

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES  
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

*LAMOURI Halima*

*Thème*

**Etude de la diversité de la flore fongique contaminant les graines de sésames**

Soutenu le: 03 / 07 /2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>BOUDJELLAL Nawel</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>AIT MIMOUNE Nouara</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>BOUHENNI Hamida</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

# Remercîment

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.

Nous exprimons nos remerciements et notre profonde gratitude à notre encadrante **Mme. Ait Mimoune** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour l'aide qu'elle nous a apportée, son entière disponibilité et sa patience.

Je remercie infiniment **Mme. BOUHENNI Hamida** et **Mme BOUDJELLAL Nawel** qui m'ont honoré d'accepter d'évaluer notre travail .

Nous exprimons également notre gratitude à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire.

Un grand merci à nos familles, à nos parents pour leur soutien, leurs encouragements et leur patience durant ces années d'études.

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



# Dédicaces

Je dédie le fruit de ce modeste travail comme geste de gratitude :

À mes très chers parents

À ma grand mère maternelle

À mes très chers sœurs **Somia** et **Zahra**

À mon frère **Nabil**

À mes cousines **Samia**, **Lina** et **Nessrine**

À mes amies : Fatma ,**khoula** ,**Linda**, **Chahinez** ,**loubna** et **Hiba**

Aux enfants : **Raouane**,**Ritadj** ,**Romaissa** et **Younes**

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer.

À toutes celles et tous ceux qui m'ont aidé dans mes études.

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment de près ou de loin.

À tous ceux que je connais et que je n'ai pas pu citer



# Sommaire

Remercîment

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

## Chapitre I

Les moisissures

1. Définition ..... 3

**2. Le mode de vie des moisissures** ..... 3

2.1. Saprophytes ..... 3

2.2. Parasitisme ..... 3

2.3. Symbiotique ..... 4

3. La reproduction des moisissures ..... 4

3.1. La reproduction sexuée ..... 4

3.2. La reproduction asexuée ..... 4

4. Les conditions de croissances ..... 5

4.1. La température ..... 5

4.2. PH ..... 5

4.3. La lumière ..... 6

4.4. Aération ..... 6

5. Les principaux genres des moisissures mycotoxinogènes ..... 6

5.1. *Aspergillus* ..... 6

5.1.1. <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	7
5.1.2. <i>Aspergillus flavus</i> .....	7
5.1.3. <i>Aspergillus niger</i> .....	8
5.2. <i>Penicillium</i> .....	8
5.3. <i>Fusarium</i> .....	9
5.4. <i>Alternaria</i> .....	10
6. Pouvoir pathogène .....	10
7. Contamination des aliments .....	10

## **Chapitre II**

### **Les mycotoxines**

1. Définition .....	13
2. La toxicité des mycotoxines .....	13
3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines .....	14
3.1. Le stockage .....	14
3.2. La propriété du sol .....	14
3.3. Facteurs biologiques .....	14
3.4. Facteur physique .....	14
4. Les principaux mycotoxines .....	15
4.1. Aflatoxines .....	15
4.1.1. Caractères généraux .....	15
4.2. L'ochratoxine A (OTA) .....	16
4.3. Les trichothécènes .....	17
4.4. Les zéralinones .....	17
1.1. La patuline .....	18

## Chapitre III

### Matériels et méthodes

I.Matériel .....	20
1.Échantillonnage .....	20
2.Choix de sésame et du site d'échantillonnage .....	21
II.Méthodes .....	22
1.Préparation de la solution mère .....	22
2.Ensemencement .....	22
3. L'incubation .....	22
4.Le dénombrement.....	22
5.La purification .....	22
6.Identification .....	23
6.1.Identification macroscopique .....	23
6.2.Identification microscopique .....	23

## Chapitre IV

### Résultats et discussion

I.Les résultats d'isolement de sésame .....	28
1.La charge totale .....	28
2.L'identification des genres et des espèces .....	28
2.1.Le genre <i>Aspergillus</i> .....	28
2.1.1. <i>Aspergillus niger</i> .....	28
2.1.1.1.Caractères cultureux .....	28
2.1.1.2.Caractères microscopique .....	29
2.1.2. <i>Aspergillus flavus</i> .....	30
2.1.2.1.Caractères cultureux .....	30
2.1.2.2.Morphologie microscopique .....	31
2.1.3. <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	31
2.1.3.1.Caractères cultureux .....	31

2.1.3.2.Morphologie microscopique .....	32
2.2.Le genre <i>Rhizopus</i> .....	33
2.2.1. Caractères culturaux .....	33
2.2.2. Morphologie microscopique: .....	33
2.3.Le genre <i>Penicillium</i> .....	34
2.3.1. Caractères culturaux .....	34
2.3.2. Morphologie microscopique .....	35
2.Taux de contamination des échantillons de sésame .....	35
3.Pourcentage de contamination par les différents genres .....	36
4.La contamination par les espèces aspergillaires identifier .....	37
Conclusion et perspectives .....	40
Références bibliographique .....	40
Annexe	
Résumé	
ملخص	
Abstract	

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Les principaux représentants de famille d'aflatoxines .....	16
<b>Tableau 2:</b> Répartition des échantillons analysés selon l'origine . .....	20
<b>Tableau 3 :</b> Les critères d'identifications macroscopique des moisissures.....	23



# Liste des figures

<b>Figure I. 1 :</b> Le cycle de reproduction des moisissures.....	5
<b>Figure I. 2 :</b> Schéma d'une tête Aspergillaire .....	7
<b>Figure I. 3 :</b> Caractères morphologiques des <i>Penicillium</i> .....	9
<b>Figure II. 1 :</b> Mycotoxines sur différentes denrées alimentaires. ( <a href="http://www.colleionline.com/colley/alimentation/index.php">http://www.colleionline.com/colley/alimentation/index.php</a> ).....	13
<b>Figure II. 2 :</b> Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA).....	17
<b>Figure II. 3 :</b> Structure chimique de la Patuline.....	18
<b>Figure IV. 1 :</b> Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .....	29
<b>Figure IV. 2 :</b> Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> observée au microscope optique (GX40). .....	30
<b>Figure IV. 3 :</b> Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	30
<b>Figure IV. 4 :</b> Aspect microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i> observée au microscope optique (GX40). .....	31
<b>Figure IV. 5 :</b> Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus</i> .....	32
<b>Figure IV. 6 :</b> Aspect microscopique <i>Aspergillus fumigatus</i> observée au microscope optique (GX40). .....	32
<b>Figure IV. 7 :</b> Aspect macroscopique de <i>Rhizopus</i> .....	33
<b>Figure IV. 8 :</b> Aspect microscopique de <i>Rhizopus</i> observée au microscope optique (GX40).34	
<b>Figure IV. 9 :</b> Aspect macroscopique de <i>Penicillium</i> .....	34
<b>Figure IV. 10 :</b> Aspect microscopique de <i>Penicillium</i> observée au microscope optique (GX40). .....	35
<b>Figure IV. 11 :</b> Taux de contamination des échantillons de sésame.....	36
<b>Figure IV. 12 :</b> Le pourcentage de contamination par les différents genres.....	37
<b>Figure IV. 13 :</b> La contamination par les espèces aspergillaires identifiés.....	38

# Liste des abréviations

**OTA** :Ochratoxine .

**ADN** :acide désoxyribonucléique.

**T°** : Température.

**PH** : Potentiel hydrogène.

**µm**:Micromètre.

**PCR** : Polymérase Chain Réaction.

**PDA** :Potato dextrose agar.

**RAPD** : Random amplified polymorphique DNA

**ARN** :Acide ribonucléique.

**CYA** :Czapeck Yeart Extract Agar.

**IARC** :International Agency for Reaserch on cancer

**OMS** :Organisation Mondiale de la Santé.

**AFG1** : Aflatoxine G1.

**AFB1** :Aflatoxine de type B1.

**AFB2** : Aflatoxine de type B2

**AFG1** : Aflatoxine de type G1

**AFM1** : Aflatoxine de type M1

**Aw** :Activité water .

**UFC** :Unité formant colonie .

**μl** : Microlètre.

**ZEA** :Les zéralinones

**Uv** : Ultra violet

# **Introduction**

## Introduction

Les champignons sont des organismes qui se nourrissent de matière organique préexistante. Elles se divisent en deux groupes principaux : les levures et les moisissures (Bousseboua 2003) . Ces micro-organismes microscopiques produisent une grande variété de métabolites secondaires, dont certains sont très utiles à l'homme et présentent un grand intérêt dans divers domaines (biologique,moléculaire ,agriculture)( (Thomas, 2010). On les trouve aussi bien dans l'air que sur le sol et les surfaces, dans les aliments et parfois dans l'eau. (Meghazi, 2015)

Les produits alimentaires peuvent être contaminés par des milliers de moisissures différentes. Ce sont des espèces saprophytes qui se nourrissent de matière organique (Guy LEYRAL, Elisabeth VIERLING, 2007) qui peuvent être divisées en deux groupes, dont le premier sont les moisissures qui pénètrent dans leur substrat et produisent des mycotoxines pour les plantes vieillissantes ou stressées (AFSSA, 2006).

En principe, les États doivent promulguer des lois spécifiques sur les principales mycotoxines présentes dans les aliments qui peuvent provoquer des moisissures toxiques afin de protéger la santé des consommateurs (Lubulwa et Davis, 1994 ; Boudra, 2009).

L'objectif de notre travail est :

- Identification des genres et des espèces fongiques qui présents dans le sésame.

Ainsi, cette étude comprend les parties suivantes :

Partie 1 : une synthèse bibliographique, qui rassemble des données générales partagée en deux chapitres ayant trait aux généralités sur les moisissures et les mycotoxines.

Partie 2 : une description des protocoles expérimentaux utilisés d'une part lors des isolements, purification, identification des souches fongiques.

Partie 3 : consacrée à la présentation des résultats obtenus et à leur interprétation.

L'étude est achevée par une conclusion générale .

# **Chapitre I**

## **Les moisissures**

**I. Les moisissures****1. Définition**

Les moisissures sont des organismes microscopiques. Ils sont hétérotrophes au carbone et se décomposent ou transforment et assimilent la matière organique en matière inorganique par l'absorption. En effet, ils participent à la formation de l'humus dans notre environnement (sol, eau et la plante), le véhicule également se décompose à travers l'air qu'il dégage, les matières premières, les personnes et les animaux également. Environ 99 000 espèces de champignons ont été décrites, mais le nombre total est pourrait atteindre jusqu'à 5 millions. (Kupferschmidt., 2012

Ces dernières peuvent causer une détérioration importante des champs agricole et leur présence indésirable et change d'apparence avec le temps. Par conséquent, il y a une réduction quantitative et qualitative de la valeur nutritionnelle avec des rendements réduits, les métabolites produits par ces champignons en croissance sont également une cause majeure de détérioration des aliments (Nguyen, 2007).

**2. Le mode de vie des moisissures**

Bien qu'ils forment dans la nature un continuum trophique, en fonction des conditions biotiques et abiotiques, trois groupes trophiques sont reconnus : (a) les saprotrophes, lorsqu'ils utilisent les déchets organiques comme principale source d'énergie ; b) les parasites lorsqu'ils envahissent d'autres êtres vivants, leur causant des dommages pour survivre ; et (c) mutualistes lorsqu'ils forment des symbioses bénéfiques, partageant les bénéfices avec d'autres organismes pour survivre (Sahbi et Maref ,2018 ).

**2.1. Saprophytes**

Les moisissures saprophytes synthétisent différentes enzymes qui les rendent adaptable à différents substrats. Dans le sol, les champignons participent au cycle de l'azote en décomposant l'azote. Ils sont capables de consommer à la fois de la cellulose et de la lignine, En tant que recycleur majeur de la matière organique des plantes (Ndong et al ,2011).

**2.2. Parasitisme**

C'est une union entre deux espèces qui dépendent l'une de l'autre pour leur existence afin de répondre aux besoins vitaux de base Avec divers mécanismes moléculaires (Ndong et al ,2011).

**2.3. Symbiotique**

C'est une association étroite et obligatoire avec un autre organisme (Mournier,2003). Ils *s'agissent* des champignons mycorhiziens Conduit à des interactions bénéfiques.

