et de système vasculaire. Leur corps somatique (ou végétatif) est appelé thalle. Le thalle filamenteux est formé par des hyphes (Nasraoui, 2015). Le mycélium peut différencier des organes forts variés selon les groupes, spécialisés dans la multiplication et la dissémination, auxquels on accorde la dénomination globale de spores (Bourgeois *et al.*, 1989).

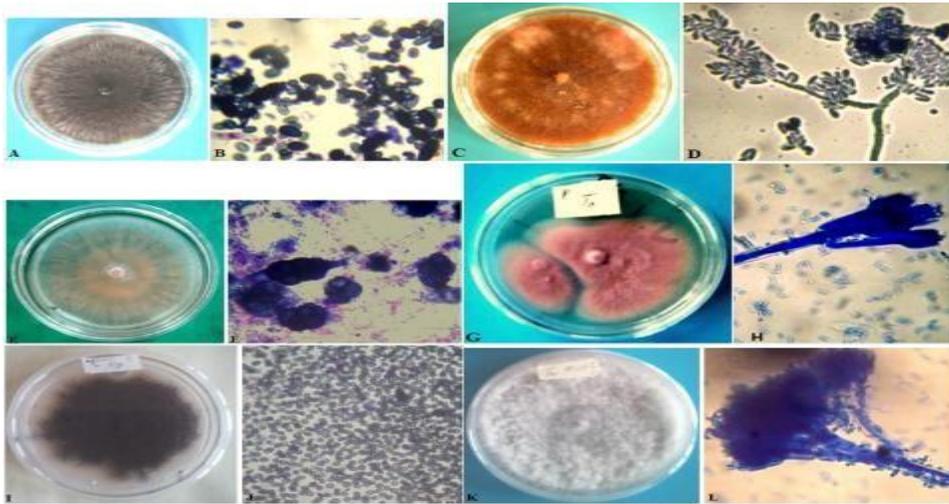


Figure 2 : Quelques champignons filamenteux (Dongmo *et al.* ,2017) .

I.2.1. Principales propriétés des Champignons

Les principales propriétés des champignons sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés principales des champignons (Camille, 2014).

La morphologie	<ul style="list-style-type: none"> - Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septes ou siphones (Figure 3). - Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité (Camille, 2014).
La Croissance des hyphes	<ul style="list-style-type: none"> - Leur appareil végétatif (le thalle) est constitué des filaments ramifiés et cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Si la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'oeil nu (Bourgeois <i>et al.</i>, 1989).
Le Métabolisme	<ul style="list-style-type: none"> - Chimiohétérotrophe. - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques suivant les espèces, peuvent lyser des polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines, des lipides... (Camille, 2014).
Le Métabolisme spécifique	<ul style="list-style-type: none"> - Fabrication de métabolites fongiques toxiques (exotoxines) appelées mycotoxines, ces molécules sont toxiques pour l'homme, les animaux et même les plantes (Camille, 2014).

<p>Habitats naturels et pathogénicité</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Air, eaux, solsvivent en saprophytes ou parasites. - Champignons pathogène pour l’homme comme <i>Aspergillus flavus</i>, <i>A. nomius</i> et <i>A. parasitica</i> connus pour leur production d’aflatoxine (Guiraud, 1998). - Matières premières alimentaires, aliment... pouvant être contaminés par des moisissures toxinogènes (Camille, 2014).
--	---

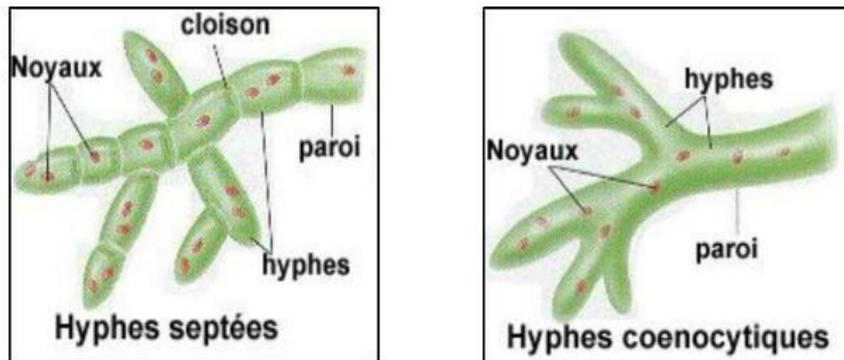


Figure 3 : Représentation schématique de l’hyphe (Decocq, 2011).

I.2.2. La classification des champignons

La classification des champignons est d’abord basée sur un mode de reproduction sexuée ou phase téléomorphe. Ce critère définit quatre des cinq groupes principaux : les Chytridiomycètes, les Zygomycètes, les Basidiomycètes et les Ascomycètes. Certaines moisissures sont le plus souvent ou exclusivement rencontrées à un stade de multiplication asexuée, dit anamorphe. Ces organismes sont alors classés d’après le mode de production des spores asexuées ou conidies. Ces espèces sont classées dans le cinquième ordre, les Deutéromycètes ou Fungi imperfecti (Boudih ,2011).

Chez les champignons supérieurs, au stade anamorphe le mycélium végétatif est formé d’hyphe septés colorés ou non. Une cellule hyphale à parois épaisses donne naissance au conidiophore. Celui-ci se termine par une vésicule qui peut être de forme allongée (c’est le cas d’*Aspergillus*), elliptique ou globuleuse donnant naissance aux cellules fertiles conidiogènes portant les conidies. La zone fertile de la vésicule s’appelle stérigmate, peut être unisérié (Damien, 2015).

I.2.2.1. Les Zygomycètes

Les Zygomycètes possèdent des hyphes coenocytiques (Figure 4) et des organes de reproduction sexuée qui produisent des zygotes, appelés zygospores, dormants quand l'environnement est défavorable pour leur croissance, tandis que la reproduction asexuée est assurée par des sporocystospores qui se développent dans des sporanges à l'extrémité des hyphes aériens (Figure 5) (Georges *et al.*, 2011).

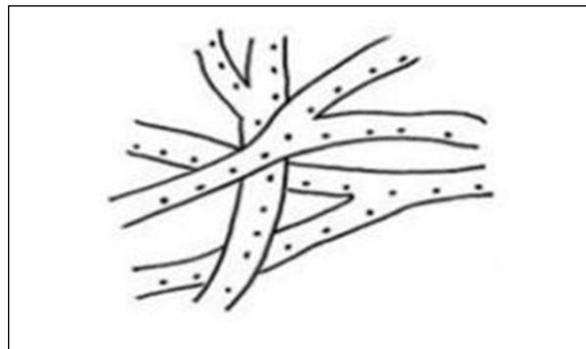


Figure 4 : Structure de l'hyphe coenocytique des Zygomycètes (Nasraoui, 2015).

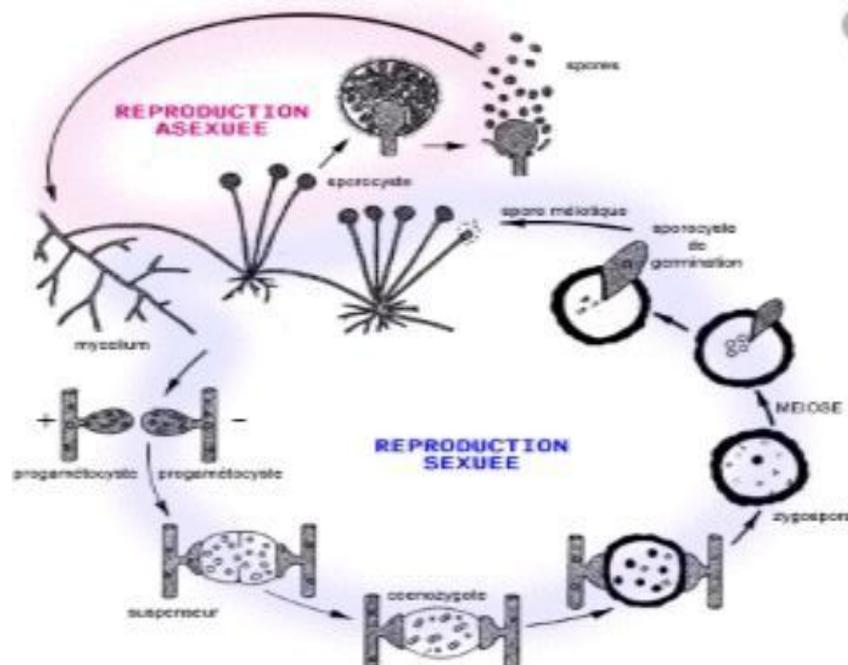


Figure 5 : Cycle de reproduction sexuée et asexuée des Zygomycètes (Rolland et Viane, 1985).

I.2.2.2. Les Ascomycota

Les Ascomycota sont des champignons filamenteux dont les filaments sont séparés par des parois cellulaires croisées appelées septa (Figure 6). Les Ascomycètes produisent des spores sexuelles, appelées ascospores, formées dans des structures en forme de sac appelées asques, et aussi de petites spores asexuées appelées conidies. Certaines espèces d'Ascomycota sont asexuées et ne forment pas d'asques ou d'ascospores (Figure 7) (Mcconnaughey, 2014).

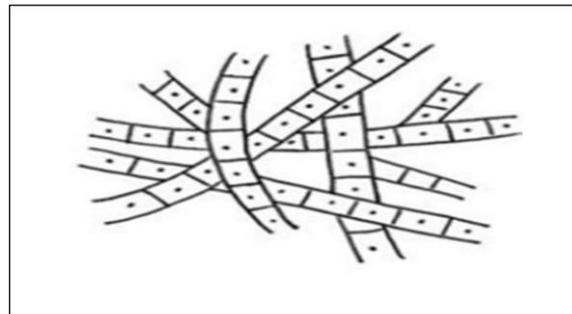


Figure 6 : Structure du mycélium cloisonné des Ascomycètes (Nasraoui, 2015).

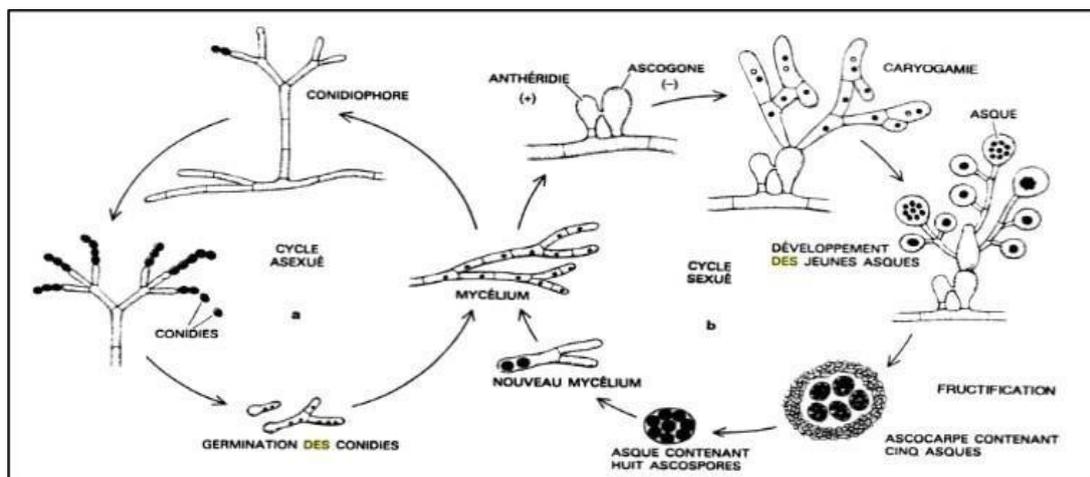


Figure 7 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Ascomycètes (Meyer, 2004).

I.2.2.3. Les Basidiomycètes

Les Basidiomycètes ont des mycéliums septiques filamenteux constitués de chaînes séparées par des parois cellulaires entrecroisées appelées septa. Ces champignons se nourrissent généralement de matière organique en décomposition. Ils subissent souvent une méiose sporique et présentent une forme de reproduction sexuée connue sous le nom d'anisogamie. Cette dernière consiste en la fusion de deux gamètes sexuels qui diffèrent par leur forme. La figure 8 représente le cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes.

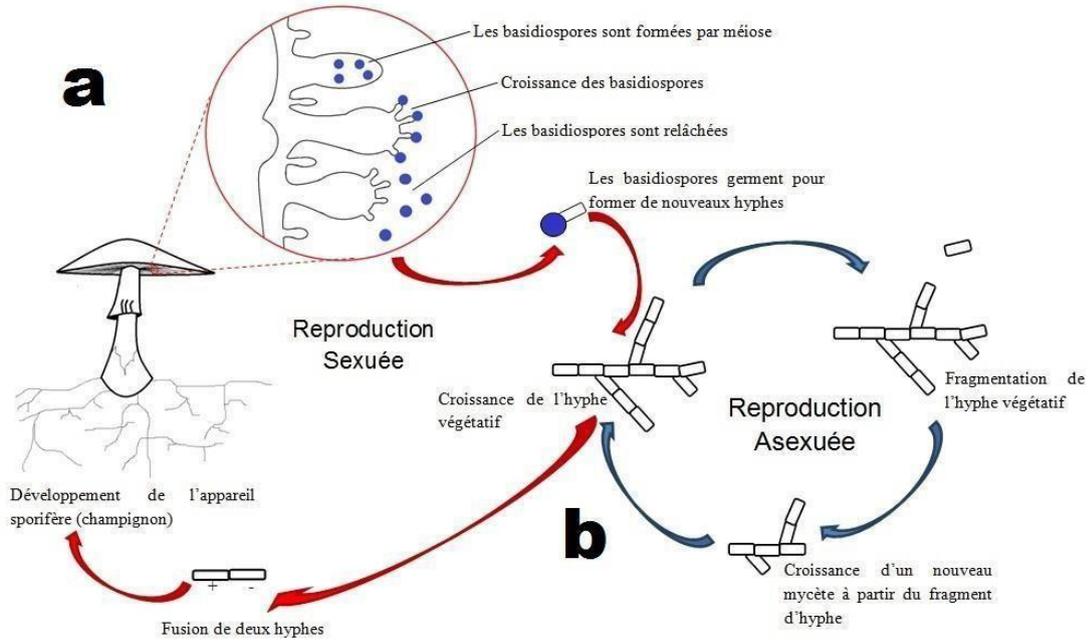


Figure 8 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes (Bousseboua, 2003 ; Lüttge *et al.*, 2002).

