



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Thème

**Evaluation de l'activité de l'huile essentielle
d'Azadirachta indica vis-à-vis *d'Aspergillus flavus*
des noix du *Juglans regia***

Présenté par : MAHROUCHE Khaoula
NEKHILI Siham

Devant le jury :

Président : M^{me} Benradia Hamida

Encadrant : M^{me} Bensghir Hadjira

Examineur : M^{me} Moumni Ouissem

MCA Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA

MAA Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA

MCB Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Avant tous, nous remercions "Allah" le clément et le miséricordieux de nous avoir aidé durant toute notre étude et sur lequel nous comptons tous pour atteindre notre but.

*Nous présentons aussi nos sincères remerciements et notre reconnaissance à notre encadreur M^{me} **Bensghir Hadjira** pour nous avoir guider et conseiller.*

*Nous remercions M^{me} **Benradia Hamida** pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent également à M^{me} **Moumeni Ouissem** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements à Mr. **Sid Nassim** pour son aide précieuse.*

Enfin, à tous ceux qui nous ont rendu service de près ou de loin.

Dédicaces

C'est avec une immense joie et un grand honneur, joignant toute la chaleur de mon cœur que je dédie ce modeste travail :

- ☺ *A mes chers parents pour leur aide, compréhension*
- ☺ *et encouragement*
- ☺ *Mes chères frères Abd EL Basset, Abd El Moumen et*
Ma très chère sœur Houda pour leur aide précieuse.
- ☺ *Mon oncle Abd Elghani pour son aide.*
- ☺ *Mes amis Hanane et fouzia*
- ☺ *Tous mes enseignants*
- ☺ *A la promotion de toxicologie 2019/2020*

NEKHILI SIHAM

Dédicaces

J'aimerais en premier lieu remercier "Allah", l'unique, le tout puissant et le sachant, qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

Ce document est dédié à beaucoup de gens, dans ma tentative de tous me les rappeler, je peux en citer quelques-uns. Que les autres m'en excusent :

- A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes : Mon père.

- A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation: Ma mère.

*-A mes frères *Amir et Mahdi**

*-A ma sœur *Rayan**

*-A ma deuxième famille, Ma petite princesse*Ayat El Rahman**

-A mon Mari.

Qui ne cessé jamais de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma Profonde estime.

MAHROUCHE KHAOULA

TABLES DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....	1
Chapitre 1 : Généralités sur <i>Juglans regia</i>.....	3
1.1 Historique.....	3
1.2 Classification botanique.....	3
1.3 Description morphologique.....	3
1.4 Exigences culturelles.....	6
1.5 Les noix	7
1.5.1 Définition.....	7
1.5.2 Caractéristiques nutritionnelles.....	7
1.5.3 Facteurs favorisant leur bon stockage.....	8
1.5.4 Les diverses utilisations des noix.....	9
1.5.5 Les moisissures des noix.....	10
1.5.5.1 Genres fongiques affectant les noix.....	10
1.5.5.2 Les modes de contamination.....	11
1.5.5.3 Les altérations causées par ces moisissures.....	11
1.5.5.4 Impact des moisissures et leurs mycotoxines sur la santé de l'être humain.....	12
Chapitre 2 : <i>Aspergillus flavus</i>.....	13
2.1 Généralités.....	13
2.2 Les facteurs déterminants	13
2.3 Taxonomie.....	13
2.4 Les critères de classification.....	14
2.4.1.Macroscopique.....	14
2.4.1.1 Le milieu Czapek.....	14
2.4.1.2 Le milieu MEA.....	14
2.4.1.3 Le milieu PDA.....	14
2.4.1.4 Le milieu AFPA.....	15
2.4.2 Microscopique.....	15
2.5 Habitat.....	16

2.6 Mycotoxine.....	17
2.6.1 Les mycotoxines de champ.....	17
2.6.2 Les mycotoxines de stockage.....	17
2.6.3 Principales mycotoxines.....	18
2.6.3.1 les aflatoxines.....	18
2.6.3.1.1 Structure des AF.....	18
2.6.3.1.2 Propriétés physico-chimiques des AF.....	19
2.6.3.1.3 Les effets néfastes d'A.F.....	19
2.6.3.1.4 Toxicocénitique.....	19
Chapitre 3 : l'<i>Azadirachta indica</i>	21
3.1 Généralités.....	21
3.2 Classification.....	21
3.3 Description botanique.....	22
3.3.1 Description d'arbre d' <i>Azadirachta indica</i>	22
3.3.1.1 Les feuilles.....	22
3.3.1.2 Les fleurs.....	22
3.3.1.3 Les fruits.....	23
3.4 Les exigences culturales.....	23
3.5 Les différents effets d' <i>Azadirachta indica</i>	24
3.5.1 effet antibactérien.....	24
3.5.2 effet antiviral.....	24
3.6 L'huile de margousier.....	24
3.6.1 Composition chimique.....	24
3.6.1.1 Activités.....	25
3.7 La phytochimie.....	25
3.7.1 Structure et caractérisation de l'azadirachtine.....	25
3.7.2 Mode d'action sur les insectes.....	26
3.7.3 Efficacité et toxicité.....	26
3.8 Hydrodistillation.....	27
CONCLUSION	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
RESUMES (Français, Arabe et Anglais)	

LISTE DES ABREVIATIONS

Aw : Activity water (Activité de l'eau)

PH : Potentiel d'hydrogène

AF : Aflatoxine

AFPA : *Aspergillus Flavus* / *Aspergillus Parasiticus*

PDA: Potatoes dextrose agar

MEA: Malt extract agar

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : La table de composition nutritionnelle Ciqual	08
Tableau II : Paramètres de croissance de l'espèce <i>Aspergillus flavus</i>	13
Tableau III : Les principales aflatoxines	18

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Arbre de <i>Juglans regia</i>	4
Figure 2 : Feuilles de <i>Juglans regia</i>	4
Figure 3 : Chatons males de <i>Juglans regia</i>	5
Figure 4 : Fleurs femelles de <i>Juglans regia</i>	5
Figure 5 : Photographie de la noix de <i>Juglans regia</i>	6
Figure 6 : Photographie des différentes parties de la noix	9
Figure 7 : Schéma de l'aspect microscopique de la tête aspergillaire d' <i>Aspergillus flavus</i>	16
Figure 8 : Microphotographie de la tête aspergillaire d' <i>Aspergillus flavus</i>	16
Figure 9 : Feuilles de neem.....	22
Figure 10 : Fleurs de neem	23
Figure 11 : Fruit de neem	23
Figure 12 : Formule d'azadiractine et ses dérivés	26
Figure 13 : Schéma de l'hydrodistillateur type Clevenger	28

Introduction

Juglans regia ou noyer commun est un arbre originaire du sud-est de l'Europe et d'Asie. Il appartient à la famille juglandaceae, le fruit de ce dernier est une drupe charnue à noyau riche en huile, appelé noix (**Bonhomme, 2019**).

Les noix, fruits oléagineux à coque, sont réputées d'être très énergétiques du fait de leur teneur élevée en matières grasses, riches en protéines, en antioxydants comme la vitamine E, en vitamines du groupe B ; et pauvres en glucides. Elles auraient un effet protecteur du système cardiovasculaire en raison de leur richesse en acides gras polyinsaturés. Cette composition chimique fait des noix un fruit que les nutritionnistes recommandent aux diabétiques type 2 (**Bonhomme, 2019**).

Pendant son stockage, cette denrée alimentaire est généralement attaquée par plusieurs moisissures et insectes. La microflore et les moisissures, particulièrement constituent au cours du stockage, la cause principale de diverses altérations et par la suite de pertes inestimables. Ce sont surtout les *Aspergillus* et les *Penicillium*, ravageurs normaux et habituels des noix qui sont susceptibles de se développer abondamment, au cours du stockage défectueux. En effet, la contamination qui débute au champ, vasse poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et du stockage (**Meghazi, 2015**).

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Elles sont omniprésentes dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié. Elles peuvent se développer sur différents substrats et entraîner des modifications physiques (aspect, goût, odeur) et chimiques (modification des qualités nutritives). Ainsi, on estime que le développement incontrôlé de micromycètes est à l'origine de la perte de 5 à 10% des récoltes mondiales et de la diminution de la qualité sanitaire (allergie, agents toxiques responsable de graves intoxications humaines et animales (**Gacem et al., 2012**).

Par ailleurs, dans des conditions propices de température, d'humidité, de pH et de composition du substrat, les moisissures peuvent synthétiser des métabolites secondaires toxiques qualifiées, de mycotoxines (**Tabuc., 2007**).

L'ingestion des noix moisies est à l'origine de la toxicité par un type de mycotoxines, les aflatoxines, qui sont produites par *Aspergillus flavus*. Il existe différentes aflatoxines mais seule l'aflatoxine B1, qui a pour organe cible majeur le foie, a un potentiel carcinogène. En ce sens, l'effet toxique principal de l'AFB1 reste lié à son hépatotoxicité et à l'interaction entre le dérivé époxyde et l'ADN des hépatocytes. En effet, cette interaction est à l'origine de

l'apparition de cancers du foie lors de l'exposition prolongée (toxicité chronique) à de faibles concentrations en AFB1 (**Turner, 1971**).

Depuis les années passées, l'être humain a utilisé les plantes aromatiques qui se trouvent dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui possèdent un très large éventail d'activités biologiques (**Tabuc, 2007**).