Les moisissures développent un réseau de filaments mycéliens à partir de leurs racines Impliqué dans la nutrition minérale des plantes qui aurait permis aux plantes de s'établir dans le milieu terrestre (Smith & Read,1997).

**3. La reproduction des moisissures**

Les moisissures produisent des organes reproducteurs appelés spores peut être d'origine sexuée ou asexués. Les spores d'origine sexuelle proviennent d'une fécondation (zygospores et oospores) ou méiose (ascospores ou basidiospores), alors que les spores végétatives proviennent d'une simple mitose appelée des conidies (Guiraud, 1998).

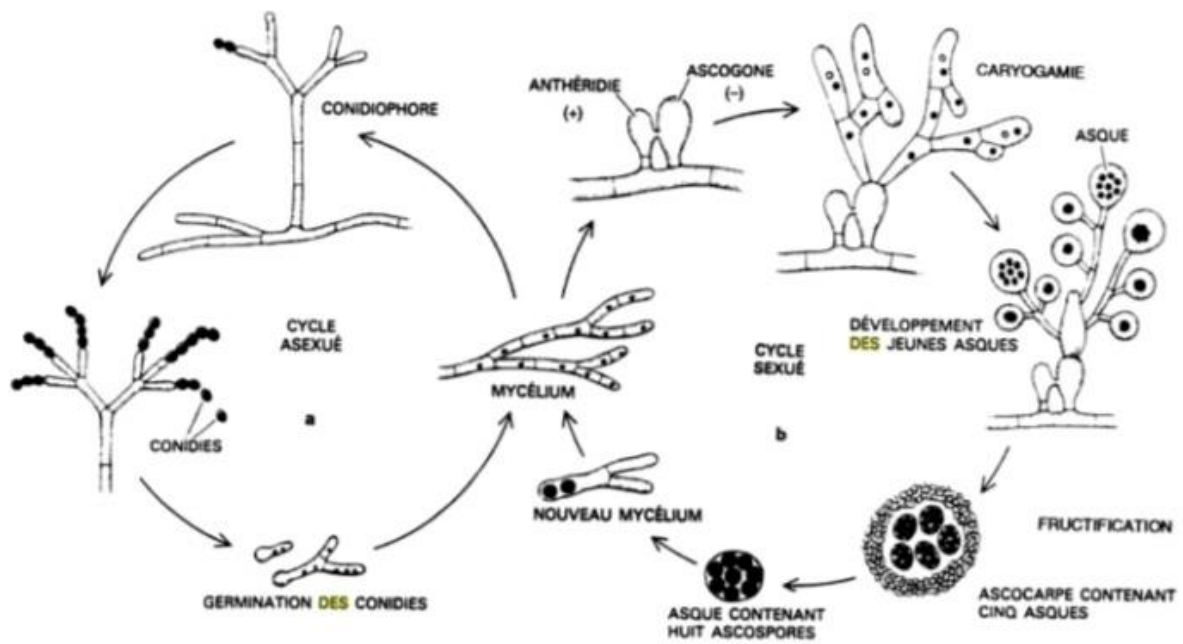
**3.1. La reproduction sexuée**

Est basée sur l'union de deux gamètes haploïdes (n) pour avoir une zygote diploïde. Une structure avec un chromosome n( +) rencontre une autre structure (-) et lorsque les cytoplasmes fusionnent, un nouveau mycélium à 2n chromosomes se forme (Lecellier, 2013).

**3.2. La reproduction asexuée**

Se produit sans fusion des gamètes. Il correspond principalement à la propagation des spores asexuée, permettant à la moisissure de se propager pour coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée sporulation. (Figure 1) (Lecellier, 2013).





**Figure I. 1 :** Le cycle de reproduction des moisissures.(Lecellier ,2013 )

#### 4. Les conditions de croissances

##### 4.1. La température

La température est un facteur important dans la croissance du mycélium. Il est également impliqué dans la formation et la germination des spores.

Les espèces thermophiles sont rares car la température optimale pour leur croissance est de 25-35°C, tandis que les espèces mésophiles (les moisissures sont généralement mésophiles) se produisent entre 10°C et 40°C (exemple : *Penicillium*, *chrysogenum* et *Aspergillus versicolor*). Il existe aussi des espèces psychrophiles à germination optimale se produisent à des températures inférieures à 10 °C ( *Penicillium expansum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum*). (Bendjoudi et Dehini ,2020).

##### 4.2. PH

La majorité des moisissures se développent dans la zone de pH entre 4,5 et 8,0 (Dossa et al., 2019) . En raison de leur acidité (pH < 6) plusieurs aliments comme les légumes et les fruits (Keller et al., 1997). Quelques espèces d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Fusarium* peuvent se développer à pH 2 (Botton et al., 1990) , la concentration ionique D'hydrogène affecte

indirectement sur la croissance de ces micro-organismes sur la disponibilité des nutriments soit directement sur la membrane Cellulaire (Botton et *al.*, 1990 ; Boiron, 1996).

### **4.3. La lumière**

La plupart des moisissures n'ont pas besoin de lumière pour pousser ou germer (Bendjoudi et Dehini ,2020). Certains champignons ne tolèrent pas la lumière et prospère dans des conditions de faible luminosité ; au contraire, certaines poussent sur les pentes ensoleillées des montagnes dans les zones permanentes (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

La lumière peut affecter la croissance fongique et la détruire de la Composition photochimique environnementale ou effets directs sur le métabolisme fongique ( Kavanagh, 2005).

### **4.4. Aération**

Certains tolèrent des niveaux d'oxygène relativement faibles (anaérobies facultatifs) et peuvent même se développer complètement en l'absence d'oxygène ( Makhlouf, 2019).Par exemple, *Aspergillus niger* peut se développer dans une atmosphère qui contient 61,7% CO<sub>2</sub>, 8,7% O<sub>2</sub> et 29,7% N<sub>2</sub> , Certaines espèces peuvent se développer en anaérobiose (Pfohl-Leszkowicz, 2001)

## **5. Les principaux genres des moisissures mycotoxinogènes**

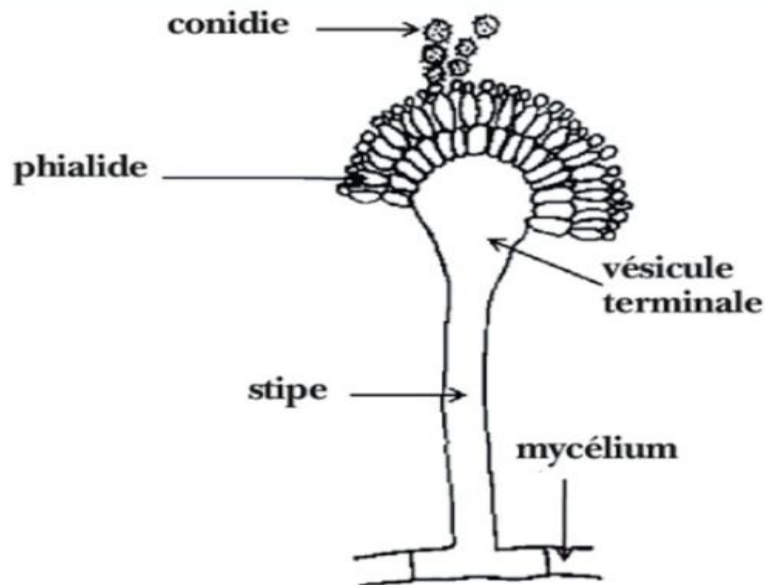
Il existe plusieurs moisissures, certaines d'entre elles sont inoffensives, mais nous nous concentrerons sur celles qui présentent une certaine toxicité :

### **5.1. *Aspergillus***

Ils ont été décrits pour la première fois par Pier Antonio Micheli en 1730. C'est un polluant très commun. Selon les auteurs, 250 espèces sont considérées comme sensibles à la chaleur, dont *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus* et *A. niger*. Si nécessaire, les grains sont récoltés humides, sous-séchés ou solides. Lors d'un stockage humide, *Aspergillus* se développe rapidement et transforme les saprophytes en parasites.

Les espèces d'*Aspergillus* sont la principale cause d'infection par les moisissures, bien que d'autres moisissures deviennent plus courantes et soient associées à une mortalité élevée (Milla et Moss,2015).

*Aspergillus* se caractérise par la présence de filaments trans . Les croisements se terminent par une vésicule qui supporte les cellules conidiogènes, les phialides est incluse soit directement ou séparés par des métules (Figure 2)(Anonyme,2014) .



**Figure I. 2 :** Schéma d'une tête Aspergillaire ( Anonyme, 2014)

### 5.1.1. *Aspergillus fumigatus*

C'est l'une des principales causes d'infections fongiques potentiellement mortelles chez les patients immunodéprimés. L'homme est constamment exposé à cette moisissure, omniprésente dans l'environnement. *A. fumigatus* est unique dans la gamme de syndromes cliniques qu'il provoque allant des syndromes allergiques aux infections aiguës invasives chroniques en passant par les infections aiguës ( Elise ,2015).

### 5.1.2. *Aspergillus flavus*

Le groupe Flavi de la section *Aspergillus* contient des espèces à tête conidienne jaune-vert à brun, dont certains produisent des sclérotés brun foncé ou occasionnellement *flavus* ont été décrites par neuf espèces et deux cultivars du groupe *Aspergillus flavus* (Samson et *al.*,2006).Morphologiquement, les espèces flavi sont très difficiles à distinguer en raison de leur grande similitude, de sorte que la taxonomie de ce genre est actuellement basée sur une approche en plusieurs étapes (Frisvad et *al.*, 2004) .

### 5.1.3. *Aspergillus niger*

*Aspergillus niger* est un champignon microscopique qui infecte les cultures ou lorsqu'ils sont stockés dans des silos (Pane et al., 2011) . L'Aspect microscopique met en évidence les têtes conidiales bifurquées, radiant, situé dans plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Les conidiophores sont longs (1,5-3 mm) lisse, hyaline et brunâtre sur la face supérieure. Les filalides (7-10 x 3-3,5 µm) sont entraînés par des métules bruns avec différentes tailles. Les conidies sont généralement sphériques, parfois un peu aplaties. (Tabuc ,2007).

La plupart des *Aspergillus* sont des saprophytes, capables de prospérer dans le sol, les débris, le compost et les plantes malades qui ont déjà été endommagées par des piqûres d'insectes ou des blessures causées par d'autres champignons. (Scheidegger et Payne, 2003)

La position systématique d'*A. niger* :(Alexopoulos et Mims, 1979 ; Bocquet, 1993)

**Règne:** Mycètes

**Embranchement:** Amastigomycota

**Sous-embranchement:** Deuteromycotina

**Classe:** Deutoromycètes

**Ordre:** Moniliales

**Famille:** Moniliaceae

**Genre:** *Aspergillus*

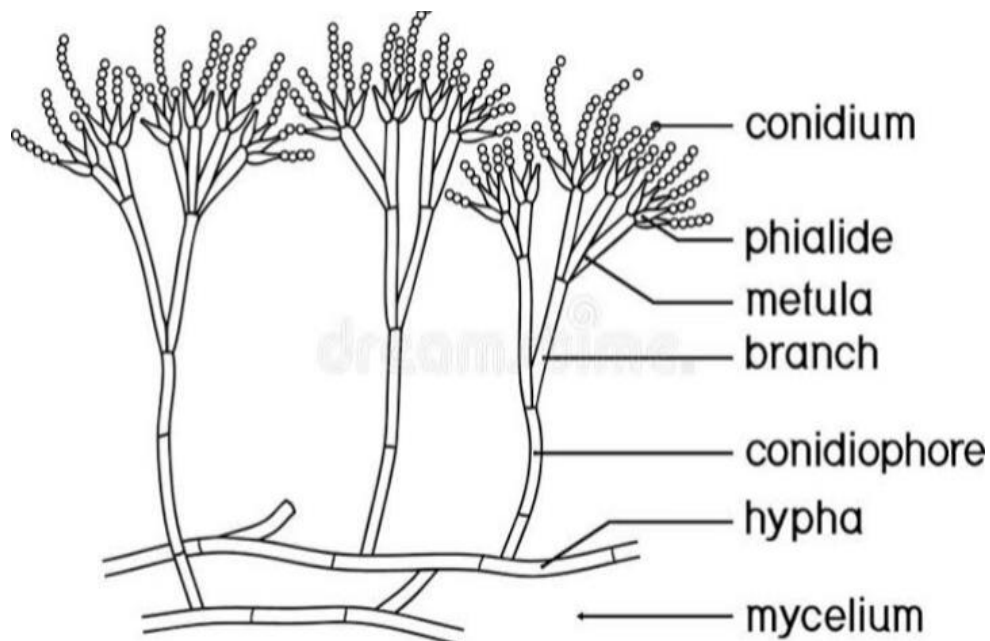
**Espèce:** *Aspergillus niger*

### 5.2. *Penicillium*

*Penicillium* compte plus de 200 espèces reconnues. Certaines espèces s'adaptent facilement au conditions de croissance en intérieur et se portent bien dans les matériaux de construction humides (Ouanzar,2012).Il poussent rapidement et facilement sur le gélose au malt sabouraud et prospèrent à des températures modérées de 20-27°C. D'un point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par son organisation en pinceau. Le thalle formé de septa et de filaments de mycélium hyalin, contient des conidiophores lisse ou granuleux, simple ou ramifié qui se terminent par un pénicille. Les Conidiophores peuvent être séparés,

regroupés en faisceaux lâches ou assemblés en noyaux très individuels (Tabuc,2007).(Figure 3).