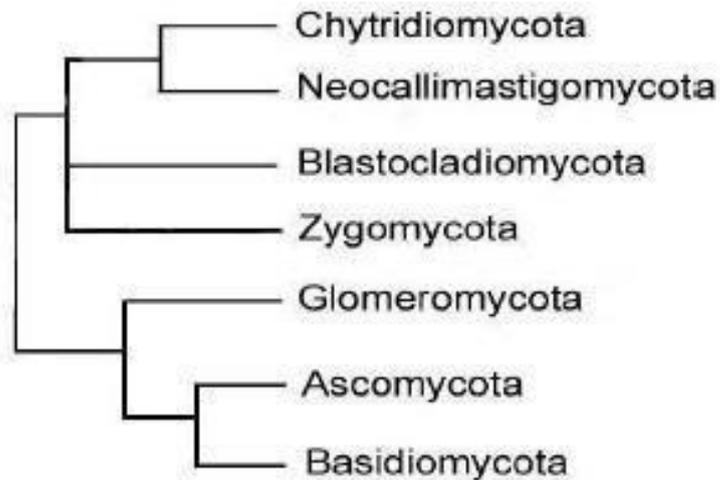


Figure 9 : Les grands groupes des Eumycètes (Durrieu, 2008).

I.2.2.4. Les Chytridiomycètes

Ce sont des champignons inférieurs, le mycélium n'est pas septé (sauf dans des structures en cours de reproduction). Les Chytrides produisent des zoospores dans des sporanges. Les zoospores sont mobiles généralement par un flagelle. La reproduction sexuée se fait par la formation d'une spore diploïde après la fusion de 2 cellules haploïdes ou la fusion d'un gamète haploïde avec un œuf immobile. La spore peut subir une méiose et produit un mycélium haploïde ou germer et produire un mycélium diploïde. Le mycélium diploïde peut donner naissance à des sporanges, qui après méiose forment des zoospores haploïdes qui germent en mycélium végétatif haploïde.

I.2.3. Le mode de reproduction

Les moisissures se reproduisent grâce à des spores, qui sont issues soit d'une reproduction sexuée (champignon téléomorphe) ou d'une multiplication asexuée (champignon anamorphe). Certains champignons, chez lesquels, les deux formes coexistent sont appelés holomorphes (Chabasse *et al.*, 2002).

I.2.3.1. La reproduction sexuée

Elle concerne les champignons téléomorphes, ou formes parfaites. Les gamètes mâles et femelles sont produits par des organes différenciés et spécialisés, appelés gamétocystes. Il y a par la suite fusion des gamètes, par caryogamie, permettant l'obtention d'une cellule œuf diploïde contenant un nombre pair de chromosomes. Ce zygote va se diviser par méiose et donner des spores haploïdes, ne possédant qu'un seul exemplaire de chromosomes (Bouchet *et al.*, 2005).

II.1.3.2. La reproduction asexuée

Ce type de reproduction concerne les formes imparfaites, ou anamorphes (Deuteromycota). En général, elle se manifeste lorsque les conditions de vie sont difficiles (hiver, sécheresse). Le noyau des spores est issu directement du noyau du thalle par simple mitose. Les cellules obtenues sont identiques aux cellules-mères haploïdes. Par conséquent, tous les thalles engendrés sont des clones du thalle parent (Alban, 2016).

I.2.4. Mode de vie des moisissures

Les champignons ou plus précisément les mycètes se distinguent du règne végétal par l'absence du chloroplaste (chlorophylle) qui aide les plantes à fabriquer les matières organiques pour se nourrir ; de ce fait elles ont développées trois modes de nutrition pour puiser les matières organiques (éléments indispensables pour leur vie) présentes directement dans l'environnement (Oei et van Nieuwenhijzen, 2005).

I.2.4.1. Le saprophytisme

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

Selon le substrat qu'ils décomposent, il existe plusieurs types de champignons saprophytes :

- Humicoles (décomposant la matière organique du sol).
- Lignicoles (décomposent la matière organique du bois mort).
- Herbicoles (sur les plantes herbacées).
- Fongicoles (sur d'autres champignons).
- Coprophiles (vivant sur les excréments).
- Les saprophytes de la litière (décomposant les feuilles mortes, brindilles et autres débris végétaux) (Moreau *et al.*, 2002).

I.2.4.2. Le parasitisme

(Du grec par, à côté ; sitos, aliment) (Kachour, 2005). Le parasitisme est une relation biologique entre deux êtres vivants dont l'un tire profit (en se nourrissant, en s'abritant ou en se reproduisant) d'un ou de plusieurs autres organismes que ça soit animale, causant des mycoses, ou végétale, causant la rouille, l'oïdium, l'antracnose (Cassier *et al.*, 1998 ; Combes, 2001).

I.2.4.3. La symbiose

Selon (Marouf et Reynaud ,2007), la symbiose est une association étroite et durable entre les organismes d'espèces différentes, pouvant appartenir à des règnes différents , vivant en équilibre les uns avec les autres et tirant les bénéfices mutuels de cette union, mais pouvant vivre séparément.

➤ **Les lichens** : sont constituées d'une association entre champignon (principalement du phylum Ascomycota) et une cyanobactérie. L'algue, capable de photosynthèse, va fournir les molécules organiques carbonées au champignon qui en retour fournira les éléments minéraux à l'algue.

➤ **Les mycorhizes** : sont constituées d'une association entre un champignon et la racine d'une plante. Les mycorhizes constituent la forme de symbiose la plus répandue à l'échelle planétaire. On estime que 90% des végétaux contractent spontanément cette association. Les champignons vont développer un réseau de filaments mycéliens à partir de la racine et vont être impliqués dans la nutrition minérale des plantes. C'est d'ailleurs une association symbiotique qui aurait permis aux plantes de coloniser le milieu terrestre (Nasraoui, 2006).

I.2.5. Conditions de développement des moisissures

I.2.5.1. Conditions physicochimiques

Le développement des moisissures est également dépendant de l'environnement. Les facteurs physico-chimiques les plus importants sont : la température, l'humidité, l'activité d'eau, l'oxygène, le pH et les nutriments (Aurélie, 2013).

I.2.5.1.1. La température

Les moisissures se développer entre 0°C et 35°C. Il y a des espèces sont capables de se développer à des températures extrêmes : *Cladosporium herbarum* peut se développer à des températures inférieures à 0°C et *A. flavus* ou *A. fumigatus* jusqu'à 60°C. En général, la température optimale de toxinogénèse est voisine de la température optimale de croissance (Nguyen, 2007).

I.2.5.1.2. L'humidité

Les moisissures ont en général un besoin en eau faible par rapport aux autres microorganismes (Davet, 1996). Néanmoins, l'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures non seulement sur la croissance mycélienne et la sporulation mais plus particulièrement sur la germination des spores (Bourgeois, 1989).

I.2.5.1.3. L'activité de l'eau

La majorité des moisissures se développent bien où l'activité en eau (A_w) voisine de 0,85, les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, peuvent se développer à des A_w voisines de 0,7 à 25°C (Tabuc, 2007).

I.2.5.1.4. L'oxygène

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. la plupart sont aérobies.les plus exigeants vivent dans les régions périphériques des substrats, les moins exigeants peuvent se développer en profondeur comme *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus* (Bourgeois, 1989 ; Botton *et al.*, 1999) .

I.2.5.1.5. pH

Le développement d'un champignon sur un substrat donné est liée à des propriétés inhérentes au champignon telles que la capacité à produire des métabolites (enzyme, pigments, synthèse de toxine) .La tolérance au pH est assez grande pH = 2 à 7,5 (Meletiadiis *et al.* , 2001).

I.2.5.2. Les nutriments

II.2.5.2.1.Azote

Les moisissures incorporent l'azote par hétérotrophies. Ils ne peuvent assimiler l'azote gazeux mais peuvent utiliser le nitrate, l'ammonium, l'urée et certains acides aminés par absorption directe à travers la membrane. Des sources complexes d'azote, comme les peptides et les protéines, ne sont utilisables par les hyphes qu'après leur dégradation par des protéases en acides aminés (Nicklin *et al.*, 2000).

II.2.5.2.2. Vitamine

Les moisissures ont des besoins de vitamines préformées, comme la thiamine et de la biotine, ainsi que des stérols, de la riboflavine, de l'acide nicotinique et folique (Nicklin *et al.*, 2000).

II.2.5.2.3. Carbone

Les moisissures utilisent comme source de carbone et d'énergie, Le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentent les sucres les plus utilisés .Ces hydrates de carbone sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme aérobie (Nicklin *et al.*, 2000).

II.3. Généralités sur les mycotoxines

Le terme « mycotoxine » vient de la combinaison entre le mot grec « *mycos* » qui signifie champignon, et le latin "*toxicum*" qui veut dire poison (Joanna, 2015).

Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, généralement non dégradables par les organismes vivants et très stables à la chaleur (jusqu'à 250°C) puisque nous pouvons les retrouver dans les aliments après cuisson ou même après stérilisation et aux pH extrêmes. Leur durée de vie dans l'aliment est plus longue que celles des moisissures les ayant synthétisées. (Guezlane-Tebibel *et al.* , 2016).

Les mycotoxines sont donc des substances toxiques, sécrétées essentiellement par les micromycètes. Ce sont plus précisément des métabolites dits secondaires (Alban, 2016), produits par certains types de moisissures(ou champignons filamenteux) telles que celle appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Nadine et Sabine, 2013).

Ils sont normalement synthétisés par le champignon à la fin de sa phase exponentielle de croissance et ne jouent, à ce titre-là, aucun rôle physiologique distinct (Joanna ,2015).

La Majorité des contaminations a lieu lors de la phase de croissance des végétaux. En effet, dans les champs, des champignons et moisissures produisant des mycotoxines se développent naturellement sur les plantes. La prolifération des mycotoxines dans les champs est dépendante des conditions climatiques (Chakraborty, 2000) comme la sécheresse, l'humidité, (Paterson et Lima ,2011) la pluviométrie (Lahouar *et al.*, 2016) et la concentration en dioxyde de carbone (dans l'atmosphère et les végétaux) (Paterson et Lima, 2010).

Le risque associé aux mycotoxines peut être aigu ou chronique. Le risque aigu au contact de fortes concentrations de mycotoxines est modéré chez l'homme et concerne plutôt la filière animale. Cette contamination peut se faire d'une manière directe par la consommation des végétaux comme les céréales et leurs produits dérivés (la bière), les grains, les fruits secs (amandes, noix, arachides), les fruits y compris leurs jus et les compotes pour les nourrissons ainsi que leurs produits de fermentation tels que les vins et le cidre (Gargouri, 2020).

II.3.1. La biosynthèse des mycotoxines

Les moisissures sont des formidables usines à produits chimiques naturels qui se distinguent dans leurs structures, leurs fonctions et leurs voies de biosynthèse. Les mycotoxines sont les produits terminaux d'une cascade de réactions enzymatiques qui débutent souvent quand des enzymes multi-modulaires comme les polypeptides synthases (PKS), les non-ribosomal peptides synthétases (NRPS) ou les terpènes synthases (TS), catalysent respectivement le réarrangement ou la condensation de métabolites primaires simples tels que l'acetyl-CoA, les acides aminés ou les terpènes pour aboutir à des métabolites secondaires plus complexes. L'action de ces enzymes ne suffit pas, à elle seule à conduire à la synthèse des mycotoxines ; d'autres enzymes de modification sont nécessaires pour catalyser les réactions ultérieures dans les voies de biosynthèse (Figure 10). Ces enzymes fonctionnent au même moment de sorte que les nouveaux intermédiaires sont pris en charge tour à tour par l'enzyme suivante jusqu'à aboutir au produit final qui est la mycotoxine.

Les mycotoxines sont regroupées en fonction de leur origine biosynthétique en trois catégories principales, à savoir les terpènes, les polypeptides et les peptides cycliques non ribosomiques (Joanna, 2015).

La voie des acides aminés : Selon (Alban, 2016), ce sont les unités constituant les protéines. Leur caractéristique commune est la présence des groupes -COOH et -NH dans leur structure chimique. Font partie des dérivés des acides aminés : les alcaloïdes de l'ergot du seigle, l'Acide aspergillique, la Roquefortine, les Sporidesmines, l'Acide cyclopiazonique, la Slaframmine, la Tryptoquivaline, la Gliotoxine.

La voie des polycétoacides (polyacétates) : ce sont des composés indispensables au métabolisme énergétique des cellules de tous les organismes vivants. Les Ochratoxines, les Aflatoxines, la Zéaralénone, la Stérigmatocystine, la Citrinine, la Patuline et les Rubratoxines sont issues de la métabolisation des polycétoacides.

La voie des terpènes : ce sont des composés organiques principalement issus des résines produites par les végétaux. La Toxine T₂, le Déoxynivalénol, la Fusarénone, les Roridines ou encore les Verrucarines sont des dérivés des terpènes.

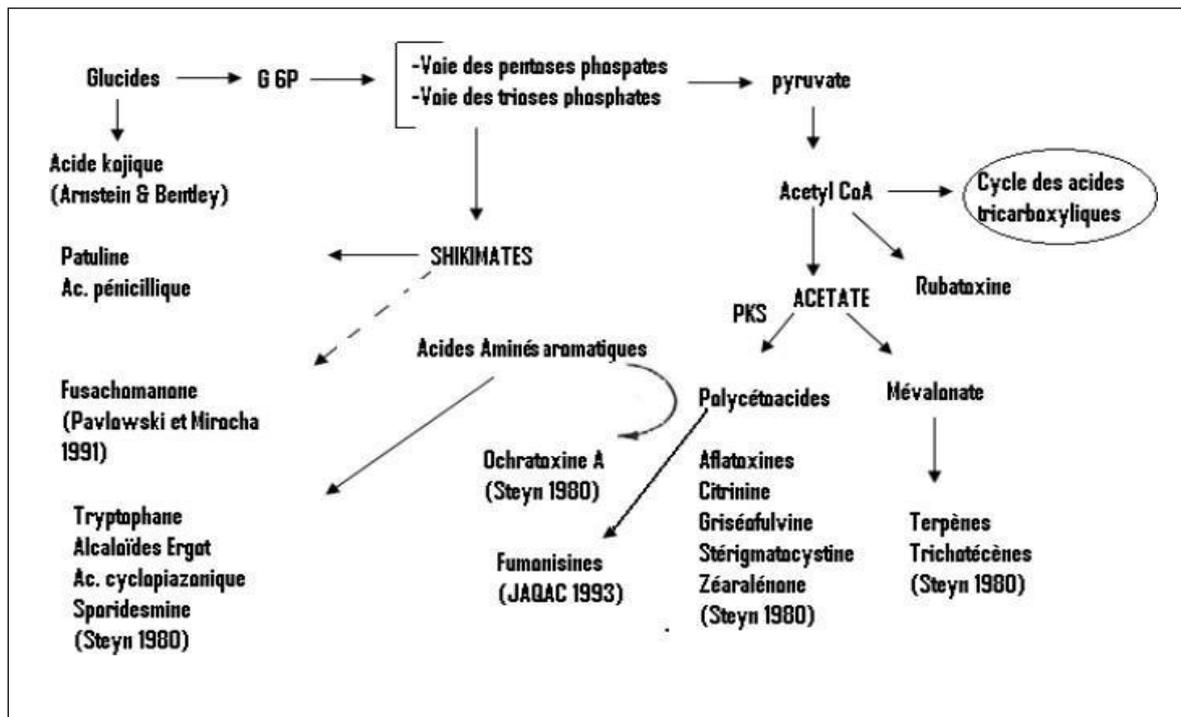


Figure 10 : Biosynthèse de mycotoxines (Tabuc, 2007).