Azadirachta indica ou margousier est un arbre originaire de l'Inde dont les propriétés sont connues depuis des siècles. Appartenant à la famille des méliacées, cette plante a été connue dans la médecine traditionnelle indienne pour ses effets d'antiseptique, d'anti-inflammatoire, d'antibactérien, d'antipaludéen, et d'antiviral. Ainsi, elle a été utilisée dans l'agriculture comme insecticide et antifongique (**National Research Council, 1992**).

Après l'isolation et l'identification de l'azadirachtine en 1968, plusieurs chercheurs ont étudié l'effet de cette molécule qui est isolée à partir des graines de cette plante (**Schemutterer, 1995**).

Afin de réduire l'emploi des pesticides, substances chimiques ayant des effets néfastes sur la santé humaine, les chercheurs optent actuellement, pour l'étude des effets des biomolécules actives extraites de certaines plantes (**Gruber, 1991**).

Par cette étude bibliographique nous visons à approfondir notre connaissance sur *Aspergillus flavus*, champignon producteur d'aflatoxines, et de connaître l'effet de l'huile essentielle extraite des graines du margousier sur la croissance, de ce champignon qui s'attaque aux noix et par conséquent, son éventuel rôle dans la bio conservation.

Notre travail s'articule autour de trois chapitres : Généralités sur *Juglans regia*, *Aspergillus flavus* et *Azadirachta indica*, et se termine par une conclusion générale et perspectives.

Chapitre 1 : Généralités sur *Juglans regia*

1.1 Historique

Le *Juglans regia* (la noix) est originaire du sud-est de l'Europe et d'Asie occidentale et centrale. Il fut introduit, en des temps très anciens, en Europe centrale et occidentale par les romains et les grecs et en Amérique par les explorateurs. Il a connu une telle expansion qu'il est aujourd'hui difficile de déterminer les endroits où il pousse à l'état sauvage. Cependant, on sait qu'il est spontané du sud-est de l'Europe et notamment dans la région Méditerranée, jusqu'à la Birmanie septentrionale, en passant par l'Asie, l'Himalaya et le sud-est de Chine. Des vestiges de noix dans les habitations des hommes de Cro-Magnon... Au moyen âge ont été trouvés (**Bonhomme, 2019**).

1.2 Classification botanique

Selon **Spichiger et al. (2004)** la classification du *Juglans regia* est la suivante :

Règne : Végétal.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones.

Ordre : Fagales.

Famille : Juglandaceae.

Genre : *Juglans*.

Espèce : *Juglans regia*.

1.3 Description morphologique du noyer

Juglans regia, Noyer commun, Noyer royal est également nommé. Cet arbre feuillu à l'écorce d'abord brune prend une teinte grisâtre avec l'âge (Figure 01). Il peut atteindre jusqu'à 30 m de hauteur. Il développe des feuilles caduques et alternes. Composées de 7 à 9 folioles à bordure lisse qui peuvent chacune mesurer 15 cm de longueur (Figure 02). Ses feuilles amères et astringentes sont portées par des branches très ramifiées à la cime touffue. Plantes monoïques à sexes séparés ; leur pollinisation se fait par le vent (**Chadda, 2007**).

En avril ; les noyer se couvrent de petites fleurs verdâtres. Les males (Figure 03) groupées en épis ou chatons allongés peuvent être dotées de 36 étamines. Les femelles (Figure 04) réunies par groupe de 2 ou 4 ont un stigmate bilobé (**Chadda, 2007**).

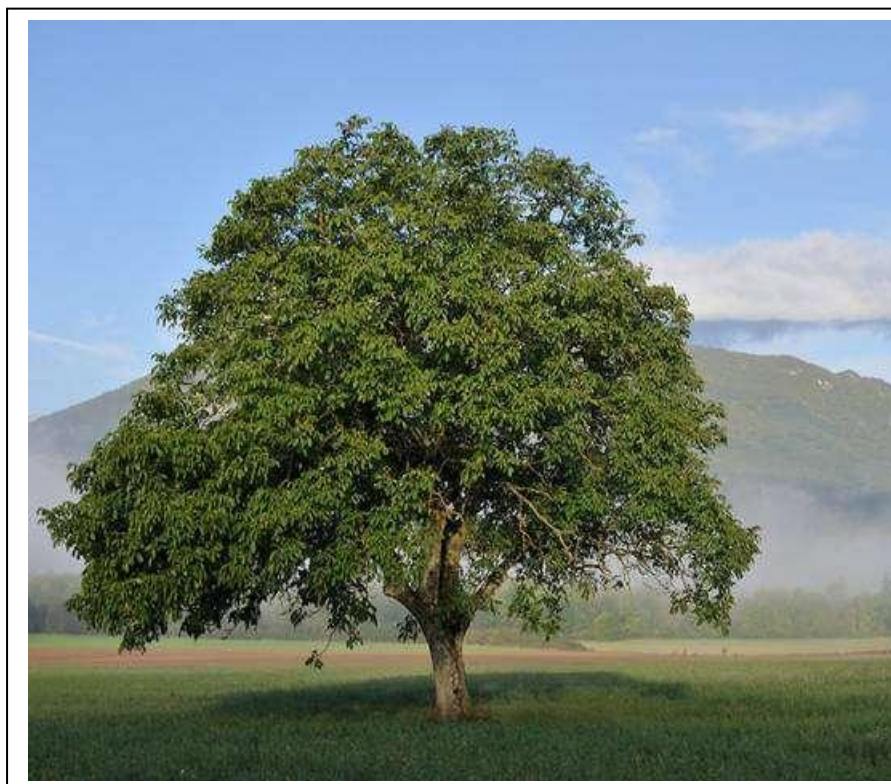


Figure 01 : Arbre de *Juglans regia* (Bonhomme, 2019).



Figure 02 : feuilles de *Juglans regia* (Bonhomme, 2019)



Figure 03 : Chatons males de *Juglans regia* (Bonhomme, 2019).



Figure 04 : Fleurs femelles de *Juglans regia* (Bonhomme, 2019).

Le fruit ou noix (Figure 05) des juglandaceae est une drupe, soit un fruit charnu à noyau. L'enveloppe externe, constituée de l'épicarpe et du mésocarpe, est charnue et coriace, le plus souvent aromatique (juglone) et riches en tanins. L'enveloppe interne, ou endocarpe sera ligneux et plus ou moins épais. Il s'ouvrira, lors de la germination, en 2 valves le plus souvent en suivant la ligne médio-dorsale (**Bonhomme, 2019**).

La graine est réduite à deux cotylédons volumineux, riche en huile, profondément lobés (cotylédons « ruminés ») ; des cloisons cartilagineuses incomplètes se développent dans la cavité du fruit (**Bonhomme, 2019**).



Figure 05 : Photographie de la noix de *Juglans regia* (**Bonhomme, 2019**).

1.4 Exigences culturelles

Le noyer est une espèce thermophile, préférant les climats doux voir chauds durant la saison de végétation, avec un air sec de type continental. Il peut pousser jusqu'à 800-1000 m d'altitude en zone tempérée. Mais il lui faut un emplacement à l'abri des vents forts. Il est rustique jusqu'à -30 C°, à condition que le froid s'installe progressivement. Il tolère les sols légèrement acides à calcaires (PH entre 6 et 7.5). C'est un arbre de pleine lumière supportant mal les conditions forestières, très sensible à l'asphyxie racinaire, il ne supporte pas l'engorgement aqueux même temporaire sur au moins 80 cm (**Bellabaci, 2016**).

1.5 Les noix

1.5.1 Définition

La noix est un fruit à écale (qui a une coque solide), produit par *Juglans regia* ou le noyer. Cet oléagineux de la famille des juglandacées vient d'Asie. La coque renferme le brou, la partie charnue et le noyau forme de deux cerneaux communément appelé noix. D'abord verte, la noix brunit une fois la maturité atteinte (**Bellabaci, 2016**).

Généralement la récolte des noix se situe entre mi-septembre et début octobre. Elle débute lorsque le brou s'ouvre et que les noix tombent à la terre (**Bellabaci, 2016**).

1.5.2 Caractéristiques nutritionnelles

La noix est un fruit à coque oléagineux, tout comme les amandes et les noisettes, elle est dotée d'un profil nutritionnel très différent de celui de la plupart des fruits frais, caractérisé par une proportion élevée de lipides. La noix se distingue toutefois des autres fruits à coque par la nature de ses acides gras. Ces derniers comptent une majorité d'acides gras polyinsaturés oméga 3 notamment (**Feillet, 2010**).

La noix est un fruit très énergétique, plus de 50% de son apport calorique est assuré par les lipides, acides gras polyinsaturés essentiellement (plus de 70% de ses lipides totaux). Sa teneur en eau est modérée de 20 à 40% contre plus de 80% pour la plupart des fruits frais. Elle constitue également une bonne source de protéines, tandis que beaucoup de fruits n'en contiennent qu'à l'état de traces (**Feillet, 2010**).

La noix est particulièrement riche en vitamine E et vitamine du groupe B, ainsi qu'en minéraux et oligo-élément : potassium, phosphore, magnésium, calcium, fer. Elle contient différents composés antioxydants, parmi lesquels la vitamine E, mais aussi l'acide gallique et de l'acide ellagique. Enfin, elle fournit une quantité importante de fibres et de phytostérols. (**Boudreau et Ménard, 1992**).

La table de composition nutritionnelle Ciqual (Centre d'information sur la qualité des aliments) (Tableau I), donne des valeurs moyennes, mais la composition est influencée par le génotype (la variété), les conditions environnementales et le taux d'irrigation. (**Ciqual, 2017**).