Les principales espèces connues du genre *Penicillium* sont : *P. notatum* (synthétise la pénicilline) ; *P. camembertii*, *P. glaucum* et *P. roqueforti* (utilisés en fromagerie) ; *P. griseofulvum* (largement répandu dans le sol et les matières en décomposition, responsable de la production d'une mycotoxine dangereuse pour l'homme, qui est la patuline) et *P. chrysogenum* (espèce très commune dans le sol) (Tabuc,2007)



**Figure I. 3 :** Caractères morphologiques des *Penicillium* (Tabuc ,2007) .

### 5.3. *Fusarium*

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Deutéromycètes (champignons incomplète) .La reproduction morphologique et sexuée n'a pas été observée. Leur forme imparfaite (Anamorphe) se caractérise par la production de mycélium septal et de conidies.Hyaline unicellulaire à prédominance de conidiospores libres.

*Fusarium* se développe sur milieu de Sabouraud, mais se développe mieux sur malt agar ou sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar). La température de croissance optimale est de 22-37°C (Lepoivre, 2003).

#### 5.4. *Alternaria*

Ils sont généralement présents dans les graines et provoquent la perte de graines, émerger ou dépérir. Les jeunes pousses atteintes sont la source d'inoculum primaire substantiel pour les plantes matures avec tous les organes aériens présents peut être affecté (Champion, 1997).

### 6. Pouvoir pathogène

- ✓ *Aspergillus fumigatus* est considéré comme le principal agent pathogène de l'aspergillose chez les oiseaux et les humains (Morin, 1994) .
- ✓ *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxine. L'aflatoxine B1 est classée pour l'homme et l'animal (IARC, 1993).
- ✓ *Aspergillus terreus* produit diverses substances antimicrobiennes toxiques (flavipine, terreine, citrinine, erdine et molécules apparentées, clavacine) (Botton et al., 1990)
- ✓ Certaines espèces d'*Aspergillus* sont des agents pathogènes opportunistes; leur développement nécessite des conditions locales favorables (cavités tuberculeuses, cancer bronchopulmonaire, bronchopneumopathie maladies obstructives chroniques, emphysème, fibrose kystique...)( Badillet et al., 1987 ; Morin, 1994)

### 7. Contamination des aliments

Plus de nombreuses espèces saprophytes peuvent être présentes, en tant qu'agent pathogène secondaire dans les tissus végétaux qui peuvent ainsi envahir les céréales (maïs, blé, orge, avoine), légumes, plantes d'intérieur et de nombreux arbres fruitiers. Dans la majorité des espèces sont susceptibles de produire des mycotoxines qui associée à l'empoisonnement du bétail (Tabuc 2007).

Dans certaines conditions environnementales, certains de ces métabolites s'accumulent dans les aliments végétaux et peut être nocif pour les humains et les animaux, autres membres de genres tels que *A. citri*, *A. solani*, *A. solani longipes* et *A. tenuissima* Le groupe infectieux des espèces *A. arborescens* peut également produire des toxines dans le corps (Barkai-Golan, 2008).

# **Chapitre II**

## **Les mycotoxines**

## II. Les mycotoxines

### 1. Définition

Le terme mycotoxine vient du mot grec pour champignon, "mycos", et du mot latin, "mycos". Toxicum signifie "poison". Les mycotoxines sont des substances qui peuvent être maintenues à un niveau bas Concentration toxique. ( Oswald et Forget, 2018) .

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires non volatils et de faible poids moléculaires, développées par différentes moisissures sous certaines conditions. L'origine chimique des mycotoxines est très diverse, certaines proviennent de polycétoacides (aflatoxines, ochratoxines, patuline, stérigmatocystine), d'autres d'acides aminés. (Figure 4) . (Leclerc et *al.*, 2005)



**Figure II. 1 :** Mycotoxines sur différentes denrées alimentaires.

([Http://www.collieonline.com/colley/alimentation/index.php](http://www.collieonline.com/colley/alimentation/index.php)).

### 2. La toxicité des mycotoxines

Elles sont responsables d'intoxications aiguës parfois mortelles, notamment chez les animaux d'élevage. L'homme est particulièrement concerné par le risque d'intoxication chronique en raison de la présence dans son alimentation de traces de certains de ces contaminants qui sont écotoxiques et cancérigènes (Cast,2003).

Elles sont très stables, difficiles à éliminer et peuvent provoquer des maladies Plantes, animaux, humains (Chapeland-Leclerc et al., 2005 ; Dragacci et al.Grand, 2005)



L'exposition aux mycotoxines est particulièrement problématique pour les populations à faible revenu d'Afrique subsaharienne, qui consomment des quantités relativement importantes d'aliments de base. On estime que 26 000 Africains subsahariens meurent chaque année d'un cancer du foie associé à une exposition aux mycotoxines (Cho et *al.*,1990)

### **3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines**

Les mycotoxines se trouvent dans une variété d'aliments, y compris les oléagineux, les céréales, la viande, les épices et le lait de mammifères nourris avec des aliments contaminés (Cho et *al.*,1990).

#### **3.1. Le stockage**

La qualité des aliments conservés dépend fortement des conditions de stockage respectives. Cependant, la méthode et la durée de stockage des aliments semblent varier selon les zones agro écologiques et les groupes ethniques ( Los,A et *al.*,2018). Elles offrent une protection maximale contre l'eau, les insectes et les rongeurs. Toutes ces conditions favorisent la croissance fongique et la production d'aflatoxines dans les légumineuses et les céréales stockée. (Hell Ket *al.*,2000)

#### **3.2. La propriété du sol**

Le sol a une influence importante sur la concentration des champignons dans les produits agricoles. Il a également été rapporté qu'un sol sableux léger favorise la croissance rapide d'*Aspergillus flavus*, en particulier dans des conditions sèches défavorables (Makun, HA et *al.*, 2012).

#### **3.3. Facteurs biologiques**

Les infestations d'insectes et des ravageurs demeurent un problème majeur. Il s'agit d'un problème majeur pour l'industrie céréalière car il affecte les céréales à la fois. Les pertes post-récolte de céréales stockées dues aux insectes, acariens, rongeurs et micro-organismes représentent 10 % des pertes mondiales de céréales alimentaires, 5 % aux insectes, 2 % aux rongeurs et 5 % à 30 % aux moisissures. et les mycotoxines .(Rajendranl ; Sriranjini, 2008)

#### **3.4. Facteur physique**

La température est le premier facteur de modification des particules car elle joue un rôle important dans la conservation des particules. Elle contrôle non seulement le taux de

décomposition des grains, mais également le taux de développement des microbes et des insectes. L'échauffement des grains par la respiration est un phénomène auto-accélééré et peut entraîner la mort des grains au-dessus de 50 °C ( Cruz, JF et *al.*,2016 ).

#### 4. Les principales mycotoxines

Les mycotoxines les plus importantes sont produites par cinq types de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Alternaria* . En raison de la toxicité Fréquence de contamination des matières premières chez l'homme et l'animale, les mycotoxines les plus importantes sont l'aflatoxine, l'ochratoxine A, Fumonisines, trichothécènes, zéaralénonnes. (Afssa, 2009).

##### 4.1. Aflatoxines

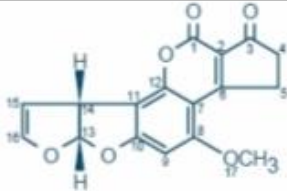
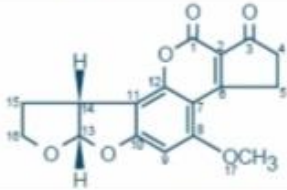
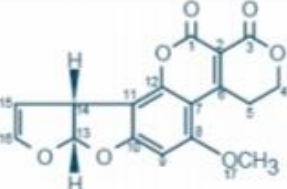
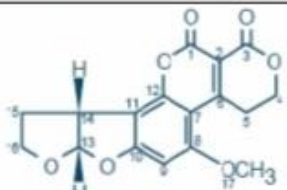
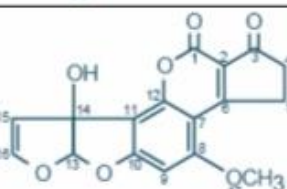
Les aflatoxines appartiennent à un groupe hétérologue de métabolites secondaires fongiques appelés mycotoxines, qui ont des effets néfastes sur la santé humaine et animale. Structuellement dérivées de la difurocoumarine, les aflatoxines sont le plus souvent produites par des souches d'*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* et *A. nomius*, bien que de nombreux autres *Aspergilli* (y compris les téléomorphes d'*Emericella* ) aient des capacités aflatoxigènes (PACA,2012).

##### 4.1.1. Caractères généraux

L'aflatoxine B1 (AFB1), est considérée comme l'un des plus puissants cancérigènes génotoxiques naturels. Son organe cible est le foie. *Aspergillus flavus* est la principale espèce productrice d'aflatoxines (uniquement du groupe B). *A. parasiticus* et *A. nomius* produisent en plus des aflatoxines du groupe G, mais ces autres champignons microscopiques (moisissures) ne sont rencontrés que très rarement dans les aliments.

Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire. L'AFB1 (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) et l'AFB2 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>), de masses molaires respectives 312.3 et 314.3 g/mol, sont fluorescentes de couleur bleue sous lumière UV. L'AFG1 (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>) et l'AFG2 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>), de masses molaires respectives 330.2 et 330 g/mol, sont fluorescentes de couleur verte. L'AFB1, absorbée par une vache laitière ou par d'autres mammifères ruminants ( chèvres, moutons, bufflonnes, chameaux), est partiellement métabolisée puis excrétée dans le lait sous forme d'AFM1(C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>). Sa masse molaire est de 328.3 g/mol, et elle est caractérisée par une fluorescence bleue-mauve (Tableau 1)(Afssa,2009).