II.3.2. La mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La production de toxines et le développement fongique sont intimement liés. Dès lors, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions idéales de toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique (Moreau, 1994).

La toxinogénèse est un processus complexe qui n'est pas intégralement connu. La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs environnementaux ou extrinsèques (D'Mello *et al.*, 1997).

II.3.3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines

La mycotoxinogénèse est fortement influencée par l'interaction complexe de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (Magan et Aldred, 2007).

II.3.3.1. Facteurs intrinsèques

Ils sont liés à la souche fongique elle-même. Certaines moisissures sont toxigènes, mais d'autres ne le sont pas et certaines espèces peuvent produire plusieurs mycotoxines, à l'instar de l'*Aspergillus flavus* qui peut produire des aflatoxines, de l'acide cyclopiazonique et de l'aspertoxine (Fitzgerald et coll, 1998).

II.3.3.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs de l'environnement qui favorisent le développement de la toxigénèse sont nombreux à savoir la teneur en eau, l'humidité relative, le pH, la température, la composition du substrat en éléments nutritifs et sa richesse en graisses ou en azote et la compétition entre les différents micro-organismes. (Ben Miri ,2019).

- **Nature du substrat**

Les moisissures sont des organismes hétérotrophes se développant exclusivement sur des substrats nutritifs, à l'exemple du saccharose et des acides aminés contenus dans les produits alimentaires de base. Pour utiliser ces substrats, il faut pouvoir les atteindre ; une rupture préalable des défenses naturelles des grains et des fruits est donc nécessaire pour permettre une pénétration et un développement rapide des moisissures (Vogelgsang et coll, 2008).

- **Activité de l'eau**

Il s'agit d'un paramètre dont l'influence est déterminante sur le développement des moisissures ainsi que sur la production de mycotoxines. Dans un premier temps ce paramètre influence la germination des spores ; puis dans un second temps, le développement mycélien. Quelle que soit la nature de l'aliment aucun micro-organisme ne peut se développer lorsque l'(Aw) est inférieure à 0,65. Pour les *Aspergilli*, la croissance optimale selon les espèces se situe entre une (Aw) de 0,71 et une Aw de 0,98 alors que la plupart des *Penicillia* se développent à des (Aw) comprises entre 0,78 et 0,88 (El assaoui ,2018) (Figure 11).

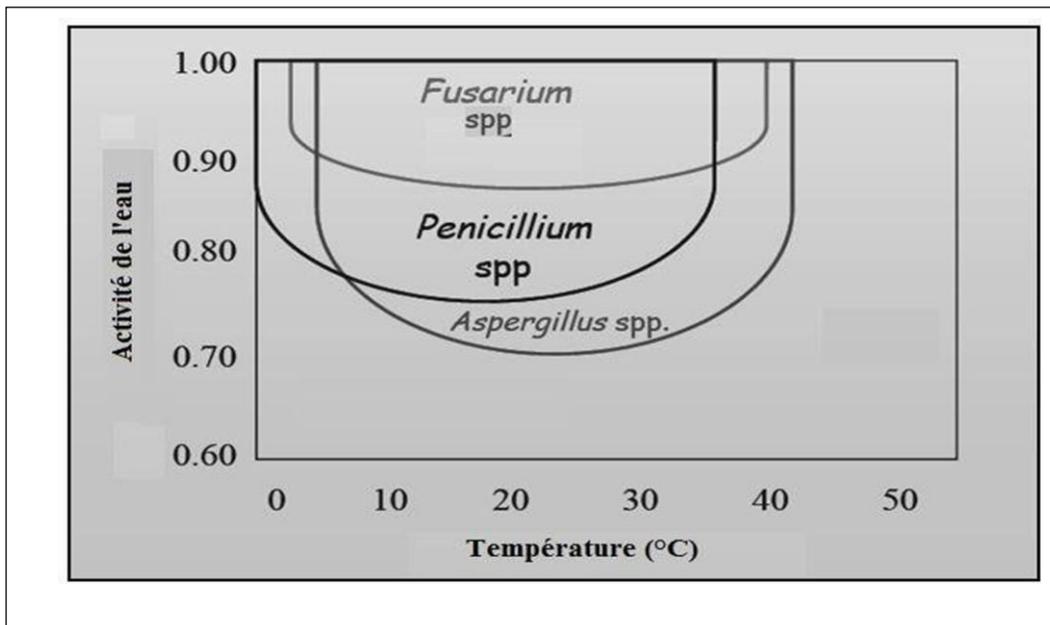


Figure 11 : Profils schématiques des limites croissance/pas de croissance pour les genres *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium* (Magan *et al.*, 2015).

- **Température**

La plupart des champignons sont mésophiles avec des optima de croissance variant de 25 °C à 35°C. Pour d'autres, elles sont psychrophiles ou psychrotolérantes.

La température permettant une toxigénèse optimale est en général voisine de la température optimale de croissance. Par ailleurs, les mycotoxines peuvent être élaborées à des températures généralement inférieures à celle de la croissance. En ce qui concerne les *Aspergillus* de la section *Nigri*, de façon générale, la production d'OTA se fait dans un très large intervalle de température (Ben Miri ,2019).

- **pH du milieu**

Le pH du milieu est un facteur important dans la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des champignons se développent normalement à des pH compris entre 3 et 8, leur croissance optimale étant généralement obtenue pour des pH compris entre 5 et 6. (Guezlane-Tebibel *et al.* , 2016).

- **Aération**

Presque toutes les moisissures sont aérobies. Elles ont besoin d'oxygène pour une Croissance normale. Toutefois, leur développement est peu affecté par des teneurs qui sont 10 fois plus faibles (2,1 %) que celles de l'atmosphère. En conséquence, certaines espèces de

moisissures pourront se développer sur les denrées alimentaires conservées dans une atmosphère pauvre en oxygène (Webster et Weber, 2007).

II.3.4. Les principales mycotoxines

II.3.4.1. Les Aflatoxines

Les aflatoxines (AFs) sont des métabolites secondaires produits par des espèces fongiques comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius* (Kensler *et al.*, 2011). Ces contaminants naturels de l'alimentation humaine et animale sont à la base de divers problèmes tels que les déficiences nutritionnelles, l'immunosuppression, le cancer du foie, les effets mutagènes et tératogènes (Wagacha et Muthomi, 2008). Elles ont été isolées pour la première fois en Angleterre en 1960, suite à des intoxications dans un élevage de dindonneaux (Adams *et al.*, 2002 ; Chapeland *et al.*, 2005).

Ce sont des espèces fréquemment retrouvées dans les zones chaudes et humides. Elles ont été mises en évidence dans les denrées alimentaires telles que les noix (arachides, pistaches, noisettes...), les grains (maïs, millet, sorgho...), le coton, les épices ainsi que le lait (Brochard et le Bacle, 2009).

Les conditions optimales de croissance et de production d'AF nécessitent une activité en eau faible, de l'ordre de 0,84 à 0,86, ainsi qu'une température comprise entre 25 et 40°C (Alban, 2016).

II.3.4.2. L'Ochratoxine A

Les Ochratoxines (A, B et C) constituent une famille de mycotoxines appartenant aux moisissures du genre *Aspergillus* ou *Penicillium*. L'Ochratoxine A est la plus fréquente et la plus connue (Rkiba, 2020). L'ochratoxine A (OTA) est un métabolite secondaire fongique découvert en 1965 par une équipe Sud-Africaine au cours d'une recherche systémique sur les mycotoxines. L'OTA est également décrite comme étant un puissant néphrotoxique, tératogène, avec des propriétés immunotoxiques (Damien, 2015).

Les principales sources d'OTA dans l'alimentation sont les céréales. Cependant, des niveaux importants de contamination peuvent être relevés dans le jus de raisin et le vin rouge, le café, le cacao, les fruits à écale, les épices et les fruits secs (Marion, 2002).

II.3.4.3. Les trichothécènes

Les trichothécènes (TCT) sont des mycotoxines produites par de nombreux *Fusarium* dont les principaux sont *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium poae* et *Fusarium sporotrichioides*. Les mycotoxines les plus étudiées dans ce groupe sont le Déoxynivalénol (DON), les toxines T-2 et HT-2 (Oms, 1980).

Les effets toxiques des trichothécènes comprennent des effets gastro-intestinaux tels que les vomissements, la diarrhée et l'inflammation intestinale. Dans leur ensemble, les trichothécènes sont immunodépresseurs (Whitlow *et al.*, 2001).

II.3.4.4. La Zéaralénone

La Zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine produite par certaines espèces de *Fusarium* tel que *Fusarium graminearum*, lorsqu'elles infectent une grande variété de céréales pendant la récolte, la transformation commerciale des céréales et le stockage (Zinedine *et al.*, 2007).

Le ZEN peut causer des problèmes de reproduction chez les animaux comme les bovins, les porcs et les volailles, et peut-être chez les humains. Le ZEN se trouve couramment dans le monde entier dans le maïs, les produits à base de maïs, le sorgho et le seigle (Jonathan *et al.*, 2015).

II.3.4.5- Les fumonisines

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines produites par quelques espèces de *Fusarium* tel que *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum* (Xing *et al.*, 2014), infectant les cultures de céréales dans des conditions climatiques particulières. La fumonisine B1 est la plus abondante dans les aliments dérivés destinés au bétail et à l'Homme (Ducret, 2000), mais l'ingestion de FB1 chez les animaux provoque une leucoencéphalomalacie, un œdème pulmonaire et un hépatocarcinome ou autres maladies du foie et cancer de l'œsophage chez l'homme (Jonathan *et al.*, 2015).

II.3.4.6. La Patuline

La Patuline (PAT) est un métabolite toxique secondaire, produit par de nombreuses

espèces des genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Elle est considérée comme un contaminant alimentaire naturel, présent dans les fruits avariés en particulier la pomme et leurs dérivés (Ake *et al*, 2001). Les études expérimentales faites sur la PAT montrent que celle-ci est une neurotoxine et qu'elle produit des altérations pathologiques sévères dans les viscères (Damien ,2015).

II.3.5. Les principales moisissures toxinogènes

Deux groupes de moisissures toxinogènes peuvent être distingués, le premier type est constitué de moisissures envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur des plantes sénescents ou stressés : il sera question de toxine de champs. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte ; on les qualifiera de toxines de stockage. Ainsi, des champignons du sol ou de débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions le permettent (Afssa, 2006).

II.3.5.1. Le Genre *Penicillium*

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

Les colonies présentent un aspect duveteux voire poudreux, de couleur vert-de-gris et, plus rarement, blanche. Morphologiquement, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau (*Penicillius* en latin). Le thalle cloisonné porte les conidiophores, simples ou ramifiés, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonne de conidiophores). Les phialides (cellules conidiogènes) sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores (Figure 12) (Botton *et al*, 1990).

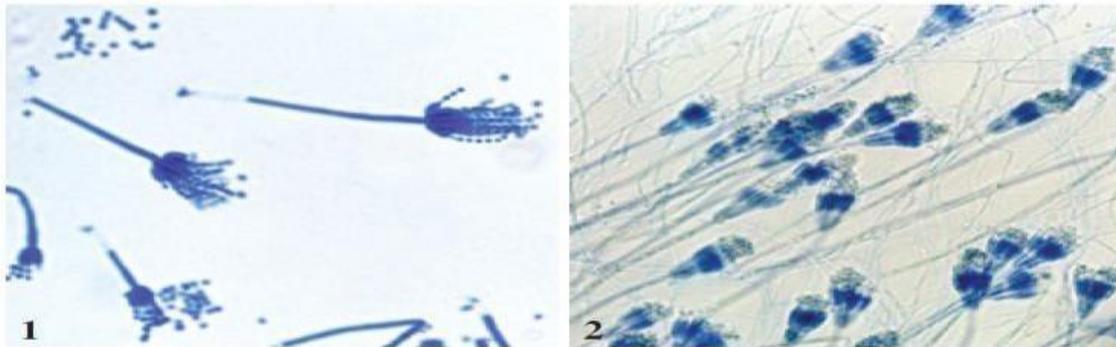


Figure 12 : Aspect microscopique des *Penicillium* : 1-*Penicillium* monoverticille 2-*Penicillium* bi-verticille (Chabasse *et al.*, 2002).

Les espèces appartenant au genre *Penicillium* produisent un certain nombre de mycotoxines, le Tableau 3 représente quelques toxines produites par le genre *Penicillium*.

Tableau 3 : Quelques toxines produites par le genre *Penicillium* (Norholt *et al.*, 1979 ; Pitt, 2000 ; Bennett et Klich, 2003).

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

II.3.5.2. Le genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. De même que pour les *Penicillia*, 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*.

Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus* (Gams *et al.*, 1986).

Les colonies d'*Aspergillus spp*, duveteuses ou poudreuses, à développement rapide, sont le plus souvent de couleurs vives et variées. L'appareil végétatif d'*Aspergillus spp* est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Se dressent sur ces filaments végétatifs les conidiophores qui se terminent par une vésicule de forme variable. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule : dans ce cas on parlera de « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parlera de « tête bisériée ». L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (Figure 13). Les spores sont insérées en chaîne sur les phialides. Elles sont unicellulaires, de forme globuleuse, ou elliptique, et de couleurs variables (Raper et Fennel, 1965).

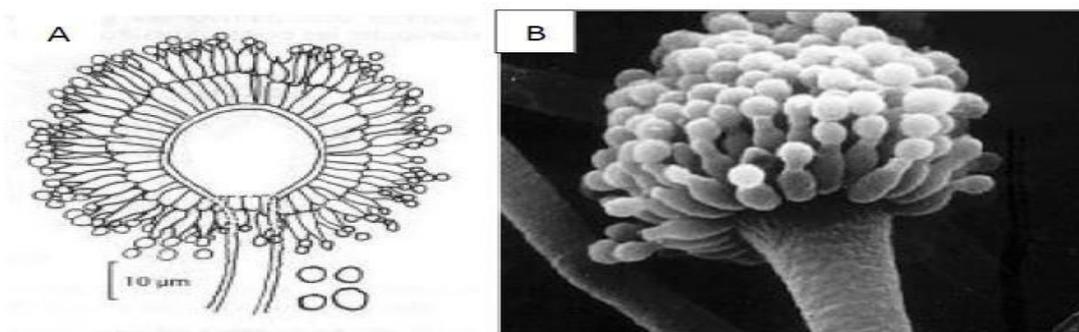


Figure 13 : Tête aspergillaire d'*Aspergillus ochraceus* (A), en microscopie électronique (B) (ElKhoury, 2011).

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* produisent un certain nombre de mycotones, le Tableau ci dessous (Tableau 4) représente quelques toxines produites par le genre *Aspergillus*.