Tableau I : La table de composition nutritionnelle Ciqual (**Ciqual, 2017**)

Composants	Quantité
Eau	4g
Protéines	13.3 g
Lipides	67.3 g
Acides gras saturés	6.45 g
Glucides	6.88 g
Sucre	3 g
Fibre	6.7 g
Vitamines	Quantité
Provitamine A	0.0207 mg
Equivalent vitamine A	3.45 µg
Vitamine B1	0.3 mg
Vitamine B2	0.05 mg
Vitamine B3	0.4 mg
Vitamine B5	0.67 mg
Vitamine B6	0.19 mg
Vitamine B9	0.120 mg
Vitamine C	0.77 mg
Vitamine E	1.67 mg
Minéraux et oligo-élément	Quantité
Calcium	75 mg
Cuivre	1.2 mg
Fer	2.2 mg
Magnésium	140 mg
Manganèse	2.9 mg
Phosphore	360 mg
Potassium	430 mg
Sodium	-
Zinc	2.7 mg
Polyphénol	Quantité
Acides phénoliques	28.5 mg
Polyphénols totaux	28.5 mg

1.5.3 Facteurs favorisant leur bon stockage

Le mode de conservation des noix dépend de leur degré de maturité :

- Les noix fraîches que l'on récolte entre la mi-septembre et le début novembre, ont une teneur en eau qui avoisine les 20 %. Elles peuvent être conservées plusieurs semaines

à l'abri de chaleur et la lumière : cave, pièce bien ventilée ou bac à légumes du réfrigérateur. (Multon, 1982).

- Les noix sèches ne contiennent quasiment plus d'eau. Elles peuvent être dégustées entre six et douze mois après la récolte, à la condition impérative de les conserver à l'abri du froid et de l'humidité : dans une pièce tempérée et emballées dans du papier absorbant ou disposées dans une boîte en métal, par exemple. Ne les mettez donc pas au frigo, car elles perdraient beaucoup de leur saveur (Multon, 1982).

1.5.4 Les diverses utilisations des noix

Les parties de noix sont utilisées à différentes fins :

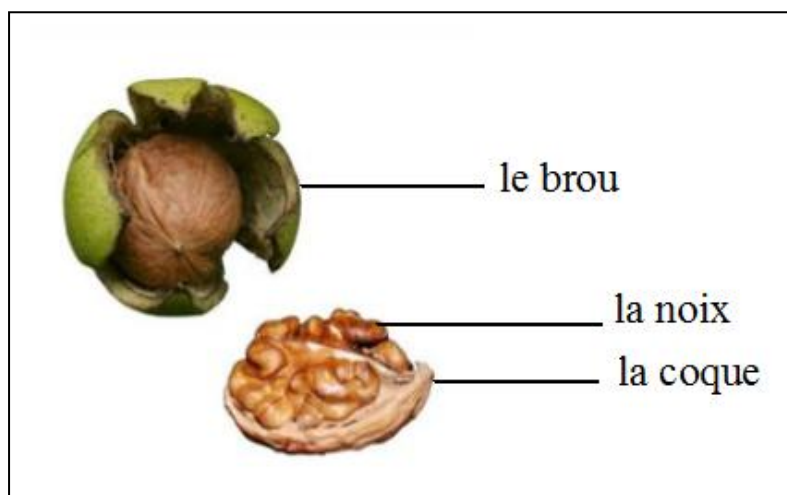


Figure 06 : Photographie des différentes parties de la noix (Bonhomme, 2019).

- **La Coque** : les coques de noix furent, à une époque, utilisées comme combustible. De plus, elles étaient autrefois utilisées en boulangerie, réduites en poudre et étalée sur la sole des fours à bois pour éviter que le pain n'attache à la cuisson (Bonhomme, 2019).

Dans la pharmacopée chinoise, les cloisons des noix sont prescrites pour traiter les problèmes urinaires (hématurie, incontinence) et pour la dysenterie (Bonhomme, 2019).

- **Le Brou** : En ébénisterie, le brou de noix est utilisé pour colorer les bois blancs. En effet, les coques vertes, une fois séchées, prennent une couleur marron foncé. Dans l'Antiquité, le brou de noix servait également à colorer les laines, les tissus, le cuir et les cheveux. Le brou de noix riche en tanins était également très employé autrefois dans le tannage des peaux, utilisé aussi comme vermifuge et tonique (Bonhomme, 2019).

En Chine, le brou est utilisé depuis longtemps dans le cancer de l'estomac, du foie et du poumon (**Bonhomme, 2019**).

- **La noix proprement dite** : Les noix sont également très utilisées dans l'alimentation que ce soit dans des desserts, que dans des plats salés. Dans la médecine traditionnelle iranienne, le noyau était utilisé pour traiter les maladies inflammatoires intestinales (**Bonhomme, 2019**).

- **L'huile** : L'huile de noix, outre son utilisation pour l'alimentation, Elle est également employée dans la fabrication des peintures, en parfumerie, en cosmétologie et dans la fabrication de savons. Au moyen âge, elle était associée à la menthe et utilisée pour l'embaumement (**Bonhomme, 2019**).

1.5.5 Les moisissures des noix

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif, le thalle, est formé de long filament ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Lorsque la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu (**Nicklin et al., 2000**).

Ces microorganismes filamenteux hétérotrophes ont des actions bénéfiques mais aussi néfastes pour l'homme. Ils sont ubiquitaires. Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement (**Nguyen, 2007**).

1.5.5.1 Genres fongiques affectant les noix

Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxique (**Nguyen, 2007**).

- **Le genre *Aspergillus*** :

Les espèces du genre *Aspergillus* sont fréquemment retrouvées dans les zones chaudes et humides. Elles ont été mises en évidence dans les denrées alimentaires telle que les noix (arachides, pistaches, noisettes), les grains(mais, sorgho), le coton , les épices ainsi que le lait (**Brochard et le Bacle, 2009**).

La prolifération fongique et la production des aflatoxines ont lieu au champ et au moment du stockage. Les conditions optimales de croissance nécessitent une activité en eau faible, de l'ordre de 0.86 ainsi qu'une température comprise entre 25 et 40 C°.

Les noix et les oléagineux sont les substances privilégiées d'*Aspergillus flavus* sous le climats chaudes et humides (Gauthier, 2016).

- **Le genre *Penicillium* :**

Genre polyphage et saprophyte, *Penicillium* est responsable de nombreuses dégradations, il est très commun dans l'environnement, on le retrouve aussi bien dans le sol et les matières organiques en décomposition que dans les denrées alimentaires telles que les céréales, les arachides et les produits laitiers. C'est un contaminant très fréquent des régions tempérées ; sa croissance est optimale pour les températures comprises entre 20 et 27C° et pour une humidité importante (Gauthier, 2016).

- **Genre *Fusarium* :**

Les Fusaria sont cosmopolites, on les retrouve dans toutes les régions du monde, des régions tropicales et désertiques aux régions tempérées, leur température idéale de croissance étant située entre 22 et 37C° (Pfohl-Leszkowics, 1999).

Le genre *Fusarium* rassemble un grand nombre d'espèces phytopathogènes. Il a un impact économique important car c'est un contaminant de nombreuses céréales de légumes et d'arbres fruitiers. Il se développe préférentiellement sur les végétaux sénescents ou stressés. Il est impliqué dans la pourriture des tiges, des fruits et du système racinaire (Gauthier, 2016).

1.5.5.2 Mode de contamination

La contamination peut avoir lieu avant ou pendant le stockage. Elle peut se propager aux animaux et à l'homme. Les mycotoxines pénètrent les végétaux par les blessures et les endroits abimés. Les insectes, les conditions climatiques (plus ou moins grande humidité, température.....) favorisent leur propagation (Botton et al., 1990).

1.5.5.3 Les altérations causés par les moisissures

Selon Hassam (2011), les altérations surviennent depuis la production des denrées jusqu'à leur consommation : que ce soit pendant le stockage des matières premières vivantes ou le stockage des produits finis, on peut observer un certain nombre d'altérations :

- **Altérations physique** : modifications d'état, la variation de la teneur en eau, changement de couleur.
- **Altérations chimiques** : oxydation (rancissement).
- **Altérations biochimiques** : par les enzymes (brunissement enzymatique, lyses, destruction des vitamines et de certains nutriments).

1.5.5.4 Impact des moisissures et leurs mycotoxines sur la santé de l'être humain

Une exposition de longue durée ou chronique à des aflatoxines peut avoir notamment des conséquences sanitaires.

- Les aflatoxines sont potentiellement cancérigènes et peuvent affecter l'ensemble des systèmes organiques, en particulier le foie et les reins ; elles peuvent provoquer des cancers du foie et ont été associées à d'autres types de cancer- l'aflatoxine B, est connue pour être cancérigène chez l'homme, la capacité de cette aflatoxine à provoquer un cancer du foie est significativement accrue en présence d'une infection par le virus de l'hépatite B (VHB).
- Les aflatoxines sont mutagènes dans des bactéries (elles affectent l'ADN), génotoxiques et ont la capacité de provoquer des anomalies congénitales chez les enfants.
- Les aflatoxines ont un effet immunosuppresseur, elles peuvent donc réduire la résistance aux agents infectieux (VIH ou tuberculose, par exemple) (OMS, 2018).

Chapitre 2 : *Aspergillus flavus*

2.1. Généralités

L'*Aspergillus* est un champignon filamenteux (ou moisissure) qui se développe par un système de filaments ou hyphes présents dans les moisissures (**Samson et Varga, 2007**).