Tableau 1: Les principaux représentants de famille d'aflatoxines (Afssa,2009)

Dénomination	Formule brute	Structure	Masse moléculaire g/mol
Aflatoxine B1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>		312,3
Aflatoxine B2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>		314,3
Aflatoxine G1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>		328,3
Aflatoxine G2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>		330,3
Aflatoxine M1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>		328,3

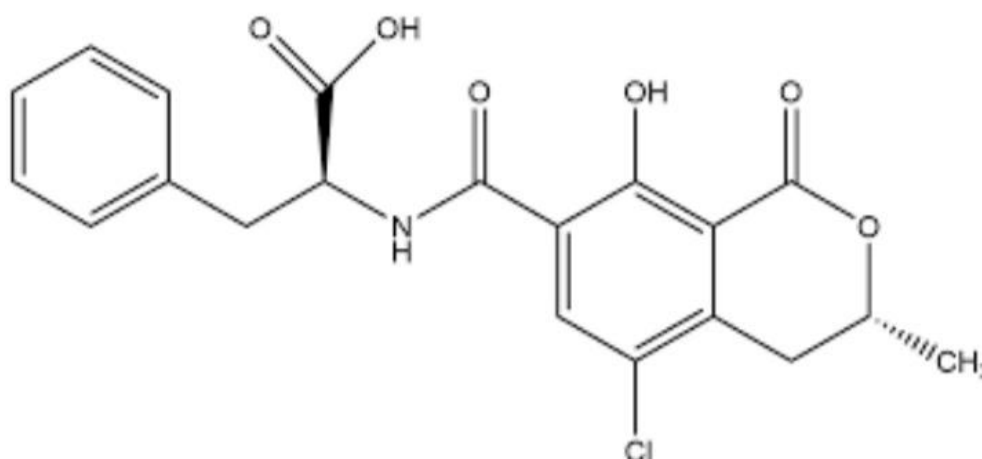
#### 4.2. L'ochratoxine A (OTA)

C'est une mycotoxine polycétide préoccupante pour la santé publique en raison de ses propriétés néphrotoxiques, immunosuppressives, tératogènes, cancérigènes et cytotoxiques.

Ochratoxines sont produites par les espèces *Aspergillus* et *Penicillium*.

Les espèces de *Penicillium* sont courantes dans les céréales, tandis que les espèces d'*Aspergillus* comprennent *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* qui sont présents dans les fruits et autres cultures dans les climats tempérés et tropicaux. Dans les régions viticoles d'Espagne, d'Italie, de France, du Portugal, d'Argentine et d'Australie, *A. carbonarius* et d'autres espèces de la section Nigri d'*Aspergillus* à spores noires sont les principaux producteurs d'OTA. La formule brute de l'ochratoxine A est C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (Figure 5). Par

conséquent, l'OTA est plus probablement produite par *Penicillium* dans les régions froides et par *Aspergillus* dans les régions chaudes. (Pohland et al., 1992 ; Varga et al., 1996).



**Figure II. 2 :** Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA)( Luis Almela et al, 2007)

### 4.3. Les trichothécènes

Ces toxines sont produites dans les champs et deviennent plus tard de la nourriture pour les poissons en tant qu'additifs aux céréales. Et ils se produisent encore pendant le stockage. Il y a environ 60 molécules dans le groupe des trichothécènes actif qui sont principalement produits par des espèces du genre *Fusarium* qui infectent les céréales en particulier le maïs.( Koraichi, 2012).

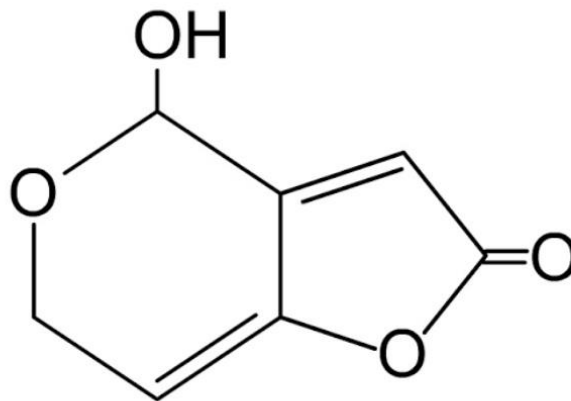
### 4.4. Les zéralinones

Il a de puissants effets œstrogénique qui peuvent survenir même à faible dose chez plusieurs espèces animales. Chez l'homme, cela provoquerait des « épidémies » de puberté précoce (Koraichi, 2012).

La contamination des céréales par le ZEA est un phénomène mondial, tout comme l'espèce de *Fusarium* qui produit cette mycotoxine qui se développe très facilement dans tous les types de climat .(Siame et al., 1998; Vargas et al., 2001; Fazekas et Tar, 2001; Odhav et Naicker, 2002).

### 1.1. La patuline

La patuline est considérée comme un poison des fruits dans le monde entier et de nombreux pays surveillent les aliments pour les résidus de patuline. Par conséquent, il est très important de développer une méthode pour détecter les résidus dans la chaîne alimentaire, cependant, la patuline est une mycotoxine principalement produite par plus de 10 espèces de champignons, telles que *Penicillium*, *Aspergillus* et *Byssochlamys* (Figure 6) (Zhao et al., 2019).



**Figure II. 3 :** Structure chimique de la Patuline ( Stachel, 1963)

# **Chapitre III**

## **Matériels et méthodes**

## I. Matériel

### 1. Échantillonnage

Les analyses effectuées ont porté sur les grains de sésame. Les échantillons sont collectées à partir des magasins, épicerie situé dans la région de Bouira à savoir : Mesdour ,Bourj okhriss ,El hachmya ...Etc (Tableau 2).

**Tableau 2** : Répartition des échantillons analysées selon l'origine .

Les échantillons	Origine	La source
n1	Bir ghalou	Épicerie
n2	Bouira	Épicerie
n3	Bouira	Magasin d'alimentation
n4	Bouira	Épicerie
n5	Bouira	Épicerie
n6	Bouira	Magasin d'alimentation
n7	Bouira	Épicerie
n8	Bouira	Magasin d'alimentation
n9	Bourj Okhriss	Magasin d'alimentation
n10	Bourj Okhriss	Magasin d'alimentation
n11	Bourj Okhriss	Épicerie
n12	Sour elghzlan	Magasin d'alimentation
n13	Sour elghzlan	Épicerie
n14	Sour elghzlan	Magasin d'alimentation
n15	Ain bessam	Épicerie
n16	Ain bessam	Magasin d'alimentation
n17	Ain bessam	Magasin d'alimentation
n18	Mesdour	Épicerie
n19	Mesdour	Épicerie
n20	Mesdour	Magasin d'alimentation

**2. Choix de sésame et du site d'échantillonnage**

Il est important de prendre en considération plusieurs points lors du choix de la plante à utiliser ainsi que de son habitat.

- ❖ Les plantes vivant dans des milieux distincts et spécifiques, pouvant résister à des conditions extrêmes telles que les hautes altitudes, les déserts, la salinité, etc. pourraient héberger des champignons.



## **II. Méthodes**

### **1. Préparation de la solution mère**

Pour chaque traitement, 10g de sésame sont mis en suspension dans 90ml d'eau distillée stérile. La solution est agitée pendant 20 minutes sur un agitateur. La suspension obtenue correspond à la solution mère.

### **2. Ensemencement**

Après solidification du milieu PDA, chaque boîte de Pétri est ensemencée avec 100 microlitres de chaque solution. Il est ensuite réparti uniformément sur la surface du substrat avec une pipette.

### **3. L'incubation :**

Dans un incubateur (étuve), on a déposé les boîtes préparées pendant cinq jours à une température ambiante (30°C) jusqu'à l'apparition des colonies.

### **3. Le dénombrement**

Après l'incubation des boîtes dans 5 jours à 30°C, les colonies possédantes, les mêmes caractéristiques culturelles sont dénombrées et liées initialement à la même espèce.

### **4. La purification**

La purification a concerné principalement les colonies dont les caractères cultureux sont différents. Il s'agit donc de prélever quelques spores ou une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et de l'ensemencer de manière aseptique dans des boîtes de Pétri contenant le Czapeck (Annexe I). Afin d'obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte.

## 5. Identification

L'identification des champignons contaminants les grains de sésame repose sur : identification macroscopique et microscopique (Tableau 3).

### 5.1. Identification macroscopique (Lecellier, 2013).

**Tableau 3** : Les critères d'identifications macroscopique des moisissures.

Critères	Identification macroscopique
<b>L'aspect des colonies</b>	Représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre .
<b>La couleur des colonies</b>	Les couleur les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir.
<b>La taille des colonies</b>	Les colonies peuvent être petites( 3-3.5 cm ) ou étendues 4-5 cm ( <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.)
<b>Le relief des colonies</b>	Il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).

### 5.2. Identification microscopique (Almi, 2016).

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement sur une lame. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments.

- **Le thalle** : tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments(hyphes) qui, ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé :
- ❖ Le thalle siphonné, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifié, de diamètre large et irrégulier (5-15  $\mu\text{m}$ ), non cloisonné est caractéristique des zygomycètes.

- ❖ Le thalle septé ou cloisonné, constitué de filaments de diamètre étroit (2-5  $\mu\text{m}$ ) et régulier divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires.
  - **Les spores** : Les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes
- ✓ Les spores endogènes (endospores) sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporange), porté par un filament spécialisé (sporangiophore). Ces spores, que l'on observe par exemple chez les Mucorales, sont libérées par le déchirement de la paroi de sporange à maturité.
- ✓ Les spores exogènes (conidies), retrouvées chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes, sont formées par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène).
- ✓ L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante de l'identification fongique.
  - **Aspect des spores** : D'après la forme et les modalités de septation, on distingue 5 groupes de spores :
    - ✓ Les amérospores : spores unicellulaires de petite taille (Penicillium, Aspergillus)
    - ✓ Les didymospores : spores bicellulaires.
    - ✓ Les phragmospores : spores pluricellulaires à cloisons transversales (Curvularia) ;
    - ✓ Les dictyospores : spores pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales.
    - ✓ Les scolécospores : spores étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversalement.
- ❖ **La technique de scotch** : La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch (technique du drapeau) une fraction mycélienne on le recolle sur une lame préalablement étalée par une goutte de bleu de méthylène diluée avec deux gouttes de l'eau physiologique ( Guezlane et *al*, 2011).

# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussion**

## I. Les résultats d'isolement de sésame

### 1. La charge totale

Toutes les colonies présentes sur le pétri sont dénombrées à l'œil nu .

La technique des comptes de surface permet de connaître le nombre d'unités prélevées pouvant former une colonie (UFC). Selon cette technique, chaque colonie formée à la surface de la gélose provient d'une (moisissures). Cette méthode ne tient compte que des microorganismes viables qui peuvent se développer dans les conditions de croissance utilisées.

- Nos résultats montrent que la charge dans échantillon (n5) et (n12) est la plus élevée (3700UFC/g) suivi de échantillon (n16)et (n18) respectivement (2800UFC/g) et (1600UFC/g)et à la fin échantillon (n7=1300UFC/g) . Tandis que la valeur moyenne des échantillons contaminés : 2620 UFC/g et le nombre total :13700UFC/g

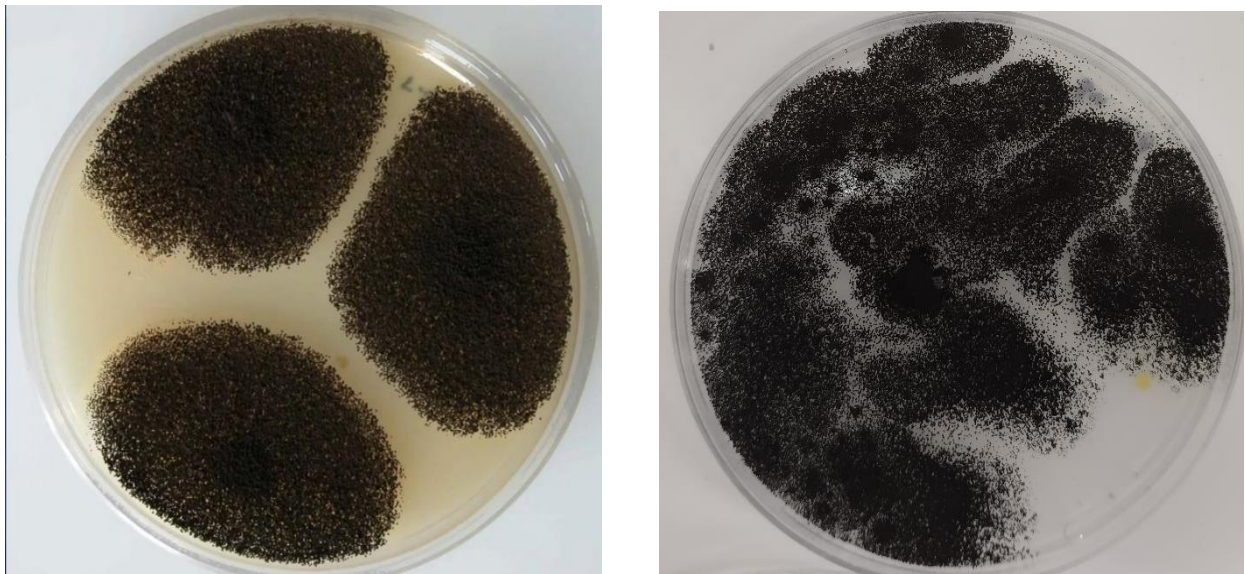
### 2. L'identification des genres et des espèces