Tableau 4 : Quelques toxines produites par le genre *Aspergillus* (Pitt, 2000).

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

II.3.5.3. Le Genre *Fusarium*

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux dont le genre « Deutéromycète ». Ce genre comprend entre 50 et 100 espèces anamorphes. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin « *fusus* » qui signifie fuseau, en référence à la forme des conidies. Ils se développent rapidement et produisent des colonies planes, d'aspect cotonneux, voire floconneux, et de couleurs claires : Crème, blanche, saumon, violette, brune, jaune (Chermette et Bussieras ,1993).

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (Messiaen et Cassini ,1968).

Les *Fusarium* sont caractérisés par trois types de spores (Figure 14) :

- ✓ Les macroconidies, fusiformes et cloisonnées. Leur présence est la caractéristique majeure qui permet de distinguer le genre *Fusarium* des autres genres. Les différentes formes des macroconidies, leur taille ainsi que les extrémités apicales et basales (arrondies, crochetées, effilées, crantées) sont des éléments centraux pour l'identification des espèces de *Fusarium*. Ils peuvent permettre de différencier des espèces proches (Messiaen et Cassini ,1968).
- ✓ Les microconidies, petites, septées ou non (0 ou 1 septum, parfois 2 septa pour certaines espèces). Leurs formes sont diverses : fusiformes, ovoïdes, en forme de poire (piriforme) ou derein. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. Leur distinction s'exerce sur les microconidies elles-mêmes, les cellules conidiogènes sur lesquelles elles sont formées (monophialides ou polyphialides) ainsi que leur arrangement (seule, en chaîne, en bouquet) (Messiaen et Cassini ,1968).
- ✓ Les chlamydospores. Elles ne sont pas présentes chez toutes les espèces. Elles sont formées seules, doublées, en bouquet ou en chaîne. Elles sont terminales ou intercalaires et différenciées par le mycélium ou par les conidies (Messiaen et Cassini ,1968).

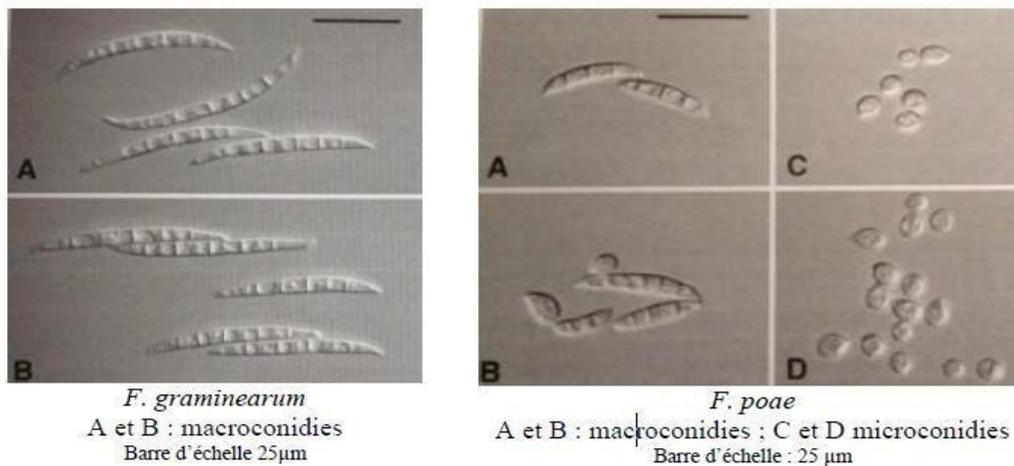


Figure 14 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006).

Les espèces appartenant au genre *Fusarium* produisent un certain nombre de mycotoxines, le tableau si dessous (Tableau 5) représente quelques toxines produites le genre *Fusarium*.

Tableau 5 : Quelques toxines produites par le genre *Fusarium* (Pitt, 2000).

Espèces	Toxines produites
<i>Fusarium culmorum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone, Culmorine, Fusarine C
<i>Fusarium avenaceum</i>	Moniliformine, Fusarine C
<i>Fusarium graminearum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	Acide fusarique, Moniliformine, Oxysporine
<i>Fusarium poae</i>	Trichothécènes A, Fusarine C

II.3.6-Méthodes de détection des mycotoxines dans les aliments

Les méthodes disponibles pour l'évaluation des risques liés à la présence des mycotoxines sont celles qui permettent le dosage direct des mycotoxines. Les protocoles destinés à la quantification des mycotoxines incluent des étapes d'extraction, de purification et de concentration. (Riba ,2008).

L'analyse proprement dite comprend la détection, la quantification et la confirmation.

Elle fait intervenir des techniques chromatographiques :

La chromatographie sur couche mince a été utilisée pendant longtemps mais, par cette technique, il est devenu difficile de mesurer les teneurs maximales autorisées par les règlements européens, trop basses pour cette technique. Elle a donc été remplacée avantageusement par la chromatographie liquide haute performance (HPLC) qui est particulièrement intéressante pour la détermination des très basses concentrations, pour la spécificité de ses modes de détection et pour ses possibilités d'automatisation. De nombreux protocoles analytiques existent. La technique la plus couramment utilisée est la HPLC avec détecteur spectrofluorimétrique. Les propriétés naturelles de certaines mycotoxines à fluorescer sont exploitées (Zéaralénone, ochratoxine A) ; pour d'autres on exalte leur fluorescence, par exemple par dérivation post-colonne à l'iode ou au brome dans le cas des aflatoxines. Certaines molécules comme les fumonisines sont rendues fluorescentes par dérivation pré-colonne avec l'orthophthaldialdéhyde. La HPLC avec détecteur spectrophotométrique est utilisée pour les analyses de Patuline, de nivalénol et Déoxynivalénol. On voit actuellement se développer une technique de détection plus coûteuse : la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. La chromatographie en phase gazeuse est surtout utilisée pour la détection de molécules du groupe des trichothécènes dans les céréales, avec détection par capture d'électron ou spectrométrie de masse. Les tests immunoenzymatiques (ELISA) sont souvent considérés comme une méthode de tri. Cette technique est rarement retenue dans les méthodes normalisées et doit toujours être associée à une étape de confirmation par méthode classique (Marie, 2002).

Matériel et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

Dans le présent travail, on s'intéresse à l'étude mycologique de quelques fruits à coques commercialisés au niveau de la Wilaya de Constantine. Les fruits à coques en questions sont : les Amandes, les Arachides et le Noix.

Ce travail a été initié et réalisé dans le laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mantouri Constantine1.

II.1. Etude mycologique des fruits à coque

II.1.1. Echantillonnage

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est composé des Amandes, des Arachides et de Noix.

Les échantillons ont été achetés chez un grossiste au centre de la wilaya de Constantine et transportés au laboratoire dans des flacons stériles. Ces échantillons ont été prélevés de façon aléatoire, en évitant les prélèvements systématiques, prélèvement à partir de la surface, et sur les côtés du compartiment.

L'échantillon de chaque type se compose de (Tableau 6) :

- 3 échantillons d'arachide (décortiquée, avec enveloppe, décortiquée au labo).
- 3 échantillons d'amande (décortiquée, avec enveloppe, décortiquée au labo).
- 3 échantillons de noix (décortiqué, avec enveloppe, décortiqué au labo).

Tableau 6 : tableau représente les différentes variétés des échantillons étudiés.

Les fruits à coques	La figure	Code	La quantité
Amande nu (Amande décortiquée)		Am nu	5g

<p>Amande enveloppé (Amande non décortiquée)</p>		Am env	5g
<p>Amande décortiquée au labo</p>		Am i	5g
<p>Arachide nu (Arachide décortiquée)</p>		Ar nu	5g
<p>Arachide enveloppé (Arachide non décortiquée)</p>		Ar env	5g
<p>Arachide décortiquée au labo</p>		Ar i	5g

Noix nu (Noix décortiquée)		N nu	5g
Noix enveloppé (Noix non décortiquée)		N env	5g
Noix décortiqué au labo		N i	5g

II.1.2. Isolement de la flore fongique

L'étude mycologique des fruits à coque en question, a été faite en utilisant deux méthodes, la méthode d'ulster (ou la méthode directe) et la méthode des dilutions (ou la méthode indirecte) (Compaor *et al.*, 2016).

II.1.2.1. Méthode directe d'Ulster

Pour chaque échantillon (Arachide, noix, amande), ont été désinfectés superficiellement par trempage dans l'eau de javel puis dans l'éthanol, pendant une minute, puis rincer plusieurs fois à l'eau distillée stérile, puis séchés à l'aide d'une compresse stérile (Adjou et Soumanou, 2013). Sous des conditions aseptiques, Les grains désinfectés ont été placés directement, à l'aide d'une pince stérile, dans des boites de pétri contenant le milieu PDA (annexe) et le milieu sabouraud (annxe). L'ensemble est incubé à 37 °C pendant 4 à 6 jours (Ghiasian *et al.*, 2004)

II.1.2.2. Méthode indirect de dilution

Cette méthode permet d'isoler la flore fongique se trouvant à l'intérieur et à l'extérieur des grains. 1g gram pour chaque échantillon finement broyés sont mis en suspension dans des tubes stérile contenant 9 ml d'eau distiller stérile additionnés de 2 gouttes Tween 80 et homogénéisé par agitation durant 10 min. Des dilutions décimales (10^{-2} et 10^{-3}) sont réalisées à partir de la solution mère (10^{-1}) (Matmoura *et al.*, 2019). Un volume de 1 ml est ensemence en surface par un râteau sur milieu PDA. L'incubation a lieu à 37 °C pendant 5 à 7 jours à l'obscurité (Figure 15).

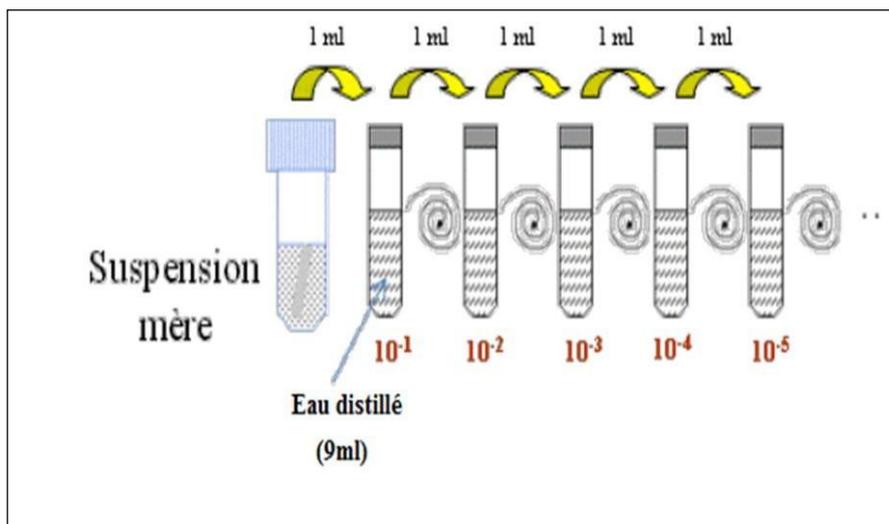


Figure 15 : Préparation des dilutions décimales (Anonyme 2).

II.1.3. Purification

Les colonies fongiques obtenues ont été repiquées successivement jusqu'à l'obtention de souches pures, sur chaque boîte de Pétri d'une seule colonie d'un champignon. Le repiquage a été fait par prélèvement d'un fragment de l'hyphe fongique à l'aide d'une anse de platine stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu Sabouraud et le milieu PDA, Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri soigneusement étiquetée (Ousman Abdoullahi *et al.*, 2019).

II.1.4. Identification morphologique

L'identification morphologique des champignons, fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des moisissures isolées à l'état pure (Botton *et al.*, 1990).

II.1.4.1. Identification macroscopique

Les caractères morphologiques et culturels sont déterminés après ensemencement des souches pures sur les deux milieux de cultures spécifiques PDA et Sabouraud (annexe), et incubée à 28°C pendant 5 à 6 jours. L'identification se fait à l'œil nu et elle se base essentiellement sur les caractères suivants (Botton *et al.*, 1990) :

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

II.1.4.2. Identification microscopique

L'observation microscopique a été réalisée par la technique du scotch qui consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène (annexe). Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour du scotch avec une feuille de papier absorbant. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40 et x100 (Chabasse *et al.*, 2002).

L'étude microscopique du mycélium est basée sur :

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

Résultats et discussion

IV- Résultats et discussion

Dans cette étude, trois types de fruits à coques commercialisés au niveau de la Wilaya de Constantine ont fait l'objet d'un isolement de leur microflore fongique sur deux milieux gélosés PDA et Sabouraud.

IV.1. Etude mycologique des fruits à coque

IV.1.1. Isolement des souches fongiques

L'isolement des moisissures à partir des échantillons des fruits à coque en question, a été fait en utilisant la méthode directe d'ulster ; qui repose sur le principe de stimulation du développement des moisissures par incubation des grains, et la méthode indirecte de dilution (Compaore *et al.*, 2016).

La méthode d'Ulster est une méthode de mise en évidence de la moisissure de surface et de profondeur des grains étudiée, pour juger l'efficacité de tel ou tel mode de stockage (Laouid et Neftia, 2007).

L'isolement des moisissures a abouti à la sélection de 20 isolats répartis comme suit :

□ 9 Isolats fongiques à partir de l'échantillon de d'Amande (enveloppé et décortiqué au labo), que représente 45% des isolats.

□ 7 Isolats fongiques à partir de l'échantillon d'Arachide (décortiqué, enveloppé et décortiqué au labo), que représentent 35% des isolats.

□ 4 Isolats fongiques à partir de l'échantillon de Noix (décortiqué, enveloppé et décortiqué au labo), que représentent 20% des isolats.

Le pourcentage des isolats obtenu selon chaque type de fruits à coque analysé, est représenté dans la figure 16.

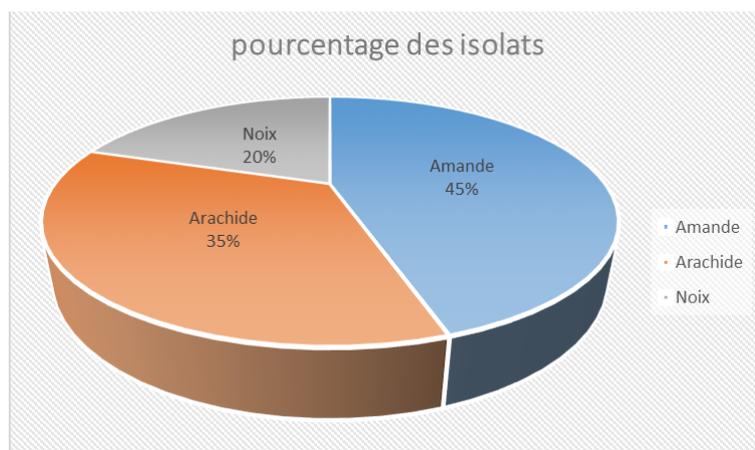


Figure 16 : pourcentage des isolats fongiques obtenus de chaque type de fruits à coque.