L'*Aspergillus flavus* est une espèce qui se présente sur le maïs, les arachides et les céréales. C'est un pathogène végétal, animal et humain. Après *A. fumigatus*, *A. flavus* est la 2ème cause la plus fréquente d'aspergillose pulmonaire. Cette espèce peut produire des quantités importantes d'aflatoxine, un composé cancérogène et extrêmement toxique (**Nguyen, 2007**).

2.2. Les facteurs déterminants

L'*Aspergillus flavus* est un mycète mésophile et sa croissance est optimale entre 25 et 42 c°. À un pH de 7.5, et le pH optimal pour la production des conidies se situe à 6.5. *Aspergillus flavus* se développe mieux lorsque l'activité de l'eau (A_w) se situe entre 0.86 et 0.96, mais selon d'autres auteurs, il pourrait également se développer à une A_w se situant entre 0.78 et 0.80. une croissance optimale est obtenue lorsque l'humidité relative est de 80 à 85 % (**Samson et Varga, 2007**).

Tableau II : Paramètres de croissance de l'espèce *Aspergillus flavus* (**Samson et Varga, 2007**).

	Minimum	Optimum	Maximum
Température	10 – 12	33	43 - 48
PH	2.1	7.5	11.2
Aw (activité de l'eau)	0.78 - 0.84	0.97	/

2.3. Taxonomie

En raison de son importance économique, l'*Aspergillus* est l'un des genres les mieux décrits du point de vue taxonomique (**Schuster et al, 2002**).

La taxonomie du genre *Aspergillus* a été mise en place pour la première fois par **Micheli (1729)**. Les *Aspergillus* appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Eurotiomycetes

Sous-classe : Eurotiomycetidae

Ordre : Eurotiales

Famille : Trichocomaceae

Genre : *Aspergillus*

Espèce : *Aspergillus Flavus*

(Makhlouf, 2019).

2.4. Critères de classification d'*Aspergillus flavus*

La classification de l'*Aspergillus flavus* est fondée sur les caractères morphologiques qui sont de deux types :

2.4.1. Macroscopique

Le même aspect macroscopique est obtenu avec les différents milieux de culture au niveau desquels peut se développer *Aspergillus flavus*, mais la vitesse de la croissance des colonies varie d'un milieu à un autre :

2.4.1.1. Le milieu Czapek

Les colonies sont de croissance rapide, atteignant sur gélose de Czapek à 25 C°, un diamètre de 3-5 cm dans les sept jours, elles se composent habituellement d'un feutre dense de conidiophores vert jaunâtre.

Leur texture est de laineuse à cotonneuse et quelque peu granulaire ; leur surface est plate, souvent avec des cannelures radiales de couleur jaune au début, mais devenant rapidement vert jaunâtre brillant, puis fonçant avec l'âge. Les sclérotés, lorsqu'ils sont présents, sont brun foncé. Un exsudat clair ou brun peut être présent chez quelques isolats (Tabuc, 2007).

2.4.1.2. Le milieu MEA

Les colonies sur gélose à l'extrait de malt (MEA) se développent encore plus rapidement que celles sur gélose de Czapek, mais les autres caractéristiques macroscopiques sont semblables à celles ci-dessus mentionnées (Tabuc, 2007).

2.4.1.3. Le milieu PDA

Les colonies sur gélose pomme de terre, PDA, incubées à 25 c° se développent rapidement, elles sont de couleur olive à vert lime avec un revers crème ; leur texture est de

laineuse à cotonneuse et quelque peu granulaire. Un exsudat clair ou brun peut être présent chez quelques isolats (Tabuc, 2007).

2.4.1.4. Le milieu AFPA

La gélose AFPA est recommandée pour la détection rapide et la numération des 2 espèces *d'Aspergillus flavus et parasiticus*, c'est un milieu sélectif de ces deux espèces qui sont des producteurs potentiels d'aflatoxines. Elle présente les avantages suivants :

- Amélioration de la coloration du revers de la colonie : Les colonies d'*A. flavus* et *Parasiticus* développent une intense coloration jaune-orangé au revers des colonies ; cela constitue un caractère différentiel de ces espèces.
- Amélioration de la vitesse de pousse d'*A. flavus*
- Inhibition plus importante des bactéries et croissance rapide des champignons grâce au mélange dichloran-chloramphénicol (Tabuc, 2007).

2.4.2. Microscopique

- **Têtes conidiennes** : bisériées (quelque fois unisériées) de couleur vert jaunâtre à vert olive typiquement radiées à l'état jeune puis se séparant en colonnes plus au moins bien définies à maturité.
- **Conidiophore** : nettement rugueux, incolore, atteignant 1mm de long parfois plus.
- **Vésicule** globuleuse ou subglobuleuse de 25 à 45µm de diamètre, généralement bisériée.
- **Phialide** verdâtre, de 6-10 X 4.0-5.5µm, formées le plus souvent sur des métules, groupées sur les trois quarts supérieurs de la surface de la vésicule.
- **Conidies** subsphériques à ellipsoïdales, de 3 à 6 µm, vert pâle et légèrement rugueuses (Cahagnier, 1997).

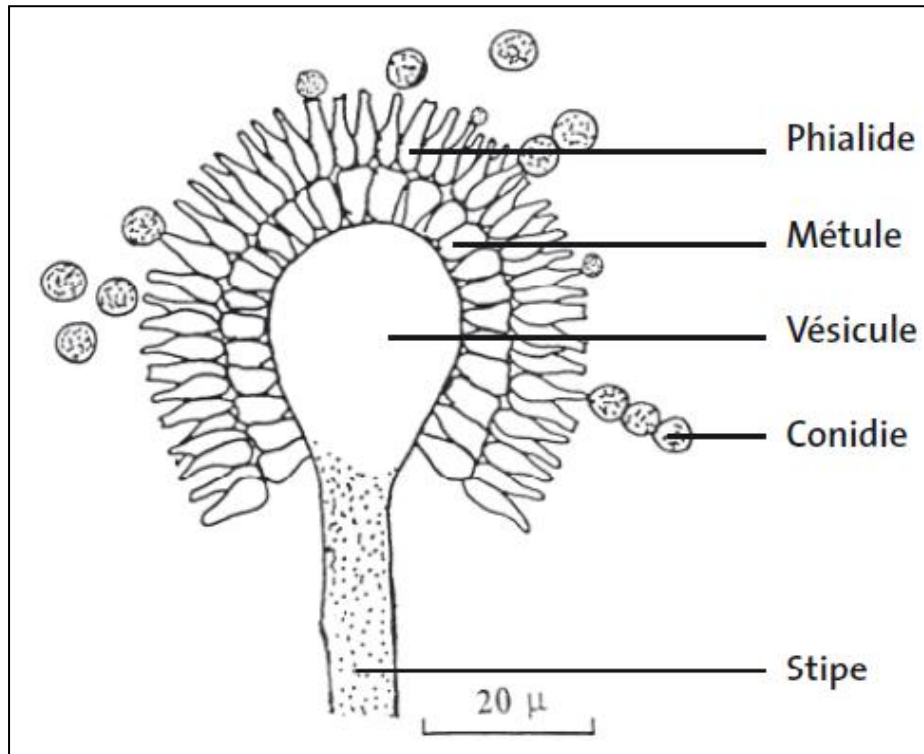


Figure 07 : Aspect microscopique de la tête aspergillaire d'*Aspergillus flavus* (Cahagnier, 1997).

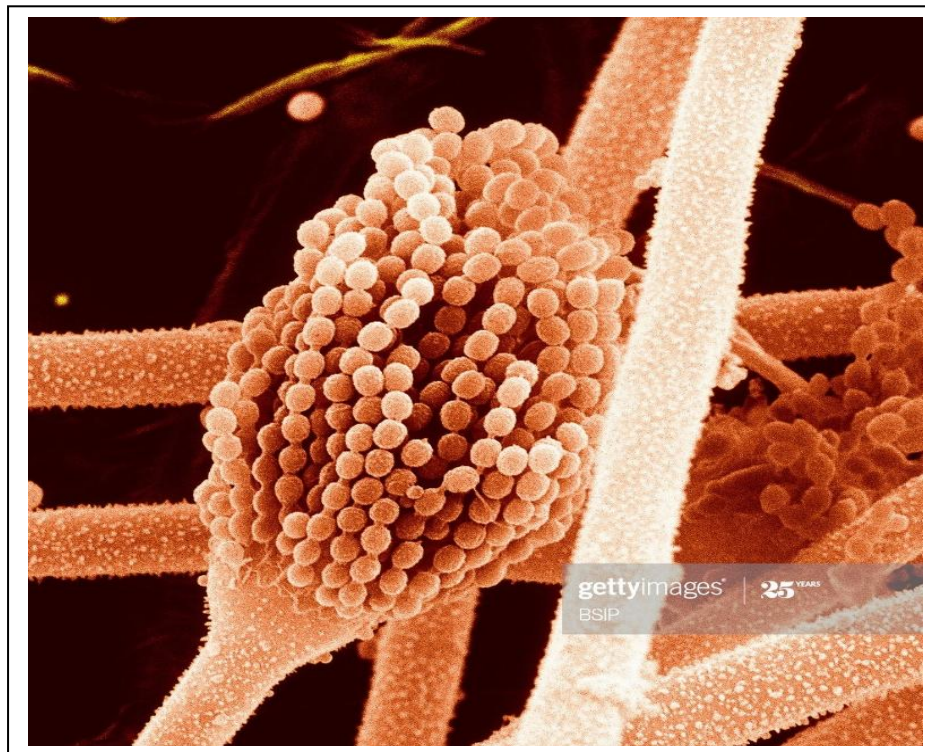


Figure 08 : Microphotographie de la tête aspergillaire d'*Aspergillus flavus*(www.gettyimages.com).