#### 2.1. Le genre *Aspergillus*

##### 2.1.1. *Aspergillus niger*

##### 2.1.1.1. Caractères cultureux

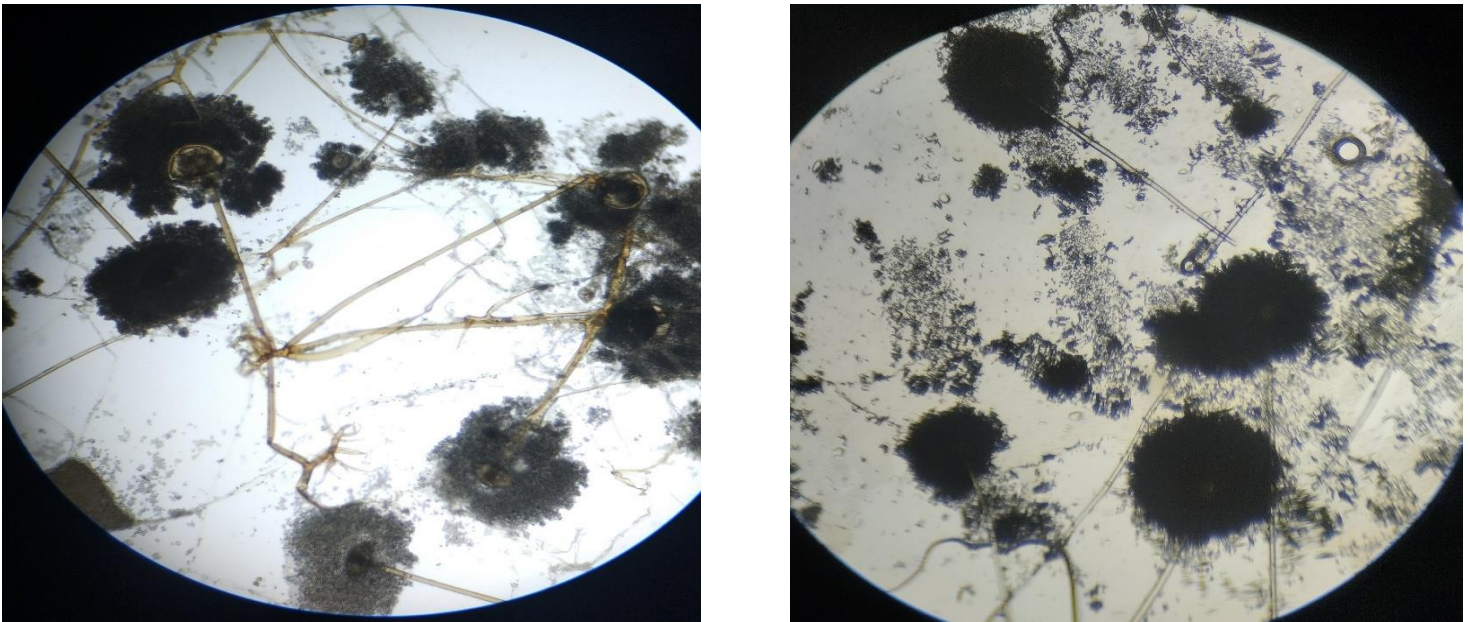
L'observation des boîtes de Pétri ensemencées qui est contaminé par la pourriture noire a révélé la présence de colonies de moisissures noires atteignant 4 à 5 mm de diamètre et cela après 7 jours d'incubation à 28°C sur milieu PDA (Figure 10). Les colonies étaient d'abord blanches et translucides (environ 3 jours d'incubation) puis deviennent noires et opaques en sporulant. Les colonies ont présenté des diamètres irréguliers avec un aspect poudreux et gonflé. (Figure IV.1).



**Figure IV. 1 :** Aspect macroscopique *d'Aspergillus niger* .

#### **2.1.1.2. Caractères microscopique**

Observation microscopique de mycélium prélevé sur des colonies de moisissures noires développées sur le milieu PDA après 7 jours d'incubation ont indiqué la présence d'un appareil végétatif, constitué de filaments (hyphes formant des conidiophores). A l'extrémité on trouve des filaments, des bourgeons sphériques ou des têtes de conidies brunes rouge très foncé à noir. De petites spores ou conidies exogènes sont exposés en chaînette (Figure IV.2).

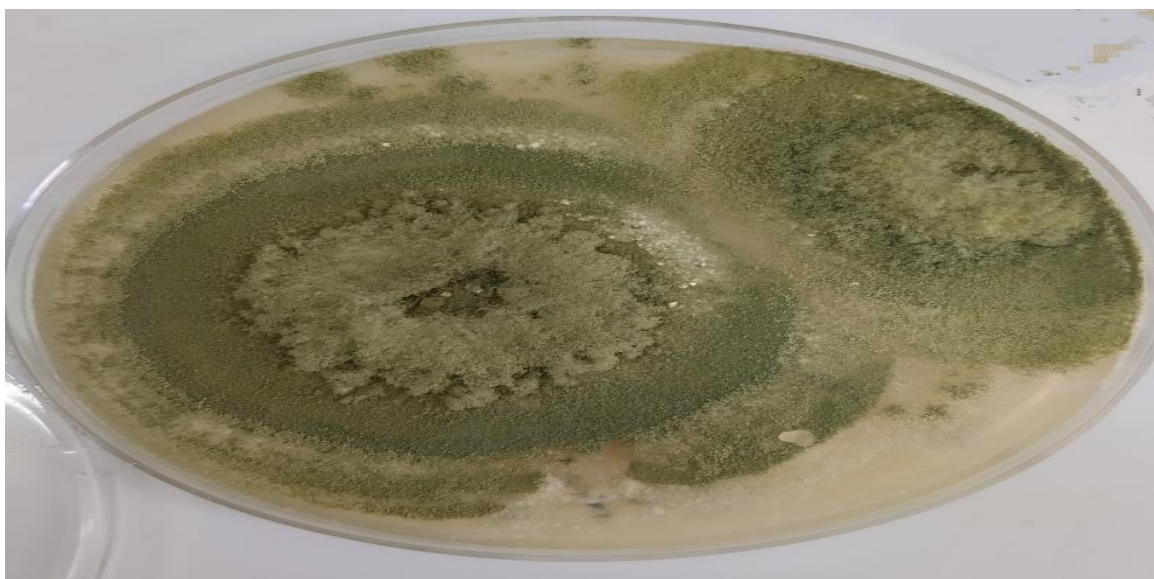


**Figure IV. 2 :** Aspect microscopique d'*Aspergillus niger* observée au microscope optique (GX40).

### 2.1.2. *Aspergillus flavus*

#### 2.1.2.1. Caractères cultureux

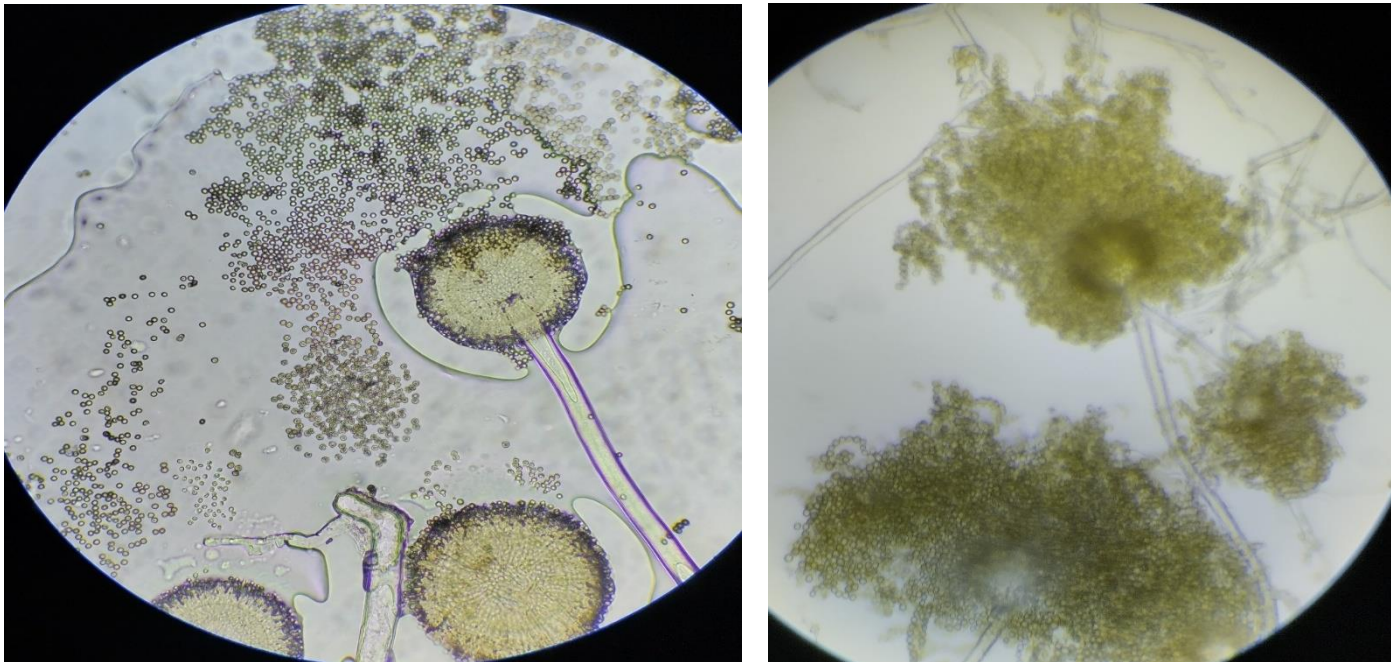
Les colonies sont vert-jaune, relativement planes avec une marge de 1 à 2 mm avec une croissance rapide et extensive ( 5 jour) . Sur le milieu de culture A. *flavus* forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis vert-jaune (Figure IV.3).



**Figure IV. 3 :** Aspet macroscopique d'*Aspergillus flavus* .

### 2.1.2.2. Morphologie microscopique

Les conidiophores sont granuleux et longs . Les têtes *d'Aspergillus* sont pour la plupart radiales et bilobées (2 rangées de stérigmates) et se fendent en vieillissant. Le mycélium aérien peut avoir une paire de têtes cylindriques, Les conidies sont allongées et lisses ou légèrement rugueuses (3,5-4,5  $\mu\text{m}$ ) Les phialides sont insérées directement sur la vésicule (unisériées) ou portées par des métules (Figure 10IV.4



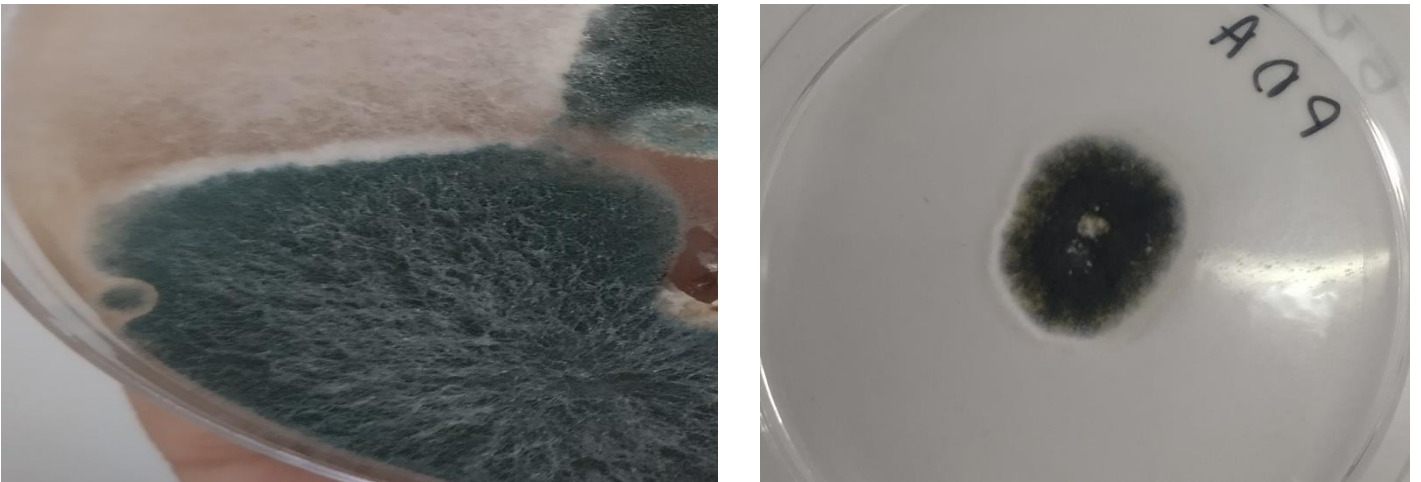
**Figure IV. 4 :** Aspect microscopique *d'Aspergillus flavus* observée au microscope optique (GX40).