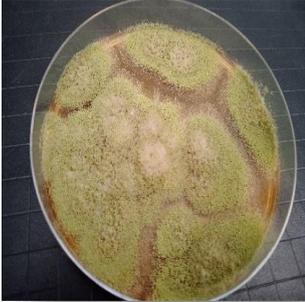
IV.1.2. Identification morphologique des souches fongiques

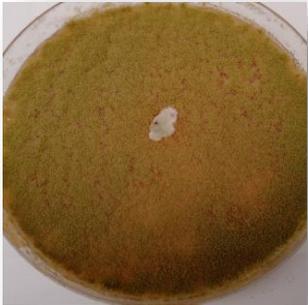
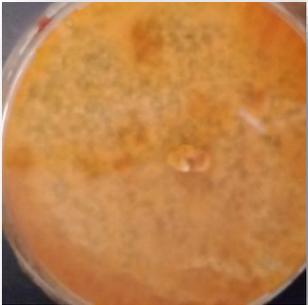
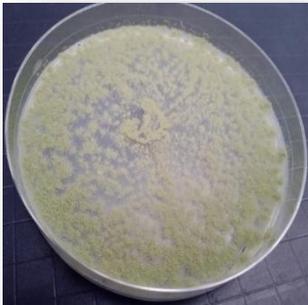
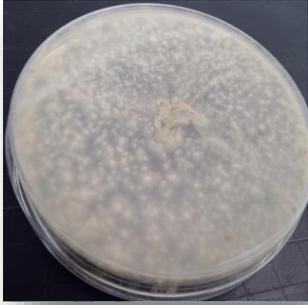
L'identification de ces genres étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (Botton *et al*, 1990 ; Guiraud, 1998), en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium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

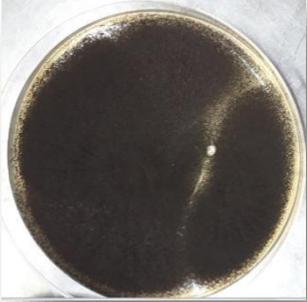
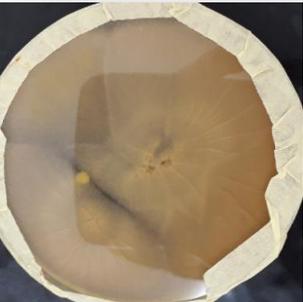
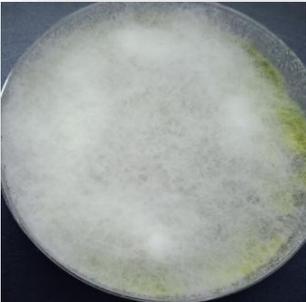
IV.1.2.1. Identification macroscopique

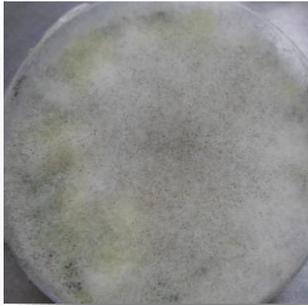
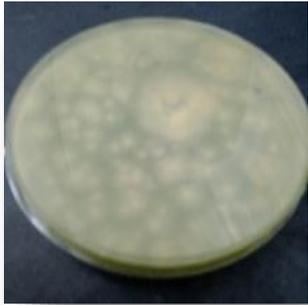
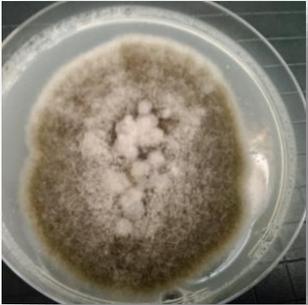
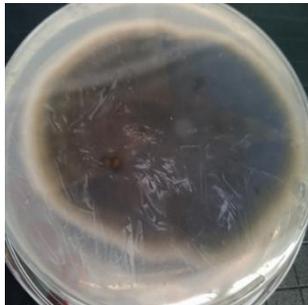
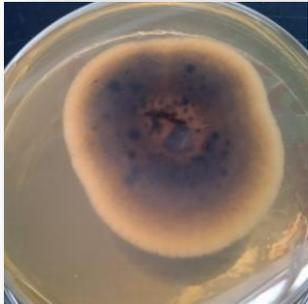
Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur les deux milieux PDA et Sabouraud (annexe), les plus communément utilisés à cet effet (Botton, 1990). Le (Tableau 7) résume l'aspect, la couleur, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

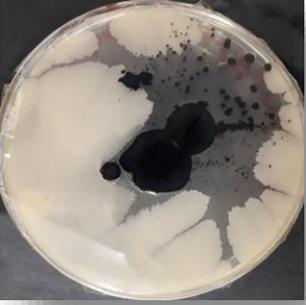
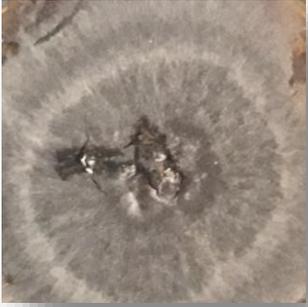
Tableau 7 : Observations macroscopiques des différents isolats obtenus.

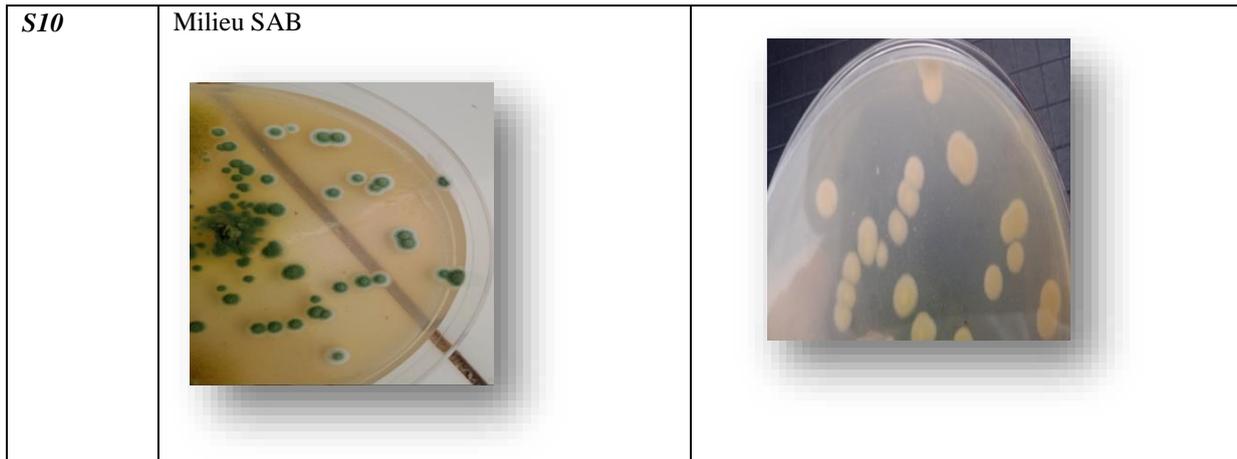
Aspect macroscopique des isolats		
Isolats	Recto	Verso
S1	Milieu Sab 	
	Milieu PDA 	
S2	Milieu Sab 	

	Milieu PDA 	
S3	Milieu Sab 	
	Milieu PDA 	

S4	Milieu Sab		
	Milieu PDA		
S5	Milieu Sab		
	Milieu PDA		

		
S6	Milieu Sab 	
	Milieu PDA 	
S7	Milieu Sab 	

	Milieu PDA 	
S8	Milieu PDA 	
S9	Milieu SAB 	



S1

La souche S1 isolée à partir de l'échantillon Am i. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB, avec un aspect duveteux à poudreux, On remarque ; qu'au cours de la sporulation, les colonies deviennent plus vertes sur les milieux de culture : PDA et SAB.

S2

La souche S2 isolée à partir de l'échantillon Am i. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB avec un aspect poudreux.

S3

La souche S3 isolée à partir de l'échantillon Ar env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB avec un aspect poudreux. Le revers de la boîte de pétri marron sur SAB et incolore sur le milieu PDA.

S4

La souche S4 isolée à partir des échantillons N i, N nu. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte de pétri jaune sale à brun sur SAB et incolore sur le milieu PDA. Les colonies deviennent poudreuses et forment des spores noires sur le milieu SAB et PDA.

S5

La souche S5 isolée à partir de l'échantillon Am i. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide très grand, avec une texture cotonneuse. Le revers de la boîte de pétri marron sur SAB et incolore sur le milieu PDA.

S6

La souche S6 isolée à partir de l'échantillon Am env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : une colonie marronne avec des bordures blanches sur les deux milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte est noirâtre sur SAB et sur PDA. On note un aspect poudreux sur les deux milieux.

S7

La souche S7 isolée à partir de l'échantillon Am env Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : une colonie vert olive sur les deux milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte est noirâtre sur SAB et sur PDA. On note un aspect poudreux sur les deux milieux.

S8

La souche S8 isolée à partir de l'échantillon Ar nu. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : des colonies de couleur vert olive avec une texture veloutée et un revers noir sur le milieu PDA.

S9

La souche S9 isolée à partir de l'échantillon Am env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance moyenne .On remarque ; qu'au cours de la sporulation, des colonies grises avec un revers marron sur SAB.

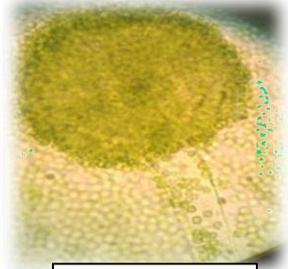
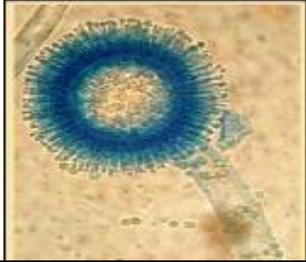
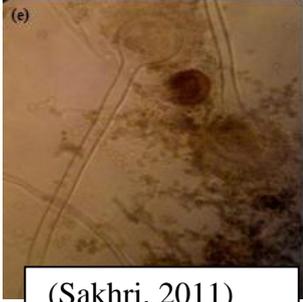
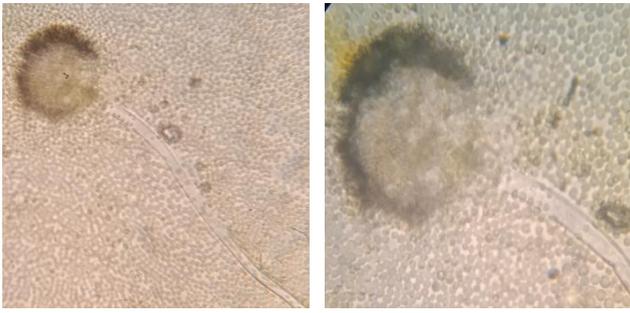
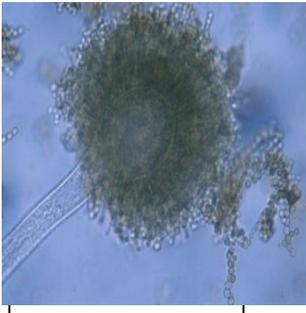
S10

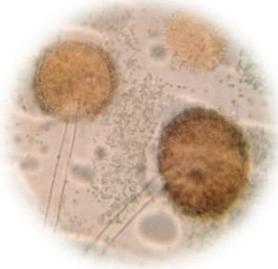
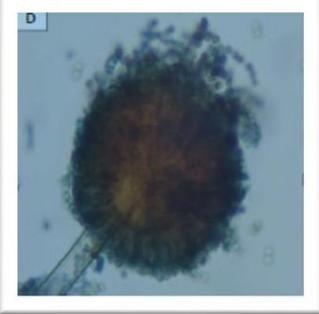
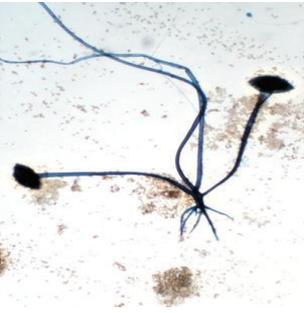
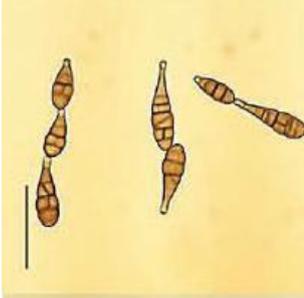
La souche S10 isolée à partir de l'échantillon Am env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle croissance rapide et des colonies duveteuses de couleur vertes avec des bordures blanc, le revers est incolore sur SAB.

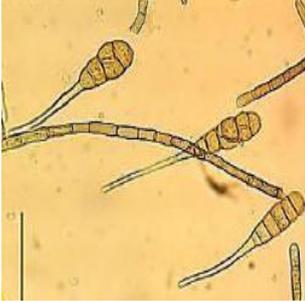
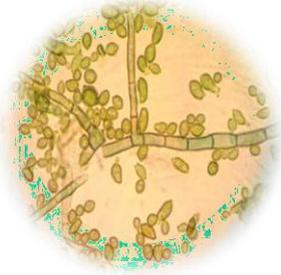
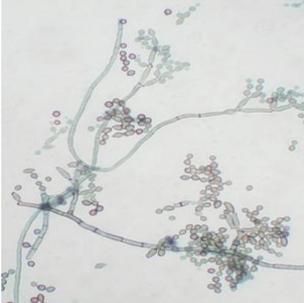
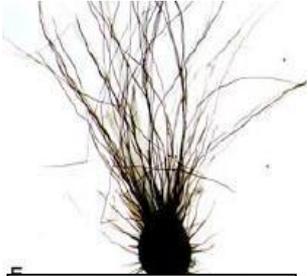
IV.1.2.2 .Identification microscopique

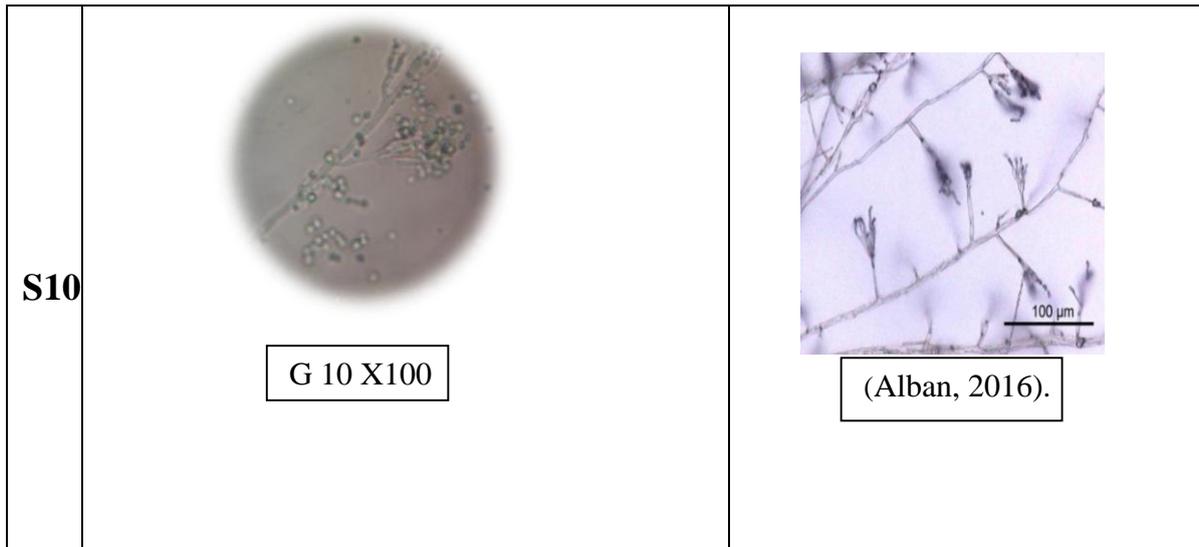
L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des 20 souches fongiques (Conidiophores, conidies et mycélium) ; 06 genres des champignons sont mis en évidence sur le tableau 8.