2.5. Habitat

Espèce cosmopolite, *Aspergillus flavus* peut coloniser de nombreux substrats. C'est une espèce à prédominance tropicale et subtropicale, fréquemment rencontrée dans le sol, les produits végétaux en décomposition, les fourrages, les grains et semences en stockage, les épices, parfois les fruits secs (figues, noix, pistaches) les aliments pour animaux , les dérivés de céréales, etc... (Cahagnier, 1997).

2.6. Mycotoxines

Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « *Mycos* », qui signifie champignon, et du latin « *Toxicum* » signifiant poison. Les mycotoxines sont donc des substances toxiques, sécrétées essentiellement par les micromycètes. Ce sont plus précisément des métabolites dits secondaires, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensables au fonctionnement des champignons. Ils résultent de la dégradation de métabolites primaires rassemblant les sucres, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques, qui eux participent à la nutrition et à la croissance d'un organisme. Elles sont, chez l'animal et l'être humain qui en consomment, à l'origine d'effets biologiques nocifs regroupés sous le terme de mycotoxicoses. Il existe donc une grande diversité de mycotoxines. Certaines de ces toxines sont supposées cancérogènes ou mutagènes, tandis que d'autres sont toxiques pour les reins, le système nerveux ou encore le foie. Par ailleurs, il convient de noter que la toxicité ne provient pas forcément de la mycotoxine elle-même, mais peut être due à l'un de ses métabolites issus de sa dégradation (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Selon leur lieu de production, les mycotoxines peuvent être classées en deux catégories :

2.6.1. Les mycotoxines du champ

On peut citer en exemple les Fumonisines, principalement produites par le genre *Fusarium*. Les champignons producteurs se développent alors sur les plantes sénescents ou stressées. (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

2.6.2. Les mycotoxines de stockage

La Citrinine et la Patuline sont produites essentiellement par les genres *Penicillium* et *Aspergillus* (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

2.6.3. Principales mycotoxines

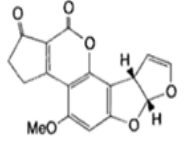
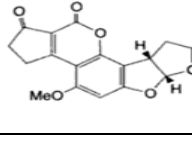
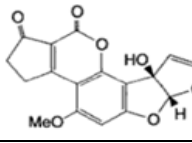
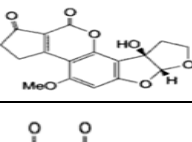
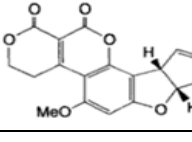
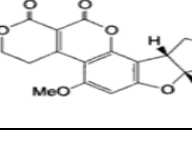
2.6.3.1. Les Aflatoxines

La « maladie X du dindon », qui a sévi en Angleterre au début des années 1960, a permis de mettre en lumière l'existence des toxines de moisissures. Les Aflatoxines ont été isolées à partir de farines d'arachides, habituellement consommées par les volailles et contaminées par des souches d'*Aspergillus*. Le terme d'Aflatoxine (AF) a été attribué à ces toxines en référence à *Aspergillus flavus* (abrégié en *A. flavus*), premier champignon identifié comme étant responsable de la sécrétion de ces toxines (**Turner, 1971**).

2.6.3.1.1. Structure

Les Aflatoxines forment un groupe de 18 composés structurellement proches, dont six constituent les formes les plus couramment rencontrées dans les aliments (B1, B2, G1, G2, M1 et M2). Ces toxines sont issues de la voie des polycétolides (**Pfohl-Leskowicz, 1999**).

Tableau III : Les principales Aflatoxines (Wicklow et Shotwell, 1983)

Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
Aflatoxine B1	$C_{17}H_{12}O_6$	312,3	
Aflatoxine B2	$C_{17}H_{14}O_6$	314,3	
Aflatoxine M1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine M2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	
Aflatoxine G1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine G2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	

2.6.3.1.2. Propriétés physico-chimiques

Les Aflatoxines sont des molécules de faibles poids moléculaires (312 à 330 g/mol). Elles sont très peu solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants non polaires et très solubles dans les solvants polaires comme le chloroforme et le méthanol. Sous lumière UV, les Aflatoxines B émettent de manière intense une fluorescence bleue, tandis que les Aflatoxines G émettent une fluorescence verte. Ces couleurs sont d'ailleurs à l'origine de leurs dénominations : « B » pour *Blue* et « G » pour *Green*. Le « M » provient quant à lui du nom de l'aliment à partir duquel les Aflatoxines M ont été extraites pour la première fois : « M » pour *Milk*. Les pH extrêmes, supérieurs à 10 et inférieurs à 3, entraînent une instabilité de ces structures, également sensibles aux agents oxydants. La température minimale de décomposition s'élève à 237°C. Cette propriété les rend particulièrement résistantes aux traitements thermiques comme la congélation, la pasteurisation ou encore la stérilisation (Rehacek et Sajdl, 1990).

2.6.3.1.3. Effets néfastes des aflatoxines

L'aflatoxine modifie de nombreuses fonctions métaboliques chez l'homme. Le principal mode d'action toxique est l'apparition, au niveau hépatique d'un dérivé époxyde, qui se fixe aux macromolécules et est responsable de la toxicité hépatique aigue, lors d'exposition à de fortes concentrations (mort cellulaire) et de l'apparition de mutations puis de la transformation cancéreuse des cellules (effet à long terme). L'aflatoxine possède des propriétés immunodépressives dues à son effet inhibiteur de la synthèse des protéines (Rehacek et Sajdl, 1990).

2.6.3.1.4 Toxicocinétique

D'après Turner (1971), la toxicocinétique comporte les étapes suivantes :

- a) **L'absorption** : L'absorption des AF est possible par voie orale et trachéale. Elle est relativement rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle, plus précisément au niveau du duodénum. Les toxines sont ensuite transportées dans l'organisme grâce au phénomène de fixation aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine.
- b) **La distribution** : La distribution de l'AFB1, par exemple, a lieu principalement au niveau du foie via la veine porte. Elle s'effectue à partir du plasma sanguin vers les hépatocytes, par un processus de diffusion passive à travers les membranes cellulaires. La distribution au sein

même de la cellule se fait essentiellement au niveau du noyau, du réticulum endoplasmique, du cytosol et des mitochondries.

c) Le métabolisme : Le métabolisme hépatique de l'AFB1 se produit en deux étapes. La phase I s'effectue par l'intermédiaire des cytochromes hépatiques P450 (CYP450). Sous l'action des CYP450, notamment le cytochrome P1A2 (CYP1A2), l'AFB1 donne par hydroxylation l'AFM1 et par époxydation l'AFB1-8,9-époxyde, le métabolite le plus toxique.

d) L'élimination : L'élimination est principalement biliaire. Elle représente environ 50 % de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales, tandis que la voie urinaire représente 15 à 25 % de la dose ingérée

Chapitre 3 : *Azadirachta indica*

3.1. Généralités

Aujourd'hui connu sous le nom botanique d'*Azadirachta indica* A. juss, le neem est un arbre qui appartient à la famille des méliacées. Le terme « *neem* » actuellement très populaire, et qui se prononce simplement “nim”, est dérivé du Sanskrit du mot “nimba” qui signifie “arroseuse”, et qui est le raccourci de l'expression : “Arroseuse de nectar” (Nimbrosia) (**Puri, 1999**). Mais la signification du générique *Azadirachta indica* est plus controversée. Selon **PURI, (1999)**, le mot *Azadirachta* provient des mots Perse “azad” (libre) et “drakhat” (arbre). Ce qui signifie l'arbre libre, et le nom *indica* y a été ajouté en référence à l'Inde, son lieu d'origine. La signification du nom botanique du neem (*Azadirachta indica*) deviendrait alors l'arbre libre de l'Inde. Le margousier, Lilas de l'Inde sont d'autres noms vernaculaires de cet arbre.

Azadirachta indica a été l'objet d'intenses activités de recherche depuis l'isolement et la caractérisation de l'azadirachtine comme insecticide naturel à partir de ses graines Cet arbre est originaire du sous-continent indien où ses propriétés médicinales sont connues depuis des millénaires (**Butterworth et Morgan, 1971**).

Au début du XXème siècle, l'arbre est introduit dans plusieurs pays en voie de développement, et particulièrement en Afrique tropicale. Il a fait l'objet d'intenses campagnes de plantations au cours des dernières années, particulièrement au Sénégal où on le trouve aussi bien en campagne qu'en ville. (**Butterworth et Morgan, 1971**).

3. 2. Classification

Azadirachta indica est classé comme suit (**Schemutterer, 1995 ; Puri, 1999**) :

Ordre : Rurales

Sous ordre : Rutineae

Famille : Meliaceae

Sous famille : Melioideae

Genre : *Azadirachta*

Espèce : *Indica* A. Juss

3.3. Description botanique

3.3.1. Description de l'arbre, *Azadirachta indica*

Azadirachta indica est une plante verte attrayante avec une multitude de feuilles. C'est un arbre à croissance rapide qui peut atteindre 15 à 20 m de hauteur (Schemutterer, 1995), souvent 20 à 30 m et plus rarement 35 à 40 m. C'est un arbre à feuillage persistant ; mais dans des zones très sèches, les jeunes arbres peuvent parfois perdre la plupart ou la totalité de leurs feuilles pendant un temps relativement court, et de nouvelles feuilles de couleurs généralement rosâtres à vertes peuvent réapparaître durant les mois de mars et d'avril (Puri, 1999 ; National Research Council, 1992).