### 2.1.3. *Aspergillus fumigatus*

#### 2.1.3.1. Caractères cultureux

*Aspergillus fumigatus* a des colonies poudreuses d'abord blanches, puis bleu-vert, puis vert foncé et enfin grises en vieillissant, l'inverse étant généralement incolore. Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur milieu (PDA) Figure IV.5).

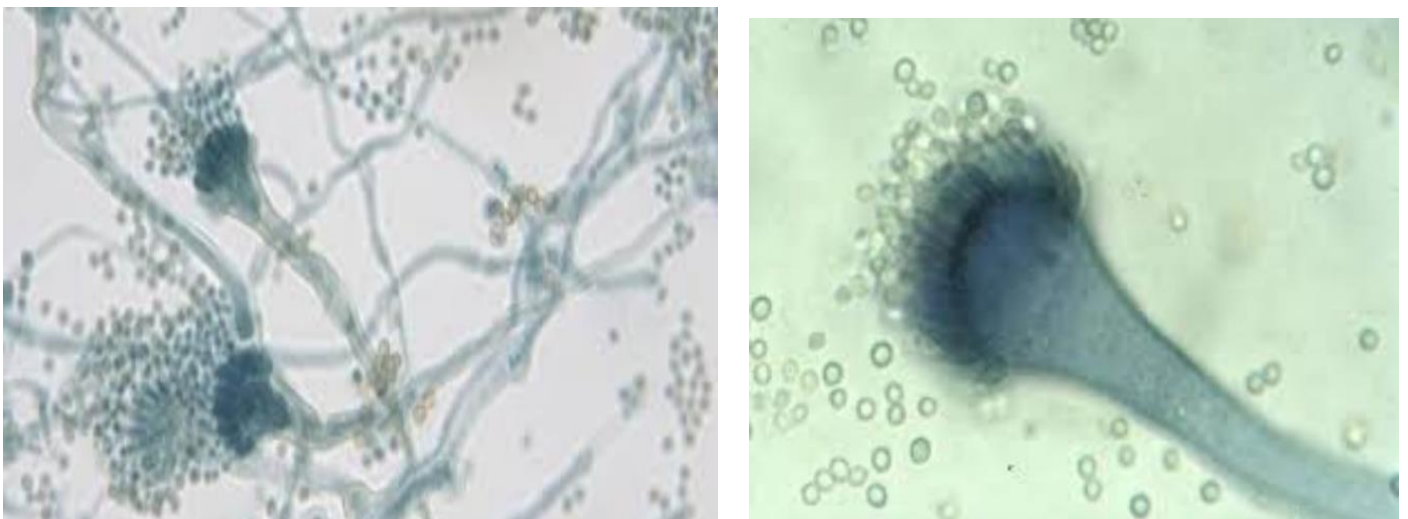




**Figure IV. 5 :** Aspect macroscopique d'*Aspergillus fumigatus*.

### 2.1.3.2. Morphologie microscopique

*Aspergillus fumigatus* est reconnaissable à ses têtes d'*aspergillus* unilatérales en colonne compacte. Une vésicule hémisphérique, située à l'extrémité d'un conidiophore court, lisse et hyalin et s'élargissant progressivement à partir de l'apex, contient une seule rangée de phyllites qui produisent un certain nombre d'arrondis lisses et petits (2-3) dans un bourgeon à partir de l'apex (Figure IV.6).



**Figure IV. 6 :** Aspect microscopique d'*Aspergillus fumigatus* observée au microscope optique (GX40).

## 2.2. Le genre *Rhizopus*

### 2.2.1. Caractères cultureux

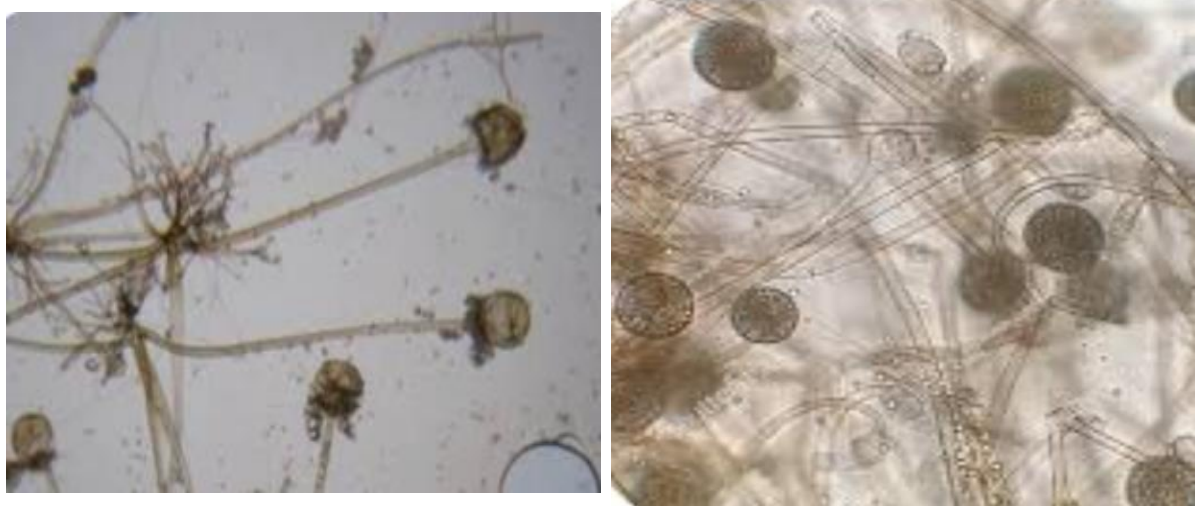
Les colonies pénètrent rapidement dans la gélose et apparaissent aérées (1 cm de haut), duveteuses, avec une texture cotonneuse et un relief blanc puis deviennent mouchetées de points noirs foncés. La Croissance très rapide (1-2 jours) et extensive sur gélose PDA (Annexe I) de manière quasi-totale la boîte de culture en 5 jours (Figure IV.7).



**Figure IV. 7 :** Aspect macroscopique de *Rhizopus*.

### 2.2.2. Morphologie microscopique

Microscopiquement, les filaments sont gros et irréguliers ; ils ont un aspect rayé et pas (ou très peu) de cloisons. Les filaments (ou stolons) se ramifient en longs sporangiophores, chacun produisant des spores brunes. Les sporangiophores sont solitaires ou regroupés en verticilles et sont généralement non ramifiés. Des rhizoïdes pigmentés clairement identifiables sont généralement observés là où les sporangiophores se détachent du stolon (Figure IV.8).



**Figure IV. 8 :** Aspect microscopique de *Rhizopus* observée au microscope optique (GX40).

### 2.3. Le genre *Penicillium*

#### 2.3.1. Caractères cultureux

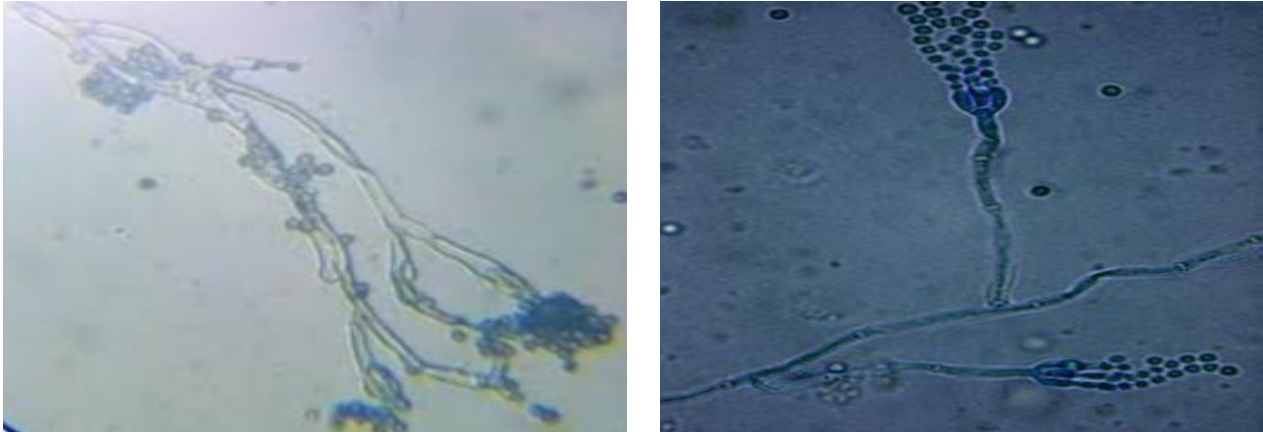
On observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. La surface présente souvent quelques gouttes d'exsudat, coloré et des pigments ainsi que le revers peut être de blanc à jaunâtre. Le revers de colonies peut être incolore, brun ou noir et parfois le pigment diffuse dans le milieu de culture (PDA) (Figure IV.9).



**Figure IV. 9 :** Aspect macroscopique de *Penicillium*.

### 2.3.2. Morphologie microscopique

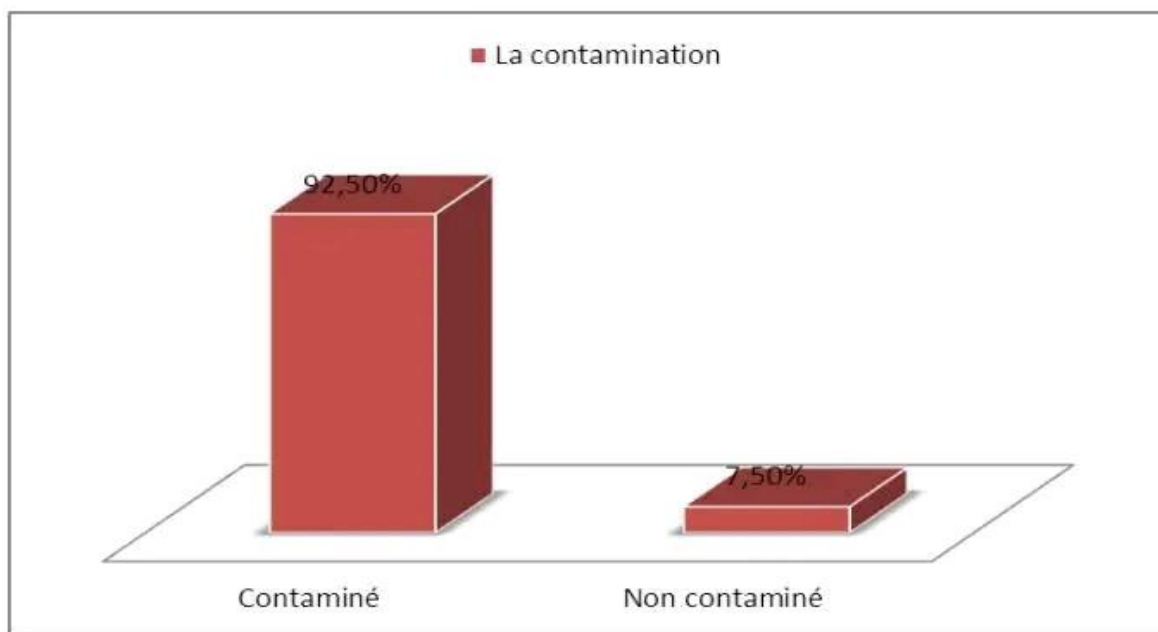
Conidiophore ramifié a la forme d'un pinceau. Les conidies sont disposées en chaînettes. Le thalle est vert ou blanc et leurs extrémités sont porteuses de plusieurs phialides qui sont disposées directement sur les verticilles ou par l'intermédiaire d'une ou de deux rangées de métules (Figure IV.10 ).