Tableau 8 : Observations microscopiques des différents isolats obtenus.

Aspect microscopique des isolats		
	Aspect microscopique	Photo de référence
S1	 <p>G40×100</p>	 <p>(Makhlouf <i>et al.</i>, 2019)</p>
S2	 <p>G40×100</p>	 <p>(Sakhri, 2011)</p>
S3	 <p>G10×40 G 10×100</p>	 <p>(Alban, 2016)</p>

<p>S4</p>	 <p>G 10×40</p>	 <p>(Arfaoui ,2019)</p>
<p>S5</p>	 <p>G 10×40</p>	 <p>(Chabsse, 2002)</p>
<p>S6</p>	 <p>G 10×40</p>	 <p>(Nabahat, 2014)</p>

<p>S7</p>	  <p>G10×40</p> <p>G 10×100</p>	 <p>(Nabahat, 2014)</p>
<p>S8</p>	 <p>G 10×100</p>	 <p>(Chabsse, 2002)</p>
<p>S9</p>	 <p>G 10 X100</p>	 <p>(Wang <i>et al.</i>, 2019)</p>



Sur la base des résultats obtenus (Tableau 7 et 8) et aussi sur la base du catalogue les moisissures d'intérêt médical et description of médical fungi, 06 genres de moisissure ont été identifiés comme : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus* et *Chaetomium* (Figure 17).

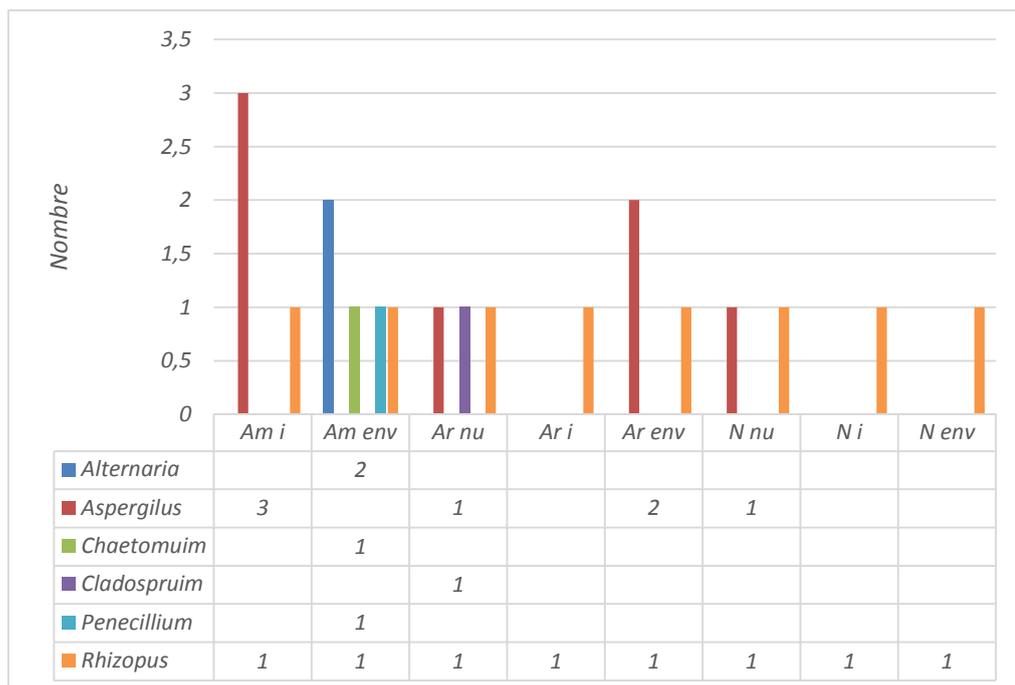


Figure 17 : graphe représente les genres fongiques identifiés par rapport aux différents échantillons.

➤ 07 souches présentent les caractéristiques suivantes :

- Filaments septés.
- Des conidies produites par des phialides insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiophore large et non cloisonné (disposition en tête aspergillaire).

D'après les clés d'identification de (Chabsse, 2002), ces souches semblent appartenir au genre *Aspergillus*.

S1

La souche S1 isolée à partir de l'échantillon Am i. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB, avec un aspect duveteux à poudreux, On remarque ; qu'au cours de la sporulation, les colonies deviennent plus vertes sur les milieux de culture : PDA et SAB. Le revers de la boîte de pétri est brune sur sab et marron sur PDA. Leur caractère microscopique : conidiospore long et non cloisonné, hyalines, les conidies sont globulaires de couleur verte.

D'après (Chabasse *et al.*, 2002) et (Makhlouf *et al.*, 2019) , l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Aspergillus flavus*.

S2

La souche S2 isolée à partir de l'échantillon Am i. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB avec un aspect poudreux. Le revers de la boîte de pétri marron sur SAB et incolore sur le milieu PDA. Leur caractère microscopique se caractérise par un mycélium non cloisonné, et une tête aspergillaire.

D'après (Chabasse *et al.*, 2002) et (Sakhri, 2011),l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Aspergillus sp1*.

S3

La souche S3 isolée à partir de l'échantillon Ar env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB avec un aspect poudreux. Le revers de la boîte de pétri marron sur SAB et incolore sur le milieu PDA. Leur caractère microscopique se caractérise par un mycélium non cloisonné, une tête aspergillaire unisériée, avec la présence des conidies globuleuses et de couleur verte.

D'après (Chabasse *et al.*, 2002), l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Aspergillus sp 2*.

S4

La souche S4 isolée à partir des échantillons N i, N nu. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : un thalle à croissance rapide sur les milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte de pétri jaune sale à brun sur SAB et incolore sur le milieu PDA. Les colonies deviennent poudreuses et forment des spores noires sur le milieu SAB et PDA. Leur caractère microscopique se caractérise par un mycélium non cloisonné, une tête aspergillaire unisériée constituée d'une vésicule sphérique, avec la présence des conidies globuleuses de couleur brune. La tête aspergillaire est portée sur un conidiospore non ramifié.

D'après (Chabasse *et al.*, 2002) et (Hissein *et al.*, 2019), l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Aspergillus niger*.

➤ 01 souche caractérisée par :

- Des conidies produites par des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné (disposition en pinceau).
- Des phialides à col peu développées disposés en pinceaux serrés.

D'après les clés d'identification de (Chabsse, 2002), cette souche appartient probablement au genre *Penicillium*.

➤ 08 souches caractérisées par :

- Un Filaments non cloisonné, présentant à la base des rhizoïdes bien différenciés.
- Columelles brunes, semi globuleuses.

D'après les clés d'identification de (Chabsse, 2002), ces souches appartiennent probablement au genre *Rhizopus*.

➤ 2 souches caractérisées par :

- Un mycélium septé, fin et régulier brun foncé à noire.
- La forme des conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières ; souvent en forme de massue, cloisonnées

D'après les clés d'identification de (Nabahat, 2014), ces souches appartiennent probablement au genre *Alternaria*.

S6

La souche S6 isolée à partir de l'échantillon Am env. Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : une colonie brune avec des bordures blanches sur les deux milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte est noirâtre sur SAB et sur PDA. On note un aspect poudreux sur les deux milieux. Leur caractère microscopique se caractérise par un filament un mycélium septe, fin et régulier brun foncé à noire, la forme des conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières, cloisonnées.

D'après (Nabahat, 2014), l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Alternaria alternata*.

S7

La souche S7 isolée à partir de l'échantillon Am env Elle a les caractéristiques macroscopiques suivantes : une colonie vert olive sur les deux milieux de culture PDA et SAB. Le revers de la boîte est noirâtre sur SAB et sur PDA. On note un aspect poudreux sur les deux milieux. Leur caractère microscopique se caractérise par un mycélium septes, fin et régulier bruns foncé à noires, la forme des conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières, cloisonnées avec un sommet qui s'allonge progressivement.

D'après (Nabahat, 2014), l'ensemble de ces caractères (macroscopiques et microscopiques) serait que la souche isolée est *Alternaria solani*.

➤ 1 souche caractérisée par:

- Des hyphes septés et pigmentés de couleur verte qui produit des conidiophores de longueurs variables.
- Les conidies formées sont de grande taille, uni ou pluricellulaires. L'ensemble forme de longues chaînes et ramifiés.

D'après les clés d'identification de (Chabsse, 2002), cette souche appartient probablement au genre *Cladosporium*.

➤ 1 souche caractérisée par :

- Par un périthèce sphérique à ovoïdes brin avec de nombreux poils ramifié mince flexueux pendulés.

D'après les clés d'identification de (Wang *et al.*, 2019), cette souche appartient probablement au genre *Chaetomium*.

Les résultats des analyses ont démontré que les échantillons achetés dans la ville de Constantine sont contaminés par le genre *Aspergillus* (isolé à partir de l'échantillon Am i, Ar nu, Ar env, n nu), *Alternaria* (isolé à partir de l'échantillon Am env), *Chaetomium* (isolé à partir de l'échantillon Am env), *Cladosporium* (isolé à partir de l'échantillon Ar nu), *Penicillium* (isolé à partir de l'échantillon Am env) et *Rhizopus*, qui sont des contaminants généralement rencontrés dans les fruits à coque.

La figure 18 représente le diagramme des pourcentages, de la flore mycologique isolée.

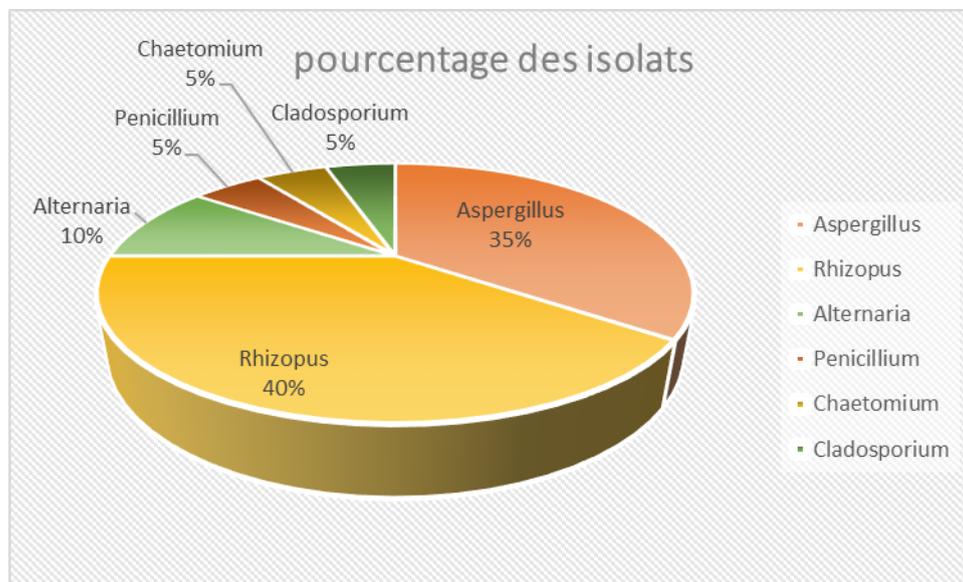


Figure 18 : Diagramme représente le pourcentage des isolats fongiques identifiés

Les fruits à coques sont des aliments susceptibles d'infection fongique dans le champ et dans des conditions de stockage inadéquates. Les noix endommagées par les charançons ou mécaniquement pendant la récolte et le transport sont particulièrement sujettes à l'invasion fongique et à la pourriture (Saleh Nawar, 2008).

Rhizopus est le genre majoritaire des souches isolées, vient ensuite le genre *Aspergillus* représenté par 04 espèces : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp1*, *Aspergillus sp2*, suivi par le genre *Alternaria* représenté par deux isolats (*Alternaria solani*, *Alternaria alternata*) et enfin le genre *Chaetomium*. Pitt et coll. (1994) ont détecté *C. globosum* parmi les espèces qui infectaient les amandes des noix de cajou en Thaïlande,

Comparativement avec les études de Benmansour-Brixi (2005), le taux de contamination de l'*Aspergillus* est le plus dominant. Cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains et la période de prélèvement.

Abdel-Gawad et Zoharii (1993) ont identifié un large éventail de moisissures provenant de cinq types de graines de noix pour la consommation humaine en Arabie Saoudite. Denizel et al. (2006) ont signalé que la mycoflore externe dominante des pistaches immatures de trois régions de Turquie était composée d'*A. niger*, *A. flavus* et de *Penicillium spp.* Ils ajoutent également que les noix stockés dans les entrepôts ont été largement contaminés par *A. flavus*, *A. niger* et *A. ochraceus* (Saleh Nawar, 2008).

Plusieurs autres auteurs ont signalé que les graines oléagineuses gâtées fournissent un substrat approprié pour la croissance, le développement et l'activité des moisissures de détérioration. (Cuero *et al.*, 1987 et Lacey., 1990 in Oyebanji et Efiuvwevwere., 2000).

D'autres travaux similaire de (Sib *et al.*, 2005) montrent une forte présence de *Mucorale* dans les échantillons de fruit à coques (arachide, amande, pistache) surtout décortiquée, ce Cahagnier(1996) estime que les conditions de conservation sont médiocres .

L'analyse de la flore fongique d'arachide a révélé la présence des espèces appartenant au genre *Aspergillus*, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par (Chapeland-Leclercetal. 2005). L'arachide est l'un de oléagineux le plus contaminé par les moisissures toxigènes le plus souvent pendant la culture, la récolte et au cours du stockage. Parailleurs, selon Wagacha *et al.* (2013), certaines moisissures comme les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont capables de produire des toxines dites mycotoxines dans les graines d'arachide et ses dérivés (amande, noix) qui peuvent se révéler très toxiques pour le consommateur. Celles –ci étaient ainsi omniprésentes chez Sib *et al.*, (2005) dans les amandes mondées et les pistaches décortiquées. Leur impact négatif réside dans l'altération des substrats (qualité organoleptique : gout, couleur, saveur, texture) et dans la sécrétion des aflatoxines dont l'aflatoxine B1 qui est la plus redoutable par son effet cancérigènes et toxique.