3.3.1.1. Les feuilles

Les feuilles sont disposées de manière alternée sur un long et mince pétiole (Fig.09). La face dorsale est de couleur verte foncée alors que la face ventrale est plus claire. Elles mesurent entre 20 et 40 cm de long et sont plus denses à l'extrémité des branches. Les feuillettes, variables dans leurs formes notamment au niveau de l'axe central, varient entre 7 et 15 cm, et dépassent parfois 17 cm sur un même pétiole (Puri, 1999).



Figure 09 : Feuilles du neem (Wikipédia, 2020).

3.3.1.2. Les fleurs

Les fleurs (Figure 10) sont petites, blanches, et soutenues par un faisceau auxiliaire qui peut aller jusqu'à 25 cm de long. Elles contiennent une sève qui dégage une odeur qui attire les abeilles (National Research Council, 1992). Les inflorescences, qui s'embranchent jusqu'au troisième degré, soutiennent jusqu'à 150 à 250 fleurs (Gruber, 1991). Chaque fleur peut faire 5 à 6 mm de long et 8 à 11 mm de large (Schemutterer, 1995).



Figure 10 : Fleurs du neem (Wikipédia, 2020).

3.3.1.3. Les fruits

Le fruit est lisse, et de forme ellipsoïdale. Il mesure 1,4 à 2,8 cm de long et 1,0 à 1,5 cm de large. Il ressemble à celui de l'olivier (Figure 11). Avant la maturité, il est vert, et devient ensuite jaune à jaune verdâtre. Il comporte une pulpe renfermant une graine. Sa peau (exocarpe) est mince, lisse, aigre et douce. Elle mesure 0,3 à 0,5 cm de profondeur. À l'intérieur se trouve la coquille (endocarpe). Elle est blanche, assez dure, avec deux noyaux ovales de couleur brun.

L'arbre commence à fructifier parfois dès l'âge de 2 ans, le plus souvent au bout de 3 à 5 ans (Schmutterer, 1995).



Figure 11 : Fruit du neem (wikipédia, 2020).

3.4. Les exigences culturelles

Azadirachta indica est un arbre qui se développe généralement rapidement dans de bonnes conditions climatiques et pédologiques. Connu pour sa résistance à la sécheresse, il se développe normalement dans les zones arides et semi arides, avec une pluviométrie annuelle comprise entre 400 et 1200 mm. Il peut aussi s'adapter dans les régions où les précipitations

annuelles sont inférieures à 400 mm, Dépendant alors en grande partie de la nappe phréatique, et pendant les périodes de forte et longue sécheresse, l'arbre peut perdre une partie ou la totalité de ses feuilles (Schmutterer, 1995 ; National Research Council, 1992).

3.5 Les différents effets d'*Azadirachta indica*

Azadirachta indica étant une plante de la médecine traditionnelle dans de nombreuses zones rurales de régions d'Asie et d'Afrique. Il a également été très étudié par la médecine moderne. Les effets antiseptique, anti-inflammatoire, antibactérien, antipaludéen, antiviral, etc., de divers constituants des feuilles, écorces, graines, racines sont maintenant établis. Ainsi, plusieurs médicaments à base d'extraits de neem sont commercialisés en Inde (National Research Council, 1992).

3.5.1. Effet antibactérien

Des préparations à base de neem ont été utilisées comme désinfectant depuis longtemps ; Chopra (1952) a testé l'effet de l'huile essentielle des fleurs de neem contre un certain nombre d'agents pathogènes à l'homme et aux végétaux. La plupart des espèces testées à l'exception du *Barrilluss mycoïdes*, ont montré une sensibilité par rapport à cette huile essentielle.

3.5.2. Effet antiviral

Rao (1969) a montré que l'extrait aqueux de 10% de feuilles d'arbre de neem possédait une activité antivirale contre le virus de la *vaccina et de la variole*. L'extrait aqueux de ces feuilles ne tuerait pas directement le virus mais inhibe la multiplication du *vaccina* (Rai et Sethi, 1972).

3.6. L'huile essentielle

L'huile essentielle d'*Azadirachta indica* est une huile végétale aux bienfaits reconnus depuis des siècles. Ce sont les amandes extraites du noyau du fruit de cet arbre tropical qui sont pressées à froid pour produire l'huile. L'huile a une odeur assez forte (Butterworth et Morgan, 1971).

3.6.1. Composition chimique

D'après Butterworth et Morgan (1971), l'huile essentielle d'*Azadirachta indica* est composée de différents acides gras

- Acides gras mono-insaturés : acide oléique, oméga 3
- Acides gras polyinsaturé : acide linoléique, acide alpha-linoléique oméga 3
- Acides gras saturés : acide palmitique, acide stéarique, acide arachidonique
- Teneur en matières insaponifiables

3.6.1.1. Activités

Les différents travaux menés sur l'huile essentielle d'*Azadirachta indica* ont montré qu'elle a plusieurs activités. En effet l'activité antibactérienne et antivirale de cette huile est due à la fraction NIM-76 qui, utilisée en pommade comme spermicide, semble inhiber *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*. L'intérêt d'*Azadirachta indica* réside surtout dans ses propriétés insecticides dues à l'azadirachtine. En effet, elle a une action répulsive et destructive sur les insectes.

En plus de son activité antifongique, l'huile de neem combat les poux et autres parasites. De même, cette huile a une action fumigatoire (vapeur désinfectante) qui agit sur un grand nombre de champignons pathogènes (Cassier et al. 1997).

3.7. Phytochimie

La biomolécule active d'*Azadirachta indica*, isolée et caractérisée est l'azadirachtine.

3.7.1. Structure et caractérisation de l'azadirachtine

L'azadirachtine, sous sa forme cristalline, est isolée à partir d'extraits méthanoïques de graines de d'*Azadirachta indica*. Bien que sa présence ait aussi été signalée dans un autre arbre, le *Melia Azedarach* ; cette molécule apparait spécifique au neem, plusieurs molécules de structure analogue ont aussi été isolées à partir du neem et peuvent être classées en trois groupes :

- Les azadirachtols,
- Les azadirachtines
- Les méliacarpines.

Par mesure de simplification, ces dérivés qui présentent le même squelette carboné mais différent par la position ou la nature des substituants, ont été désignés sous le nom générique d'azadirachtine, affecté d'une lettre A, B, C etc. C'est l'azadirachtine A qui est considérée comme le motif structural de référence (Schemutterer, 1995).

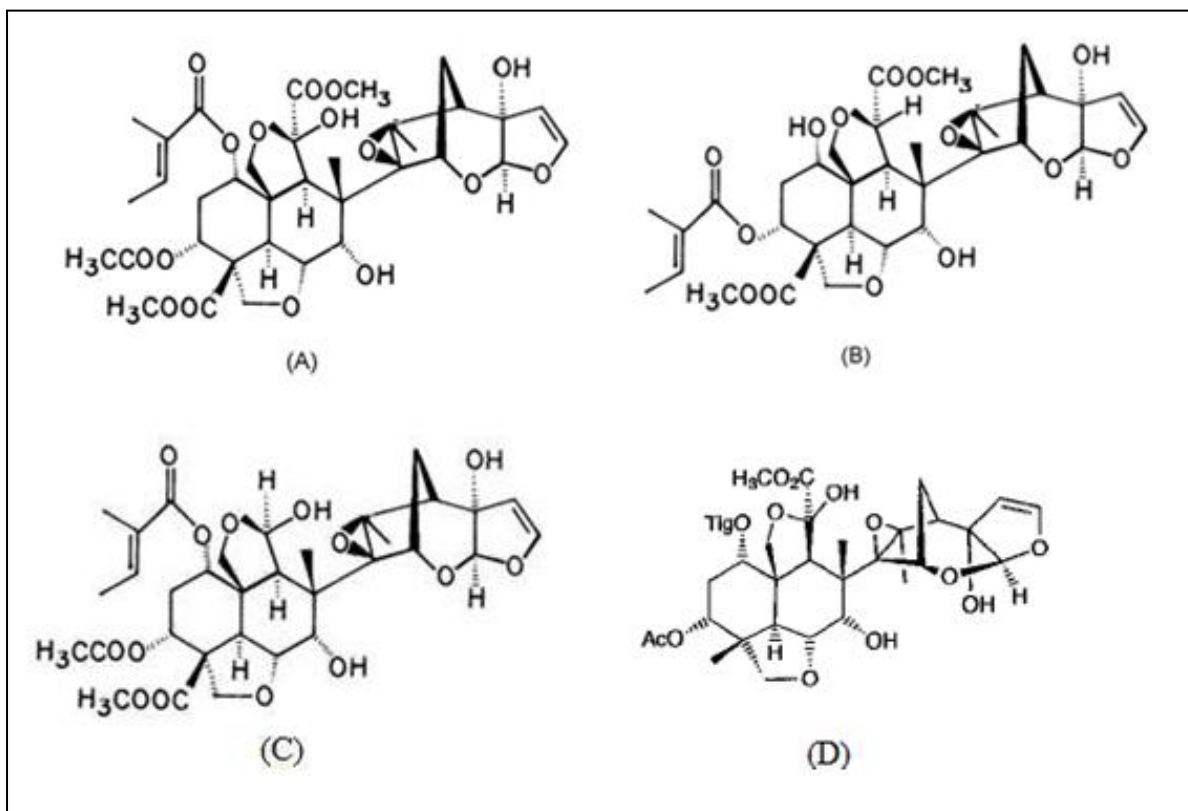


Figure 12 : Formules de l'azadirachtine A et ses dérivés (Wikipédia, 2020).