**Figure IV. 10 :** Aspect microscopique de *Penicillium* observée au microscope optique (GX40).

## 2. Taux de contamination des échantillons de sésame

18 échantillons sur les 20 échantillons analysés sont contaminé dont 14 échantillons ont été collectées a partir des magasins tandis que 4 échantillons d'épicerie d'une Pourcentage ( 92 .5 %) comme indiquée dans le tableau suivant (Figure IV.11).



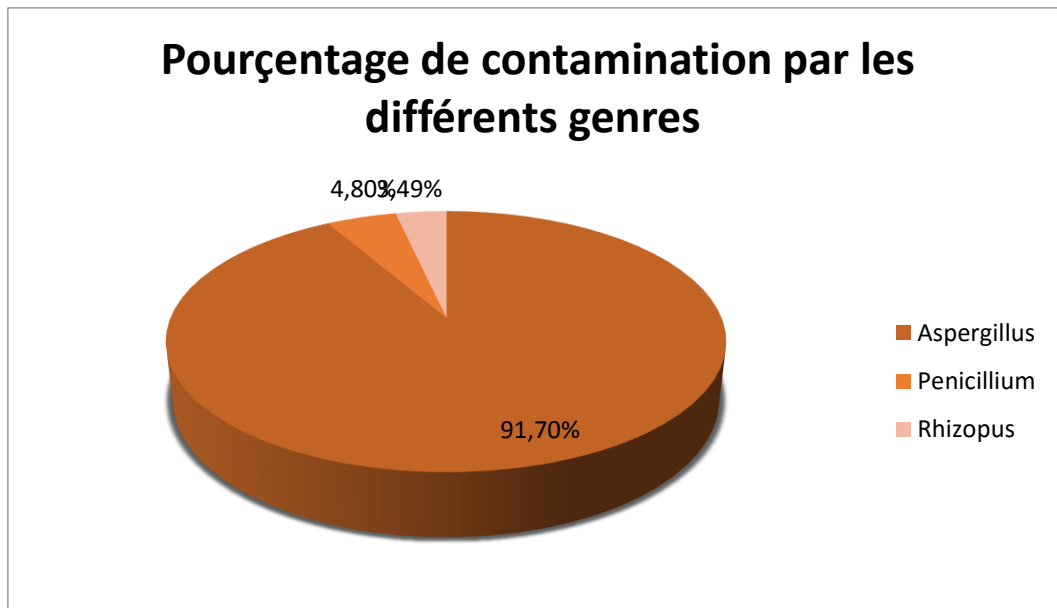
**Figure IV. 11 :** Taux de contamination des échantillons de sésame.

L'analyse fongique a révélé une contamination important des échantillons de sésame (92.5%) . Certaines études Signalé qu'un grand nombre des champignons peuvent être isolés à partir des graines, des fruits secs, des céréales. (Hedayati et *al.*, 2007)

Cette différence de Pourcentage peut s'expliquer par l'utilisation des produits chimiques (fongicides) par les épiceries au contraire des magasins qui ont réduit cette quantité de pollution qui est parfois influencée par les conditions climatiques, conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et installation d'une charge fongique importante, ce qui peut conduire à la qualité et analyse quantitative de la mycoflore (Le Bars et *al.*, 1987 ; Miller, 2002).

### **3. Pourcentage de contamination par les différents genres**

La flore fongique totale des grains de sésame est constituée essentiellement des moisissures très sporulantes, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* et *Rhizopus* sont les plus rencontrés.



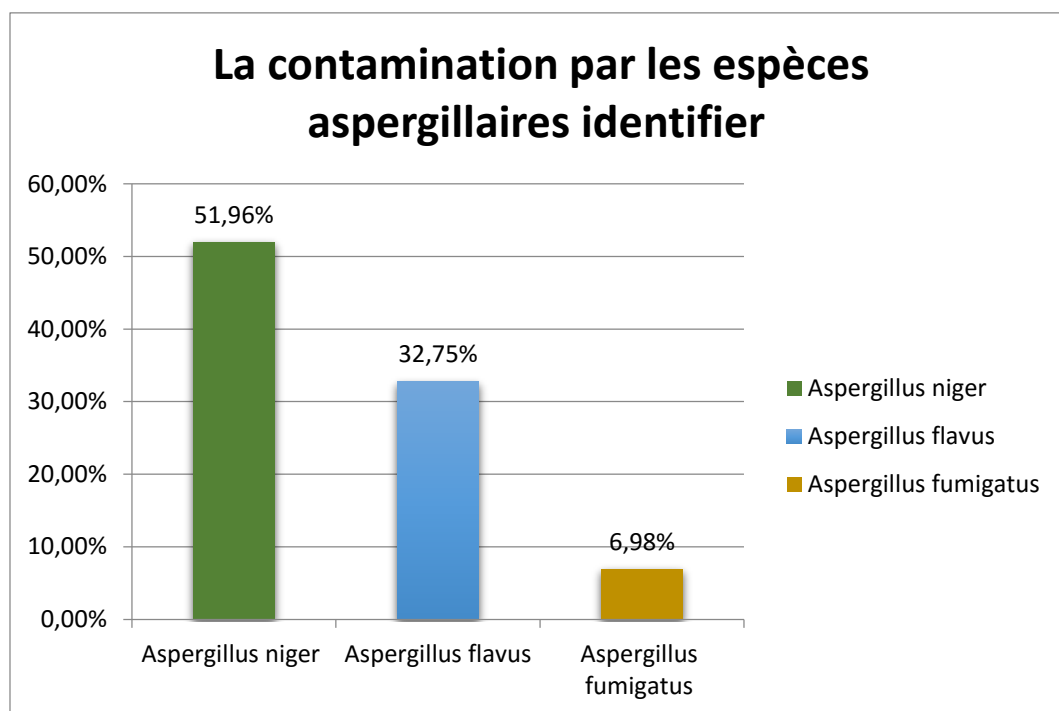
**Figure IV. 12 :** Le pourcentage de contamination par les différents genres.

La méthode d'ensemencement à révéler la présence d'une importante biodiversité fongique sur milieu PDA ce qui à permis l'identification de différent souches fongiques. Nos résultats montrent que le taux de contamination de ces échantillons (le sésame) par les *Aspergillus* est le plus élevée (91.7%) suivi de celui des *Penicillium* (4.80%) et *Rhizopus* (3.49%). Des résultats similaires de Pourcentage ont été trouvés par plusieurs auteurs (Weidenbörner, 2000 ((Figure 18).

Les différentes moisissures que nous avons identifiées sont des contaminants provenant d'aliments mal manipulés mais surtout mal conservés. Ils sont considérés comme polluants pour les céréales et leurs dérivés (Berthier et Valla, 1998).

#### **4. La contamination par les espèces aspergillaires identifier**

Les *Aspergillus* contaminants les grains de sésame sont représentés essentiellement par *Aspergillus niger* , *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus niger* avec un pourcentage de contamination différent .



**Figure IV. 13 :** La contamination par les espèces aspergillaires identifiés

Le taux de contamination de l'espèce *A. Niger* est le plus dominant (51.96%) suivi de *A.flavus* (32.75%) et *A.fumigatus* (6.98%). Le genre de champignon le plus répandu internement et extrêmement est l'*Aspergillus*, et en accord avec une étude faite précédemment à l'université de Blida en 2005/2006 (Bendjeklil et Ghribi) (Figure 19).

Les genres et les espèces fongiques identifié : *Rhizopus*, *Penicellium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* . Ceux-ci indiquent que ces niveaux de contamination sont très préoccupants dans la plupart de ces souches sont des souches toxigènes qui sécrètent des mycotoxines, ils sont dangereux, pervertis, génotoxiques, cancérigènes, néphrotoxiques et génotoxiques avec des effets chroniques et plus graves.

# **Conclusion et perspectives**



### Conclusion et perspectives

Au cours de notre étude, menée sur l'étude de la flore fongique isolée à partir des grains de sésame, l'objectif principal de la présente étude est d'isoler et identifier des moisissures à partir de différents échantillons de sésame.

Cette étude modeste complète une grande partie du travail effectué en Algérie sur les moisissures qui contaminent une variété d'aliments pour l'alimentation humaine et animale notamment les graines : Blé dur, blé tendre, maïs, sésame... Etc.

Les analyses mycologiques effectuées sur les 20 échantillons de sésame ont permis d'avoir 18 échantillons contaminés par différentes espèces.

La purification et l'identification des souches isolées ont donné la possibilité d'identifier ces genres de moisissures: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* ; avec une dominance du genre *Aspergillus* dans les 18 échantillons. Le genre *Aspergillus* représenté par trois espèces (*A.flavus*, *A.niger* et *A.fumigatus*) été retrouvés dans les échantillons avec une fréquence et une abondance élevée.

Pour une meilleure identification des champignons du sésame il est nécessaire

D'établir la diversité pour d'autres saisons pour faire un suivi temporel de la diversité des champignons dans cette plante, mais aussi une évaluation de la diversité taxonomique par les techniques moléculaires, et enfin isoler les souches fongiques et les tester dans des conditions contrôlées dans le but d'identifier différents genres et espèce.

En ce qui concerne le contrôle biologique des champignons :

- Vendre des aliments comme les amandes dans des contenants hermétiques et opaques. Cette technologie réduit le contact direct entre les épices et l'humidité de l'air pour éviter la contamination par les mycotoxines malgré la présence des spores de moisissures, et évite également la destruction des huiles essentielles par la lumière. Ces derniers jouent un rôle fongicide très important.
- Faire des traitements comme le vannage, le triage le lavage sur les graines avant le consommer.
- Varie son alimentation pour éviter une contamination répétée et fréquente.

## Conclusion et perspectives

---

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 toxigènes des souches identifiées. En effet, le défi le plus important c'est d'être capable d'exploiter ces résultats pour améliorer les conditions de stockage de ces aliments .

En perspective, et afin d'élucider certains points qui sont restés partiels, il serait intéressant :

- De mener une étude plus approfondie sur le sésame, afin d'isoler, de purifier et d'identifier de différents genres et espèces.
- De caractériser le potentiel des souches fongiques productrices de mycotoxines et d'évaluer l'activité antimycotoxinogène

En somme, aucune méthode ne devrait être ignorée ou négligée contre les moisissures, dans l'esprit de développer au niveau des graines stockées un concept de lutte intégrée.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographique

- (Elsevier, Paris ),Maladies infectieuses,8-600.
- (Mycotoxicoles). Revue Francophone des Laboratoires. p : 61-66.
- aflatoxins, fumonisin B1 and zearalenone in foods and feeds in Bostwana, J. Food Prot., 61 (12), 1670-1673
- 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. Maisons-Alfort. 308P.
  - Alexopoulos, J. et Mims, C.W.(1979). Subdivision Zygomycotina. En. Introductory Mycology. John Wiley and sons New York.228p.
  - Almi, H. 2016. Etude des myco-pathogènes de *Lens culinaris* et évaluation de l'effet de deux souches de *Trichoderma harzianum* Paris.
  - Badillet G., De brieve C., Gheho E. 1987 . Champignons contaminants des cultures,
  - Barkai-Golan R. (2008). Alternariamycotoxins. In: Mycotoxins in fruits and vegetables. Eds Barkai-Golan R and Nachman P. Academic Press, San Diego, CA, USA. 185-203.
  - Bendjoudi, R., Dehimi, H. (2020). Etude des méthodes d'isolement et d'identification de quelques champignons de stockage des céréales. MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE. Université MOHAMED BOUDIAF, M'SILA.
  - Berthier J., Valla G. (1998). Moisissures - Mycotoxines et Aliments : du Risque à la Prévention. Université Claude Bernard, Lyon. p:05-20.  
Biotechnology, 19, 305-309
  - Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990), Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris
  - BOUSSEBOUA H. (2003). Cour de microbiologie générale. Protistes eucaryotes. Edition Université Mentouri Constantine. P : 9-13.
  - Cast ,mycotoxins:risk in plant,animal and humain systems .Ames IOWA,2003:139  
champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique. Ed. Varia, Paris.
  - Champion, R. (1997). Identifier les Champignons Transmis par les Semences. INRA. Paris.  
Charvet Jean-Paul Le blé dans le monde, Evolution récente de la consommation, de la commercialisation et de la production. Annal de géographie. T.86, n° (478). pp 686-723, 1997. <http://www.presse.fr>.