Or, selon (la Fao, 2013), l'élimination complète des mycotoxines dans les produits alimentaires s'avère quasi-impossible en raison de leur stabilité thermique (Boli *et al.* , 2018).

Conclusion et perspectives

Le présent travail est une contribution à l'étude mycologique et recherche des souches toxigènes des fruits à coque commercialisés dans le marché algérien plus exactement dans la ville de Tlemcen cette étude dévoile la présence d'une grande biodiversité de contaminants fongique.

Les plus dominants sont les mucorales (indiquant la mauvaise condition de stockages).

La corrélation entre les caractéristiques macroscopiques et microscopiques nous a permis de faire une identification des souches de *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Cladosporium* et *Alternaria*.

Ceux-ci montrent que ces niveaux de contaminations sont assez inquiétants à savoir que la majorité de ces souches à savoir *A. flavus*, *A. niger*, *Chaetomium*, et *Penicillium*, sont toxigènes secrètent des mycotoxines y compris les aflatoxines qui sont dangereuses et perverses donne des effets génotoxique cancérigènes néphrotoxique et leurs effets qui est chroniques s'avère plus grave.

Pour cette raison, nous devons fournir toutes les mesures préventives pour lutter contre ces contaminants de la chaîne alimentaire, pour cela réglementation doit être appliquée et des mesures strictes doivent être mise en place pour la toxinogénèse des souches identifiées.

Comme perspectives, il reste plusieurs travaux à mener afin de répondre aux questions soulevées lors de cette étude. Parmi ces travaux on cite :

- L'identification moléculaire de souches obtenues.
- L'étude mycotoxicologique des souches considérées les plus mycotoxinogénèse, à savoir *A. flavus* et *Chaetomium sp.*
- Test *in-vitro* et *in-vivo* des toxines produites.
- L'élargissement de notre recherche sur les mycotoxines vers d'autres fruits secs à coques afin d'avoir plus d'informations sur l'état hygiénique de ces denrées alimentaires.

Références bibliographique

- Abbes, S., Ben Salah-Abbes, J., Ouanes, Z., Houas, Z., Othman, O., Bacha, H., Abdel- Wahab, M.A., Oueslati, R. (2006). Préventive role of phyllosilicate clay on the immunological and biochemical toxicity of Zéaralénone in Balb/c mice. *International Immunopharmacology*, 6, 1251-1258 P.
- Abbes, S., Ouanes, Z., Ben Salah-Abbes, J., Abdel-Wahhab, M., Oueslati, R., Bacha, H. (2007). Preventive role of aluminosilicate clay against induction of micronuclei and chromosome aberrations in bone-marrow cells of Balb/c mice treated with zearalenone. *Mutation Research*, 631,85-92 P.
- Adams M. R., & Moss, M. O. (2002). Toxingenic fungi. In, *Food microbiology*, RSC, UK, 282-301 P.
- Adjou,S., Soumanou M. (2013). Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *J. Appl. Biosci*,70, 5555-5566 P.
- Afssa, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. (2009). Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale Rapport final. Maison Alfort. 308P.
- Agag,B,I. (2004). Mycotoxins in foods and feeds 3-Zearalenone.Ass. Uni. Bull. Environ.Res. (7) ,212 P.
- Ake, M., Eba, B., Malan, A. K., & Atindehou, E. (2001). Détermination de la Patuline dans le jus de fruits commercialisés en Côte d'Ivoire. *Sci. Aliment*, 21, 199-206 P.
- Alban, G. (2016).Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé.these : Sciences Pharmaceutiques. Université Bordeaux, France, 159 P.
- Arfaoui,M. (2019). Lutte biologique contre les moisissures Toxinogènes. Thèse : Sciences Biologiques.62 P.

- Aurélie, L. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Université de Reims Champagne Ardenne. Ecole doctorale sciences technologie santé. France, .21-22 P.
- Blanco Mejia, S. Kendall, C.W. Vigouliouk, E. Augustin, L.S. Ha, V.; Cozma, A.I. Mirrahimi A. Maroleanu, A. Chiavaroli, L. Leiter, L.A. et al. (2014). Effect of Tree Nuts on Metabolic Syndrome Criteria: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Trials. *BMJ Open Ros E. Health Benefits of Nut Consumption*, 2, 652-682 P.
- Ben Miri Y. (2019). Etude du potentiel antifongique, anti aflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire. Thèse : Biochimie, Microbiologie et Sciences Alimentaires .Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou, 6-8 P.
- Bennett, J. W., Klich M. (2003). Mycotoxins, *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3) :497 – 516 P.
- Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan, 13- 80. Bordas. Paris, 36-153 P.
- Boli Z. B. I. A., F camara F, Toka D.M,Koussemon M, koffi-nevry R. (2018). Validation de la méthode de détermination d'aflatoxine B1 dans les pâtesd'arachide vendues sur les marchés de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 12 (2) , 796-803 DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v12i2.14>.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris ,12-426 P.
- Botton, B., Buton A., Fèvre M., (1990). Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. Paris : Masson 2ème édition. 442 P.
- Bouchet, P., Guignard J-L, Pouchus Y-V. Les champignons, mycologie fondamentale et appliquée. (2005). Paris : Masson 2^{ème} édition ,109-111 P.
- Boudih, S. (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires

- colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse : Spécialité Sciences de la Vie et de la Santé : Université Paris EST, 15 P.
- Bourgeois,C.M ., Mescle J.F., Zucca J. (1989). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris : 216-244 P.
- Bousseboua H. (2002). Elément de microbiologie générale. Université Mantouri Constantine. Ed Campus club ,10-16, 238-239, 231-232 P.
- Brochard,G. Le Bacle C. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et propriétés toxiques des principales mycotoxines. (2009). Document pour le médecin du travail, DMT n°129, Septembre.
- Cahagnier, B., Melcion, D., Bakan, B., Richard Molard, D. (1998). Influence of temperature on fumonisin B1 production on maize grain by *Fusarium proliferatum*. Sciences des Aliments ,France ,97 P .
- Camille, D. (2014). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier, 654 P.
- Canadas, D. (2006).Evaluation du procédé Oxygreen pour son potentiel de décontamination en ochratoxine A du blé. Les effets toxiques liés à une exposition sub-chronique à l'ochratoxine a sont-ils atténués. Thèse de doctorat d'université : Génie des procédés environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique. France.23 2P.
- Cassier, P, Brugerolles, G ; Combes, C. (1998). Le parasitisme : un équilibre dynamique Enseignement des sciences de la vie. Edition Masson, 366P.
- Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N. (2002). Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: à review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. Food additives & contaminants, 19(3), 282-302P.

- Ciegler, A., Detroy, R. W., & Lillehoj, E. B. (1971). Patulin, penicillic acid, and other carcinogenic lactones. *Microbial toxins*, 6, 409-434P.
- Chabasse, D., Bouchara, J. P., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. (Edn) Bioforma. 12 P.
- Chermette, R., Bussieras, J. (1993). Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons – Alfort,.
- Chakraborty, S.; Tiedemann, A. V.; Teng, P. S. (2000), Climate Change: Potential Impact on Plant Diseases. *environ. Pollut*, 108(3), 317–326 P.
- Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T., and Villard J. (2005). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses), *Revue Française des Laboratoires*, 373 P.
- Compaore, H., Sawadogo-Lingani, H., Savadogo, A., Dianou D · Alfred S. (2016). Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productrices de substance antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso. *International journal of biological and chemical sciences*, 10(1), 198-210 P.
- Combes, C. (2001). Les associations du vivant : L'art d'être un parasite nouvelle bibliothèque scientifique, Edition Flammarion, 348 P.
- Corella, D. (2014). Mediterranean Diet and Cardiovascular Health: Teachings of the PREDIMED Study. *Adv. Nutr.* 5, 1–3 P.
- Damien Dagbedji Toffa. (2015). Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes. Thèse : Mycologie-Environnement .Rabat .Maroc : Université Mohammed VI, 245 P.
- Durrieu, G. (2008) ecological and chemical perspectives. *Fungal Diversity*, DOI : 10.1007/s13225-012-0191-8.
<http://www.associationmycologiquetoulouse.upstlse.fr/spip.php?article23>
- Decocq, G (2011). Le monde fongique. L'homme et son environnement UE 7. «Santé, Société, Humanité». 1-20 P.

- Delgado-Virgen F., Guzman-de-Peña D.(2009). Mechanism of sterigmatocystin Biosynthesis Regulation by pH in *Aspergillus nidulans*. *Braz.J.Microbiol*, 40 (4) , 1517-1590P.
- D’Mello J.P, Porter J.K, McDonald. *Fusarium Toxins*. Boca Raton : CRC Press, (1997). 287 – 301 P.
- Dongmo, G. Z., DJeugap J. F., Fenohi , N., Kenfack N.D., Takuet R, Teguefouet P (2017). Contribution à l’identification des champignons de post-récolte associés aux amandes de *Ricinodendron heudelotii* et *Garcinia kola* collectées dans les Hauts Plateaux de l’Ouest Cameroun. *Biol. Chem. Sci.* 11(4),1840-1850 P.
- Ducret C. (2000). Une nouvelle classe de mycotoxine : les Fumonisines. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier. Faculté de pharmacie de Grenoble ,54-68 P.
- El assaoui.M. (2018).Contamination des aliments par les mycotoxines : méthode de prevention, de lutte et de contamination .these : pharmacie. Université Mohammed V- Rabat ,59-64 P.
- El Khoury, A., Atoui, A., Rizk, T., Lteif, R., Kallassy, M., Lebrihi, A.(2011). Differentiation between *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* from Pure Culture and Aflatoxin-Contaminated Grapes Using PCR-RFLP Analysis of aflR-aflJ Intergenic Spacer. *Journal of Food Science* ,76 (4), 247-253 P.
- Fitzgerald, J., R. Collin et N. Towers. (1998). Biological control of sporidesmin-producing strains of *Pithomyces chartarum* by biocompetitive exclusion. *Letters in Applied Microbiology*, 26(1) ,17-21 P.
- Frazier, W. C. (1967). *Food microbiology*.Academic presse. London. 3 -429 P.
- Gacem M.A., Ould El Hadj K.A., Gacemi B. (2011). Étude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l’office algérien interprofessionnel des céréales O IC de la localité de Saida (Algérie). *Algerian Journal of Arid and Environmen*, 1 67-76 P.

- Gams W, Christensen M, Onions A.H.S, et al. Infrageneric taxa of *Aspergillus*, in : Samson R.A. Pitt J.I.(1986). *Advances of Penicillium and Aspergillus systematics*. London&New-York, Plenum Publi.
- Gargouri, D. (2020). Synthèse de réactifs multifonctionnels et d'analogues de mycotoxines. Application à la détection de mycotoxines dans des solutions alimentaires. Thèse : Spécialité Chimie Bio-Organique : l'Université de Rouen Normandie, 207 P.
- Georges, B; Johnson Peter, H; Jonathan, R; Losos, B; Bouharmont, J; Susan, R; Singer. (2011). Traduit par Jules Bouharmont, Pierre L Masson, Charles Van Hove. *Biologie –Version luxe, Biologie générale*. Éd. De Boeck Supérieur, 1406 P.
- Ghiasian, S. A., Kord-Bacheh, P., Rezayat, S. M., Maghsoud, A. H., Taherkhani, H. (2004). Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*, 158(1), 113-121 P.
- Guezlane.B., Tbibel.N, Kahlouche.B., Atmani .G.S (2011). *Microbiologie Travaux Pratiques 2ème année TCB et LMD, 4ème édition corrigée*.
- Guezlane-Tebibel N., Bouras N. et Ould El Hadj M. D. (2016). Les Mycotoxines : Un Danger De Santé Public. *Algerian journal of arid environment*, 6(1), 32-49P.
- Halls N. A., Ayres J. C.(1973). Potential production of sterigmatocystin on country-cured Ham. *Applied Microbiology*. 26(4), 636-637 P.
- Handrich C., Müller M., Westphal G., Hallier E., Bünger J. (2006). Detection of unknown toxic mycotoxins in *Aspergillus nidulans* using a structure-activity approach. *Mycotoxin Research*. 22,(4), 201-205 P.
- Hodges R.L., Hodges D.W., Goggans K., Xuei X., Skatrud P., McGilvray D. (1994). Genetic modification of an echinocandin B-producing strain of *Aspergillus nidulans* to produce mutants blocked in sterigmatocystin biosynthesis. *Journal of Industrial Microbiology*. 13,372-381 P.

- J.J., Vayssier Y., Veau P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. 12-426 P.
- Jonathan Nimal Sj., Zhou L., Wang Y., Zhao Y., Xing F., Dai X., Liu Y (2015). Détection des mycotoxines - Tendances récentes au niveau mondial. *Journal de l'agriculture intégrative*, 14 (11) ? 2265-2281 P.
- Joanna, T.(2015). Patuline, Mycotoxine de *penicillium expansum*, principal pathogène post-recolte des pommes : Nouvelles Données Sur Sa Biosynthèse Et Développement D'approches Préventives. Thèse : Pathologie, Toxicologie, Génétique Et Nutrition. Université De Toulouse, 187 P.
- Kachour L. (2005). Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité, Mémoire de magister en microbiologie de l'environnement .université baji mokhtar Annaba, 90 P.
- Krska, R., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Adam, G. (2009). Formation, détermination and significance of masked and other conjugated mycotoxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(5), 1243-1252 P.
- Kelkar H. S., Keller N., Adams T. H. (1996). *Aspergillus nidulans* encodes an O-Methyltransferase that is required for sterigmatocystin biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*. 62(11),4296–4298 P.
- Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD. (2011). Aflatoxine : Une odyssée de 50 ans de toxicologie mécaniste et translationnelle. *Sciences toxicologiques*, 120, S28–S48 P.
- Lahouar, A.; Marin, S.; Crespo-Sempere, A.; Saïd, S.; Sanchis, V. (2016). Effects of Temperature, Water Activity and Incubation Time on Fungal Growth and Aflatoxin B1 Production by Toxinogenic *Aspergillus Flavus* Isolates on Sorghum Seeds. *Rev. Argent. Microbiol.*, 48 (1) ,78–85 P.