3.7.2. Mode d'action sur les insectes

L'azadirachtine, structurellement semblable aux ecdysones d'insectes, inhibe l'hormone prothoracicotrope (Schmutterer, 1990 ; Mordue et Blackwell, 1993) et l'hormone allatotrope, L'azadirachtine peut également agir par des effets antiappétants sur le mouvement naturel de l'intestin, provoquant une paralysie et le dépérissement des organismes cibles. Ces effets ont été observés chez plusieurs types de familles d'insectes, les Lépidoptères (papillons), les Diptères (mouches, taons, moustiques, ...), les Orthoptères (sauterelles, criquets, ...), les Hyménoptères (très faible pour les abeilles) et certaines espèces de pucerons (Banken et Stark, 1997).

3.7.3. Efficacité et toxicité

L'extrait de neem est connu pour ses propriétés insecticides .il est cité aussi comme une substance ayant une action fongicide. Ces deux caractéristiques seraient susceptibles d'ouvrir une voie nouvelle dans la lutte dans nos cultures qui sont généralement soumises à un complexe parasitaire. Mais si dans le premier cas, les travaux sont nombreux et la fiabilité des résultats a conduit les pays comme les Etat Unis et le Canada à homologuer l'azadirachtine, matière active du neem comme insecticide, dans le dernier cas peu de données sont

disponibles. C'est dans ce cadre que nous y avons contribué en orientant nos recherches sur les propriétés fongicide d'un biopesticide d'huile des graines de neem avec un test d'efficacité sur la pourriture brune des cabosses de cacaoyer due à *Phytophthora* spp. L'objectif de cette étude est d'évaluer les taux des cabosses atteintes de pourriture brune dans les parcelles ayant reçu des applications d'huile de graines de neem en comparaison avec ceux obtenus dans les parcelles ou les arbres sont traités avec un fongicide composé d'oxyde de cuivre et de métalaxyl déjà homologué en Côte d'Ivoire d'une part et d'autre part avec ceux enregistrés avec des arbres sans application fongicide. Cette expérimentation effectuée en plein champ vient une fois de plus confirmer l'efficacité du fongicide de référence, déjà homologué dans la lutte contre la pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire. Aussi les résultats obtenus ont-ils permis de mettre en évidence l'efficacité de l'extrait d'huile des graines de neem. Cette substance appliquée à la dose de 10L/ha est statistiquement autant efficace que le produit de référence à dose homologuée. Son effet fongicide ne saurait constituer un doute et elle peut jouer un rôle important dans nos cultures et même constituer une alternative aux pesticides de synthèse (**Pohe et Agneroh, 2013**).

3.8. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait-là plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (**Pavida, 1976**). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (**Lucchesi, 2005**). La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

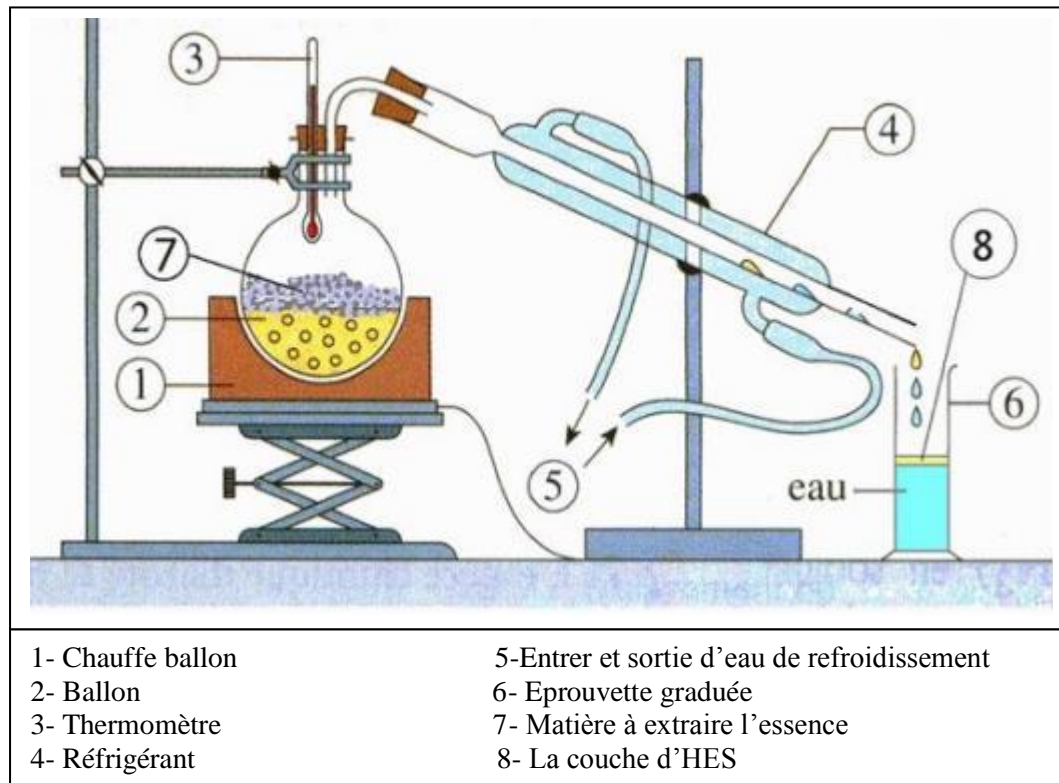


Figure 13 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Baziz, 2017).

Conclusion

Le présent travail se propose comme objectifs : identifier des moisissures de la noix et évaluer l'activité de l'huile essentielle des fruits de l'arbre d'*Azadirachta indica* sur ces moisissures.

La noix est un fruit à écale produit par *Juglans regia* ou noyer. Cet oléagineux de la famille des juglandacées vient d'Asie. Les grains de noix forment un excellent substrat pour les moisissures pendant le stockage et la récolte notamment les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, il subit généralement la perte de qualité, qui est caractérisée par susceptibilité accrue à l'infection par les mycètes, les insectes, les acarides.

Les mycètes causes beaucoup de genres de détérioration ou de dommage dans le grain. Ceux-ci incluent la diminution de la germination, la décoloration, les changements chimique et alimentaire et les mauvais goûts qui a comme conséquence le rejet du produit.

L'activité fongique mène également aux pertes de matière sèche et de valeur nutritive, il y a aussi des problèmes de santé dus à la formation des mycotoxines et des spores allergiques. Qui sont potentiellement cancérigènes et peuvent affecter l'ensemble des systèmes organiques en particulier foie et rein.

L'*Azadirachta indica* ou neem est une plante médicinale utilisé en thérapie traditionnelle et il a également très étudié par la médecine moderne.

L'huile essentielle de cette plante est une huile végétale aux bienfaits reconnus depuis des siècles. Les différents travaux menés sur cette huile ont montré qu'elle a de nombreuses activités : anti-septique, anti viral, anti-inflammatoire, anti-fongique.....etc

En plus de son activités insecticide, l'huile de neem possède une activité anti fongique, elle a une action fumigatoire (vapeur désinfectante) qui agit sur un grand nombre de champignons pathogènes.

Donc d'après les résultats obtenus des études et recherches antérieures on peut conclure que l'huile essentielle de neem possède un effet anti fongique non négligeable.

Références Bibliographiques

- **Abarca, L.M., Francesc, A., Jose, C. Cabanes, J.F. (2004).** Taxonomy and significance of black *aspergillus*. Antonivan Leeuwenhoek Kluwer. Academic Puplicher . 86:33-49.
- **Baziz, M. (2017).** Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale SALVIA OFFICINALIS par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Thèse master. Université Annaba.
- **Banken, J.A., Stark, J.D. (1997).** Stage and age influence on the susceptibility of *Coccinellaseptempunctata*(Coleoptera: Coccinellidae) after direct exposure to Neemex, a neem insecticide. *J Econo Entomy*. 90 (5) : 1102-1105.
- **Bellabaci, A.E. (2016).** Etude de la possibilité d'amélioration de la culture et de la production du noyer commun, *Juglansregia* Dans la région de Tlemcen. Thèse master en agronomie. Université de Tlemcen.
- **Bonhomme, M. (2019).** Etude botanique des trois espèces de noyer (JR, JC, JN) de leur composition chimique, de leur intérêt thérapeutique et de leur utilisation à l'officine. Thèse docteur en pharmacie. Université Toulouse 3.
- **Botton, B., Breton, A., Febre, M., Goutier, S., Gay, P.I., Reymont, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990).** Moisissure utile et nuisibles, importance industrielles 2eme édition. P : 419. 35.
- **Boudreau, A., Ménard, G. (1992).** La noix : Elément fondamentaux et transformation. Presses de l'université Laval, Paris : 439 pp.
- **Butterworth, J.H. Morgan, E.D. (1971).** Investigation of the locust feeding inhibition of the seeds of neem tree, *Azadirachta iIndica*. *J. Insect. Physiology* 17,969-977.
- **Brochard G., le Bacle, C. (2009).** Mycotoxines en milieu de travail ; origine et propriété toxiques des principales mycotoxines ; document pour le médecin de travail ; DMT n° 129.
- **Cassier, P., Des camps, M., Lafont, R., Porchet, M. Soyez, D., (1997).** La reproduction des invertébrés : Stratégies, modalités et régulation intérêt fondamental et appliqué. *Edition Masson. Paris*, 354.
- **Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. (2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, *dans La sécurité alimentaire du consommateur*. Lavoisier, Tec & Doc.
- **Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. (2002).** Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergilli* in relation to different relative humidities and storage periods.
- **Cahagnier B. (1997).** Moisissures des aliments peu hydraté ; technique et documentation ; Lavoisier ; Paris : 405p.