## Références bibliographiques

---

- Chapeland-Leclerc, F., Papon, N., Noël T., et Villard, J. (2005). - Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). Revue. Française. Laboratoires, 373, 61–6
- Chollet, L. (2014). Identification des dermatophytes en cultures sur la base de leurs critères macroscopiques et microscopiques. Mémoire de Maitrise en médecine. Université de Lausanne.
- Cruz Cabral, Lucía da, Virginia Fernández Pinto, et Andrea Patriarca. 2013. « Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods ». International Journal of Food Microbiology 166 (1): 1- 14.
- Dossa, J., Togbe, E., Pernaci, M., Agbosou, E et Ahohuendo, B. (2019). Effet des facteurs de l'environnement sur les Fusarium pathogènes des plantes cultivées. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 13 (1), 493-502
- Elise M. (2015) Aspergillose aviaire : Développement d'un modèle d'aspergillose chez la dinde (*Meleagris gallopavo*) et évaluation de l'efficacité de l'énilconazole .Thèse de doctorat : Agro Paris Tech, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement ,244p.
- Frisvad J.C., Skouboe P, Samson R.A. (2004). - A new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin: *Aspergillus rambellii* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 28, 442–453.  
Génétique et Nutrition. Université de Toulouse INP, 142 p
- Giraud J.(1998).Microbiologie alimentaire .p 8-101.p 330 Edition Donod, Paris Meghazi N. 2015. Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Thèse de doctorat d'état.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026>.
- IARC -INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER-. 1993 Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Human: Some Naturally Occurring Substances. Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC, Lyon, pp. 397-444
- Images libres de droits, disponibles
- Keller S.E., Sullivan T.M., Chirtel S., (1997), Factors affecting the growth of *Fusarium*
- Keller, S.E., Sullivan, T.M., et Chirtel, S. (1997). Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. Indust. Microbiology, Biotechnology, 19, 305-309.

## Références bibliographiques

---

- Koraichi, F. (2012). Etude in vivo/In vitro de l'effet de la Zéaralénone sur l'expression de transporteurs ABC majeurs lors d'une exposition gestationnelle ou néonatale. Thèse doctorat: Science de la santé. Lyon: Université Claude Bernard Lyon 1, 433 p.
- Kupfer, D.J., Frank, E. and Phillips, M.L. (2012) Major Depressive Disorder: New Clinical, Neurobiological and Treatment Perspectives. *Lancet*, 379, 1045-1055. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60602-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60602-8)
- Le Bars J., Le Bars P.(1987). Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section MidiPyrénées" à Toulouse, le 18 septembre 1987.
- Lecellier A. 2013. Détection, caractérisation et identification des moisissures par
- Leclerc F.C., Papon N., Noel T., Villard J. (2005). Moisissures et risques alimentaires
- Makhoulf, J. (2019). Caractérisation de la biodiversité des souches d'*Aspergillus* de la section Flavi isolées d'aliments commercialisés au Liban : approche moléculaire, métabolique et morphologique. Thèse de doctorat : Pathologie, Toxicologie,
- Milla, C. E. et Moss, R. B. (2015). Recent advances in cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pediatr.*27, 317–324.
- Morin. , O(1994).*Aspergillus* et aspergillose : biologie Ed T .Med Chir.
- Moulinier, C., 2003, Parasitologie et mycologie médicale: éléments de morphologie et de biologie ,Paris :Lavoisier ,796p
- Ndong, H. E., Degreef, J., De Kesel, A. (2011). Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique centrale. Taxonomie et identification. *ABC Taxa*, 10.
- Nguyen, M.T., 2007. - Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam - étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Spécialité: Génie des procédés et de l'environnement. p 37, 38.
- Oswald, I et Forget, F. (2018). Les intoxications alimentaires [en ligne]. Les mycotoxines (consultée le 5/04/2022). Disponible sur (<https://www.afis.org/Lesmycotoxines>)
- Ouazar S.(2012). Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) Mémoire de Master. Département des Sciences Agronomiques. Université Ferhat Abbas Sétif. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. P 30-58
- PACA,(2012).Rapport final,aflatoxine:une synthèse de la recherche en santé ,agriculture et commerce et de la santé.p:11-82.

## Références bibliographiques

---

- Pane, B., Sourabies, o., Philippe, A., Nikiem, A. , Alfred, S. et Traor, E. (2011). Caractérisation de Souches d'Aspergillus Sp isolées des graines d'arachides cultivées au Burkina Faso, Afrique de l'ouest. *International journal of biological and chemical Science* 5(3) ,1232-1249.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (2001). -Définition et origines des mycotoxines in : Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, 3-14
  - proliferatum and the production of fumonisin B1: oxygen and pH, *Indust. Microbiol*,
  - Sahbi, I., Maref, R. (2018). Contribution à l'isolement et l'identification des champignons filamenteux à partir de deux sols salin et agricole. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER. Université LARBI BEN M'HIDI, Oum el bouaghi.
  - samples by using dual-dummy molecularly imprinted solid-phase extraction coupled
  - Samson R.A., Hong S.B. et Frisvad J.C. (2006).- Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, 44, 133–148.
  - Scheidegger K A et Payne G.A.(2003). Unmoking the secrets behindd secondary
  - Siame B.A., Mpuchane S.F., Gashe B.A., Allotey J., Teffera G., (1998), Occurrence of spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman. Thèse de doctorat d'état, Reims.
  - Stachel, H. D. (1963). Übery-Alkyliden-tetronsäuren, I. *Archiv Der Pharmazie*, 296(7), 479-487
  - sur:<http://www.colleionline.com/colley/alimentation/index.php>).
  - Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse présentée pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest .Spécialité : pathologie, mycologie, génétique et nutrition. 190p.
  - Weinderbörner G. (2000). Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiology*, 17: 103-107.
  - with HPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography*, 11(25), 121-714.
  - Zhao, M., Shao, H., He, Y et Li, H. (2019). The determination of patulin from food

# **Annexes**



### Annexe

#### **Composition des milieux de culture pour 1 litres :**

- **Milieu PDA (Potato ,Dextrose, Agar) :**

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

- **Préparation du milieu de culture :** (Labriod et Chaibras,2015)

Le milieu PDA est un milieu usuel pour la culture de la plus part des champignons. Il est préparé à partir de :

- 200g de pomme de terre .
- 20g de glucose .
- 20g d'agar-agar .
- 1000ml d'eau distillée
- PH =6.

Les pommes de terre sont pelées, lavées et coupées en tranche minces. Elles sont cuites dans 200ml d'eau pendant 15 à 20 mn. Le mélange obtenu est filtré. Le filtrat est versé dans un erlen meyer d'un litre placé sur un agitateur chauffant. On ajoute au filtrat le glucose et l'agar agar, puis on complète le volume à 1000 ml. L'erlen meyer est retiré de la plaque lorsque le milieu est homogène et clair.

Le milieu prêt est versé dans un flacon d'un litre pour la stérilisation à l'étuve à une température 120°C. Après refroidissement du milieu, ce dernier est coulé dans des boites de Pétri entre deux becs bunsen.

- **Milieu CYA :**

NA NO <sub>3</sub> .....	30g
KCL.....	5g
Mg SO <sub>4</sub> ,7H <sub>2</sub> O.....	0.1g
Zn <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ,7 H <sub>2</sub> O.....	0.1g
Cu SO <sub>4</sub> ,5H <sub>2</sub> O.....	0.05g
Eau distillée.....	1000ml

**Nb :Tout les milieux sont stérilisés par autoclavage pendant 20 minutes à 120 °C.**

### **Appareillage, produits chimiques et les verreries utilisés**

- **Appareillages**

Autoclave semi-automatique

Agitateur orbitale type Maker

Balance OHAUS B 610 S, (Mettler, type B6C 200, Mettere E Mettler)

Etuve

- **Les solvants et produits utilisés :**

Pomme de terre.

Glucose

NaNO<sub>3</sub>

KCL

MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O

Zn<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> ,7 H<sub>2</sub>O

Cu SO<sub>4</sub>,5H<sub>2</sub>O

Extrait de levure

Agar Agar

Peptone

Tween 80

- **Les verreries**

## **Annexe**

---

L'ensemble des épiquements est composé d'une pince, des creusets, des bicher, des fioles, des erlenmeyers, des spatules, des pipettes gradués, des micropipettes, des éprouvettes gradués des tubes à vis.

## Résumé

Le sésame est une plante oléagineuse révéle une teneur élevée en métabolites primaires, notamment sa richesse en protéine, graisse et glucide. Cet aspect physicochimique entraîne un risque de contamination par les moisissures ce qui cause des dangers toxiques cancérigène pour l'homme et l'animal.

Cet effet, objet de cette étude est : isolement et la purification de la flore fongique de sésame afin de faire une identification microscopique et macroscopique.

Isolement se fait dans le milieu PDA(Potato Dextrose Agar).Après l'incubation on a obtenus ces résultats :

Les genres et les espèces identifier :*Aspergillus niger* (51.96%),*Aspergillus flavus* (32.75%),*Aspergillus fumigatus* (6.98%), *Penicillium* (4.80%),*Rhizopus* (3.49%).

Les souches toxigènes sont *A. flavus*, *Aspergillus niger* et *A.fumigatus* sécrétrice d'aflatoxines et ochratoxines.

**Mots clés** : Sésame,moisissures, isolement, contamination

## ملخص

يمكن أن تشكل أغذيتنا مخاطر صحية اعتمادًا على ظروف النمو السيئة والزراعة والتصنيع والتسويق والحفاظ على الطبيعة، يحتوي هذا الإطار على مشاكل إحراج لتطوير البقالة.

السمسم نبات زيتي يكشف عن نسبة عالية من المستقلبات الأولية، لا سيما غناه بالبروتين والدهون والكاربوهيدرات، وهذا الجانب الفيزيائي الكيميائي يؤدي إلى خطر التلوث بالعفن الذي يسبب مخاطر مسرطنة سامة للإنسان والحيوان.

هذا التأثير موضوع هذه الدراسة: عزل وتنقية النباتات الفطرية للسمسم لعمل تعريف مجهرى وعياني.

يتم العزل في وسط PDA (Potato Dextrose Agar)

السلالات السامة هي *A.flavus* و *Aspergillus niger* و *A.fumigatus* التي تفرز الأفلاتوكسين والأوكرااتوكسين.

الكلمات المفتاحية: السمسم ، الفطريات، عزل، تلوث.

## Abstract

Our foods can pose health risks depending on poor growing conditions, farming, manufacturing, marketing and nature conservation.

This framework contains embarrassment problems for developing groceries.

Sesame is an oleaginous plant revealing a high content of primary metabolites, in particular its richness in protein, fat and carbohydrate. This physicochemical aspect leads to a risk of contamination by molds which causes toxic carcinogenic dangers for man and the animal.

This effect, object of this study is: isolation and purification of the fungal flora of sesame in order to make a microscopic and macroscopic identification.

Isolation is done in PDA (Potato Dextrose Agar) medium. After incubation these results were obtained:

Genera and species identify: *Aspergillus niger* (51.96%), *Aspergillus flavus* (32.75%), *Aspergillus fumigatus* (6.98%), *Penicillium* (4.80%), *Rhizopus* (3.49%).

The toxigenic strains are *A.flavus*, *A.niger* and *A.fumigatus* secreting aflatoxins and ochratoxins.

**Keywords**: Sesame, fungal, isolation, contamination.