- Lamaison, J. L., & Polese, J. M. (2005). Encyclopédie visuelle des champignons. Editions Artemis , 344 P.
- Leveau, J. Y., Larpent, J. P., & Bouix, M. (2001). Sécurité microbiologique des procédés alimentaires. Techniques de l'ingénieur, 43 P.
- Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006). The Fusarium Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- Lüttge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002). Botanique. 3ème éd. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris ,50-85 P .
- Magan, N. et D. Aldred. (2007). Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. International Journal of Food Microbiology, 119(1-2) ,131-139 P.
- Magan, N., Medina, A., Rodriguez, A. (2015). Mycotoxins, climate change and food security: do we know enough? Applied Mycology Group. Agrifood Institute, Cranfield, Bedford MK43 OAL, U.K. 298P.
- Makhlouf J , Carvajal-Campos A , Querin A, Tadriss S, Puel O, Lorber S, Oswald I, Hamze M, Bailly J & Bailly S Sylviane.(2019). Morphologic, molecular and metabolic characterization of *Aspergillus* section *Flavi* in spices marketed in Lebanon. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41704-1>.
- Marie-Paule H. (2002). Dosage des mycotoxines dans les produits oléagineux .Laboratoire DGCCRF de Rennes, 26, rue Antoine Joly, 35000 Rennes, 10(4) ,1-6P.
- Marion, R(2002). L'*ochratoxine* A : nature, origine et toxicité. Thèse :Vétérinaire. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse.23-24 P.
- Messiaen,C.M, Cassini R. (1968.).Recherche sur les Fusarioses. IV La systématique des Fusarium. Ann. Epiphyties ,19. 387-454.
- Matmoura, A, Bouti K, Bouras N, Houmani Z (2019). Contamination fongique des amandes commercialisées dans les marchés de trois villes algériennes : Blida, Médéa et Tipaza.

Journal of Advanced Research in Science and Technology, 6(1), 888-896 P.

- Mcconnaughey, M. (2014). Physical chemical properties of fungi. Reference module in biomedical sciences. 10P. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.05231-4.
- Meyer, A, Deiana, JEAN, Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2eme éd. Doin, 72 p .
- Michailides, T., Morgan, D. P., Doster, M. A.(1995). Foliar and fruit fungal diseases. In: Pistachio production. L. Ferguson (ed). Centre for fruit and nut crop research and information, Pomology, Dept., Univ. California, Davis CA. pp. 148-159
- Moreau C. (1994). Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 322 P.
- Nabahat, B. (2014). isolement, identification et caractérisations *Alternaria sp.* responsable de la détérioration des plante maraichère par des système enzymatique et moléculaire. these :Microbiologie ,140 P.
- Nadine Zakhia-Rozis, Sabine Schorr-Galindo (2013). Les mycotoxines : quelles réponses de la recherche à problématique, vol.22, n83, 149150 P.
- Nasraoui, B. (2015). Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivees. Tunisie. Institut National Agronomique de Tunisie. 180P. <http://www.nasraouibouid.tn/Livres/Livre7.pdf>.
- Nasraoui B. (2006)- Les champignons parasites des plantes cultivées. Biologie, Systématique, pathologie, maladie. Centre de publication universaire. Tunisie, 78 P .
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R. (2000). L'essentielle microbiologie. Edition Berti, 210-216 P.
- Norholt M.D, Van Egmond H.P, Paulsch W.E.(1979). Ochratoxin A production by some fungal

- species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food Protection*, 485 – 490 P.
- Oei, P ; avec la contribution de Nieuwenhijzen, B.N. (2005). La culture des champignons à petite échelle, Edition Janna de feijter, P-8,9 ? 82 P.
- OMS. (1980).Mycotoxines. Critères d'hygiène de l'environnement 11. publications.De l'OMS. Genève, 142 P.
- Ousman Abdoullahi H, Tidjani A, Sawadogo A, Tarnagda B, Abakar L.I, Cissé H , Traoré Y,Savadogo A (2019) . Isolement et caracterisation de souches fongiques à partir de poisons fume et seche du lac fitri au Tchad. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 2(4) ,155-160 P.
- Paterson,.R.M.;Lima,N.(2010).HowWillClimateChangeAffectMycotoxinsinFood?FoodRes.In t.,43(7),1902–1914 P.
- Peña-Montes C., Lange S., Flores I., Castro-Ochoa D., Schmid R., Cruz-García F. (2009). Molecular characterization of StcI esterase from *Aspergillus nidulans*. *ApplMicrobiol Biotechnol*.84 ,917–926 P.
- Pitt J.I. (2000). Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br. Med. Bull*, 56 (1), 184-192P.
- Pitt J.I, Hocking A.D. (1987). *Fungi and Food spoilage*, 2nd edition. London : Blackie Academix and Professional.
- Pitt J. and Hoking A. (1997) *fungi and food spoilage* Blackie Academic And Profesional. New South Wales, Australia
- Punt P. J., Van Biezen N., Conesa A., Albers A., Mangnus J. & Van den Hondel C. (2002). Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. *Trends Biotechnol*, 20 (5), 200-206P.
- Rank C., Nielsen K. F., Larsen T. O., Varga J., Samson R. A., Frisvad J. C.(2011).Distribution of sterigmatocystin in filamentous fungi. *Fungal Biology*, 153, 1- 15P.

- Raper K.B, Fennel D.I. (1965). The genus *Aspergillus*. New-York, USA, William er Wilkinson,209 P.
- Riba A. (2008). Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et 'ochratoxine a dans la filiere ble En Algerie. Thèse : microbiologie.universite mouloud mammeri de Tizi Ouzou.145P.
- Rkiba, Z. (2020). Les mycotoxines alimentaires .Thèse : Sciences pharma-ceutiques : Université de Mohamed DE Rabat .Maroc . 120 P.
- Rojas T.R., Sampayo C.A.F., Vázquez B.I., Franco C.M., Cepeda A. (2005). Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus spp*. In the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control*, 16,445–450 P.
- Roland J.C. et Vian B. (1985). Atlas de Biologie végétale - Tome 1 : organisation des plantes sans fleurs. Ed Masson .366 P.
- Roquebert M.F. (1997). Les moisissures : nature, biologie et contamination. [Enligne] www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/cours/roqueber.htm.
- Ros, J., Puig, C., & Ruas, M. P. (2014). Les denrées végétales dans le nord de la Catalogne d'après les sources historiques et archéobotaniques (Xe-XVe siècles): productions et échanges. *Archéologie du Midi Médiéval*, 32, 123-138 P.
- Sakhri A. (2011). Isolement des mycètes producteurs de la stérigmatocystine à partir d'aliment (maïs) et étude de son effet toxique sur Wistar albinos. Magister : Technologie des Explorations Biochimiques, 33 P.
- Saleh Nawar L. (2008). Prevention and Control of Fungi Contaminated Stored Pistachio Nuts Imported to Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences* .15 (1) 105-112 P.
- Sallam, M.N. (2007). Fungal contamination and production of mycotoxins. www.fao.org/inph/content/compand/text/ch02-01.Htm

- Senn-Irlet, B., Egli, S., Boujon, C., Kuchler, H., Küffer, N., Neukom, H. P., & Roth, J. J. (2012). Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12 P.
- Souza, R.G.M. Gomes, A.C. Naves, M.M.V. Mota, J.F. (2015). Nuts and Legume Seeds for Cardiovascular Risk Reduction: Scientific Evidence and Mechanisms of Action. *Nutr. Rev.* 2015, 73, 335–347.
- Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de l'Institut National de Polytechnique de Toulouse et de l'Université de Bucarest, 132 P.
- Tournas V.H., Niazi N.S., Kohn J.S. (2015). Fungal Presence in Selected Tree Nuts and Dried Fruits. *Microbiology Insights* 2015:8 1–6
- Tuomi, K., Huuhtanen, P., Nykyri, E., Ilmarinen, J. (2001). Promotion of work ability, the quality of work and retirement. *Occupational medicine*, 51(5), 318-324 P.
- Vesonder R. F., Horn B. W. (1985). Sterigmatocystin in Dairy Cattle Feed Contaminated with *Aspergillus versicolor*. *Applied And Environmental Microbiology*, 49 (1), 234-235 P.
- Vogelgsang, S., M. Sulyok, I. Banziger, R. Krska, R. Schuhmacher et H. R. Forrer. (2008). Effect of fungal strain and cereal substrate on in vitro mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum*. *Food Additives and Contaminants*, 25(6), 745-757P.
- Wagacha J. M. and Muthomi J. W. (2008). Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies, *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 1-12P.

Wagacha JM, Mutegi CK, Christie ME, Karanja LW, Kimani J. (2013). Changes in Fungal Population and Aflatoxin Levels and Assessment of Major Aflatoxin Types in Stored Peanuts (*Arachis hypogaea* Linnaeus). *Journal of Food Research*, 2(5), 10-23P.

Wang X.W, Houbraken J, Groenewald J.Z, Meijer M, Andersen B, Nielsen K.F, Crous P.W, Samson R.A. (2016). Diversity and taxonomy of *Chaetomium* and chaetomium-like fungi from indoor environments. 68 P. DOI: 10.1016/j.simyco.2016.11.005.

Webster J, Weber R. (2007). Introduction to fungi: Cambridge University Press. 2-3 P.

Whitlow, L. W., & Hagler, W. M. (2001). La contamination des aliments par les mycotoxines : Un facteur de stress additionnel pour les bovins laitiers. Le Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.

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

Yu J.H., Leonard T. J. (1995). Sterigmatocystin biosynthesis in *Aspergillus nidulans* requires a novel type I polyketide synthase. *Journal of Bacteriology*, 177 (16), 4792–4800 P.

Les sites

Anonyme

1 :

<https://www.santeonaturel.com/manger-fruits-secs/> .[consulté le 12/07/2021].

Anonyme 2 :

https://www.inrs.fr/publications/bdd/metropol/fiche.html?refINRS=METROPOL_147. [Consulté le 09/09/2021].

Annexe

Milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar)

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

- Couper en cubes la pomme de terre non pelée dans 600 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 20 – 30 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 600 ml d'eau distillée.
- Écraser la pomme de terre, filtrée puis ajouter le filtrat à la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.
- Compléter le volume à 1000 ml.
- Stériliser par autoclavage à 121° C / 2h.

Milieu Sabouraud

Sabouraud déshydraté.....	65 g
Eau distillée.....	1000 ml

Bleu de coton

Bleu de coton.....	0,05g
Lactophénol.....	100ml

Résumés

الملخص

يمكن ان تشكل اطعمتنا في بعض الأحيان مخاطر صحية إذا كانت ظروف الزراعة والتربية التصنيع والتسويق والتخزين سيئة. في هذا السياق تدرج مشكلة المضايقات التي يسببها التطور في المواد الغذائية الفول السوداني و الجوز و اللوز من المكسرات الزيتية التي تشكل الركيزة المفضلة للفطريات التي يمكن ان تسبب التدهور التكنولوجي و الصحي الذي يؤدي الى زيادة خطر التلوث المتبادل بالسموم الفطرية, و خطرها السام والمواد المسرطنة للإنسان و الحيوان. تحقيقا لهذه الغاية, يندرج الهدف من هذا العمل في اطار إشكالية السموم الفطرية بدءا من التحليل الفطري: عزل وتقنية السلالات الفطرية في المكسرات مع هذه الفئات المختلفة التي يتم تسويقها المقشرة, مع قشورها, والمقشرة في المختبر, بطريقتين: اولستر و طريقة التخفيف الكلاسيكية. اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان اللوز هو الأكثر تلوثا بنسبة 45% من السلالات المعزولة, يليه الفول السوداني بنسبة 35% وأخيرا الجوز بنسبة 20%. نلاحظ أيضا هيمنة اجناس *Aspergillus* و *Rhizopus* التي تشهد على سوء ظروف التخزين و التسويق. السلالات التي تم تحديدها على هذا النحو هي: 8 عزولات *Rhizopus* و *Aspergillus* بما في ذلك *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus sp* و *Alternaria* ممثلة بعزلتين (*Alternaria alternata* و *Alternaria solani*). واخيرا سلالة واحدة من كل جنس من *Chaetomium*, *Cladosporium* و *Penicillium*.

الكلمات المفتاحية: المكسرات، عفن، السموم الفطرية، تخزين.

Abstract

Our foods can sometimes present health risks if the conditions of cultivation, breeding, manufacturing, marketing and storage are poor. In this context falls the problem of nuisances caused by development in foodstuffs. Peanuts, walnuts and almonds are oleaginous nuts that constitute a preferable substrate for molds that can cause technological and sanitary deterioration inducing an increased risk of cross-contamination by mycotoxins, their toxic danger and carcinogens to humans and animal. To this end, the objective of this work falls within the framework of the mycotoxin problem starting with a mycological analysis: isolation and purification of the mycoflora in nuts with these different categories marketed shelled, with shell, and shelled at lab, by two methods: Ulster and the classic dilution method. The results obtained show that Almonds are the most contaminated with a percentage of 45% of the strains isolated, followed by Peanuts 35% and lastly Nuts by a percentage of 20%. We also note the dominance of the *Aspergillus* and *Rhizopus* genera that testify to the poor storage and marketing conditions. The strains thus identified are 8 *Rhizopus*, 7 *Aspergillus* including: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus sp.*, *Alternaria* represented by two isolates (*Alternaria solani*, and *Alternaria alternata*) and finally one strain from each genus of *Chaetomium*, *Penicillium* and *Cladosporium*.

Keywords : tree nuts; mold; mycotoxin; storage.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique.
Filière : Sciences Biologiques

Présentée par : SAYAD Ghada

SOUILAH Nourhane

Titre : Contribution à l'étude mycologique des fruits à coque commercialisés à Constantine

Résumé :

Nos aliments peuvent parfois présenter des risques sanitaires si les conditions de culture, d'élevage de fabrication de commercialisation et de conservation sont mauvaises. Dans ce cadre s'inscrit le problème de nuisances occasionnées par le développement dans les denrées alimentaires. Les arachides, les noix et les amandes sont des fruits à coque oléagineuses qui constituent un substrat préférable pour les moisissures qui peuvent provoquer une altération technologique et sanitaire induisant un risque accru de contamination croisée par les mycotoxines, leur danger toxique et cancérigènes pour l'homme et animal. A cet effet, l'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de problématique de mycotoxine débutant par une analyse mycologique : isolement et purification de la microflore dans les fruits à coque avec ces différentes catégories commercialisées décortiquée, avec coque, et décortiqués au labo, par deux méthodes : Ulster et la méthode classique de dilution. Les résultats obtenus montrent que les Amandes sont les plus contaminés avec un pourcentage de 45% des souches isolées, suivi par les Arachides 35% et en dernier les Noix par un pourcentage de 20%. On remarque aussi, la dominance des genres *Aspergillus* et *Rhizopus* qui témoignent les mauvaises conditions de stockage et de commercialisation. Les souches ainsi identifiées sont : 8 *Rhizopus*, 7 *Aspergillus* dont : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus sp.* *Alternaria* représenté par deux isolats (*Alternaria solani*, et *Alternaria alternata*) et enfin une souche de chaque genre de *Chaetomium*, *Penicillium* et *Cladosporium*.

Mot clés : Fruits à coques, Moisissures, Mycotoxines, Stockage.

Membre du jury :

Président du jury : Mme. MIHOUBI Ilham

Professeur UFM Constantine

Rapporteur : Mme. GHORRI Sana

MCB- UFM Constantine

Examineurs : Mme. BENSERRADJ Ouafa

Université Adelhafid Boussouf -Mila

**Année universitaire :
2020-2021**