- **Capinera, J. L., Froeba, J.G. (2007).** Behavioral responses of *Schistocerca Americana* (Orthoptera: Acrididae) to Azadirax (Neem)-treated host plants. *J Econ Entomol.* **100**(1) : 117-122.
- **Chadda, D. (2008).** Influence des matières organiques (feuilles, chatons, racines) du noyer (*Juglansregia*L) sur le comportement de jeunes plans de pommier (*Malus domestica*Bokh) dans la région de R'haouat (Hidoussa)(Belezma). Thèse magister en agronomie. Université El Hadj Lakhder Batna.
- **Ciqual. (2017).** Table de composition nutritionnelle des aliments : disponible sur : <https://index-glycemique.fr/ciqual/noix-sechee-cerneaux-composition-calories-vitamines-ciqual-2017/>.
- **Feillet, P. (2000).** Le grain de noix : composition et utilisation. EditionQuae. INRA, Paris : 308 pp.
- **Gacem, M.A. Ould El Hadj K.A., Gacemi, B. (2012).** Etude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office Alegria interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie). *Alegria journal of Arid And Environmen* ; I :67-76.
- **Gauthier A. (2016).** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé ; thèse doct en pharmacie. Université de Bordeaux.
- **Gruber, A.K. (1991).** Fruit yield and azadirachtin content of the seeds of *Azadiractaindica* A. Juss on various locations in Nicaragua. Doctor. Thesis, Techn. Univ. Of Berlin, Germany.
- **Hassam Amel. (2011).** La prévention des intoxications alimentaires en restauration collective ; mémoire en ligne /rapport de stage ; doctorat en médecine.
- **Lim. T.K. (2014).** *Azadirachta indica*. In: Lim, T.k (Eds). *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*.Springer, *Dordrecht, Netherlands*.
- **Lucchesi, M.E. (2005).** Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doct en sciences, discipline : chimie. Université de la Réunion, faculté des sciences et technologies.
- **Makhlouf, 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 doctorat. Université de Toulouse.
- **Meghazi, N. (2015).** Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Thèse Magister. École nationale supérieure agronomique, Alger .99pp.
- **Mordue, A.J., Blackwell, A. (1993).** Azadirachtin: an update. *Journal of insect physiology*, 39(11), 903-924.

- **Multon, J.L. (1982).** Conservation et stockage des grains et grains et produits dérivés- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris : 576 pp.
- **National Research Council. (1992).** Neem: a tree for solving global problems. National Academy Press, Neem: a tree for solving global problems. National Academy Press, Washington, D.C. (1992).
- **Nicklin, J., Greame-Cook, K., Killington, R. (2000).** L'essentiel en microbiologie. Edition Berti, p210-217.
- **Nguyen, M.T. (2007).** Identification des espèces de moisissures potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région central du Vietnam- études des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse doct. Université Toulouse.
- **OMS. (2018).** Organisation mondiale de la santé. Note de sécurité sanitaire des aliments ; les aflatoxines.
- **Pavida. D.L. (1976).** Introduction to organic laboratory techniques, W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 567.
- **Pfohl-Leszkowics, A. (1999).** Les mycotoxines dans l'alimentation ; évaluation et gestion du risque. Paris: Tec. Doc ;478p.
- **Puri, H.S. (1999).** Neem the divine tree, *Azadiracta indica*. 1079 LH Amsterdam.
- **Rai, A. Sethi, M.S. (1972).** Screening of some plants for their activity against vaccinia and fowl pox viruses. *Indian Journal of Animal Sciences* **42**,1066-1070.
- **RAO. (1969).** Chemistry, biological activity and utilization aspects of some promising neem extractives. In: Eschborn (ed), Natural Pesticides from Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss.) and other Tropical Plants, 3rd Int. Neem Conf. Nairobi, Kenya, 10–15 July, 1986, pp. 127–148 (1987).
- **Řeháček, Z., Sajdl, P. (1990).** Ergot alkaloids. Chemistry, *biological effects, biotechnology*. Academia.
- **Samson R.A., Varga J. (2007).** Aspergillus systematics in the genomicera, *Studies in Mycology* .59: 71-73.
- **Schemutterer H. (1995).** The neem tree: *Azadirachta indica* A.Juss.and other meliaceous plants:sources of unique natural products for integrated pest management,medicine,industry,and other purposes.Weiheim;New York:VCH.
- **Schmutterer, H.(ed)(1990).** Properties and potential of natural pesticides from the neem *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* **35**,271-297.
- **Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvard, J.C., Van Djick, P.W.M. (2000).** On the safety of *Aspergillus niger*- a review *Appl Microbiol Biotechnol*.59: 426-435.

- **Spichiger, R.E, Savolainen, V., Fegat, M., Jeanmond, D. (2004).** Botanique : systématique des plantes à fleurs. Presses polytechniques et universitaires romandes ; 3ème Ed. Lausanne.
- **Tabuc, C. (2007).** Flore fongique de différents substrat et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse doct.Univ. Toulouse :190 pp.
- **Wicklowsky, D.T., Shotwell, O.L. (1983).** Intrafungal distribution of aflatoxins among conidia and sclerotia of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Can J Microbiol.* Jan ; 29 (1) :1-5.
- **Turner, W.B. (1971).** Fungal metabolites, New-York, London: Acad Press, Les Alcaloïdes de l'ergot: mycotoxinesré-émergentes? Toxinogenèse et toxicité pour l'Homme et les animaux. Disponible sur : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>.
- **Wikipedia. (2020).** L'encyclopédie libre. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Noyer_commun.

Sites web

- **www.gettyimages.com** consulté le 21/06/2020

Résumé :

Juglans regia ou noyer est un arbre appartenant à la famille des *Juglandaceae*. Son fruit oléagineux à coque, appelé noix est riche en lipides, protéines et en vitamine E et vitamines du groupe B et pauvre en glucides. Les noix mal stockées sont attaquées surtout par *Aspergillus flavus*, champignon microscopique ; producteur d'aflatoxines. Ces toxines à potentiel carcinogène ont pour organe cible le foie.

L'utilisation de biomolécules actives extraites des plantes pour lutter contre ces ravageurs représente une alternative à l'emploi de substances chimiques à effets nocifs sur la santé humaine. C'est le cas de notre étude bibliographique qui porte sur l'effet de l'huile essentielle d'*Azadirachta indica* ou margousier, vis-à-vis d'*Aspergillus flavus*, afin de l'utiliser éventuellement dans la conservation des noix. Notre choix s'est porté sur l'arbre *Azadirachta indica* ; car il est connu pour ses effets antibactérien, antiviral et insecticide.

Mots clés : *Juglans regia*, noix, d'*Aspergillus flavus*, aflatoxines, carcinogène, l'huile essentielle, *Azadirachta indica* .

Abstrat :

Juglans regia or walnut is a tree belonging to the *Juglandaceae* family. Its shelled oilseed fruit, called walnuts, is rich in fat, protein and vitamin E and B-vitamins and low in carbohydrates. Poorly stored nuts are attacked mainly by *Aspergillus flavus*, a microscopic fungus; producer of aflatoxins. These toxins with carcinogenic potential are the organ that targets the liver.

The use of active biomolecules extracted from plants to control these pests is an alternative to the use of chemicals with harmful effects on human health. This is the case of our bibliographical study which examines the effect of the essential oil of *Azadirachta indica* or mongoose, vis-à-vis *Aspergillus flavus*, in order to use it eventually in the preservation of nuts. Our choice fell on the tree *Azadirachta indica*; because it is known for its antibacterial, antiviral and insecticide effects.

Key words: *Juglans regia*, walnuts, *Aspergillus flavus*, aflatoxins, carcinogenic, essential oil; *Azadirachta indica*.

الملخص :

Juglans regia و الجوز هي شجرة تنتم ي إلى عائلة *juglandaceae*، فاكهة ذات البزة الزيتية، والتي تسمى الجوز، غنية بالدهون والبروتينات وفيتامين E و B ومنخفضة الكربوهيدرات. تتعرض المكسرات المخزنة بشكل سيئ للهجوم خاصة من قبل الفطر المجهري *Aspergillus*؛ منتج الأفلاتوكسينات. تستهدف هذه السموم التي قد تكون مسرطنة الكبد.

يمثل استخدام الجزيئات الحيوية النشطة المستخرجة من النباتات لمكافحة هذه الآفات بديلاً لاستخدام المواد الكيميائية التي لها آثار ضارة على صحة الإنسان. هذه هي حالة دراستنا البيليوغرافية التي تتعلق بتأثير الزيت العطري من *Azadirachta indica* أو النيم على *Aspergillus flavus*، من أجل استخدامه ربما في حفظ المكسرات. وقع اختيارنا على شجرة *Azadirachta indica*؛ لأنه معروف بتأثيراته المضادة للبكتيريا والفيروسات والمبيدات الحشرية.

الكلمات المفتاحية : *Juglans regia*، الجوز ، *Aspergillus flavus*، الأفلاتوكسين، الزيوت الأساسية المسرطنة، *Azadirachta indica*