

PARTIE II

Dégradations en cours de stockage et moyens de préservation

Président de séance : N. NKOUKA

1

Evolution des pertes en matière sèche des grains dues à un ravageur secondaire : *Tribolium castaneum* (Herbst), coléoptère Tenebrionidae, lors de la conservation des céréales

K. BEKON*, F. FLEURAT LESSARD**

* *Laboratoire de recherche sur les insectes des denrées, ENSA 08, BP 35, Abidjan, Côte d'Ivoire*

** *Laboratoire de recherche sur les insectes des denrées, INRA, La Grande Ferrade, 33140 Pont de La Maye, France*

Résumé

Deux types d'insectes attaquent les grains et graines lors de leur stockage et de leur conservation en région tropicale :

1. Les ravageurs primaires, capables de s'attaquer à des grains sains et entiers. De nombreux travaux leur ont été consacrés. Ils ont abouti quelquefois à des formules permettant d'estimer les pertes en matière sèche. Ainsi les dégâts causés par *Sitophilus oryzae* et *Rizopertha dominica* ont pu être quantifiés.

2. Les ravageurs secondaires ne peuvent déprécier les grains qu'à partir des entrées ou trous faits par les ravageurs primaires. La perte en matière sèche due aux attaques de ces ravageurs secondaires peut être difficilement estimée. Les références bibliographiques sont rares à leur sujet et souvent imprécises.

L'objet de notre étude est de rechercher une technique fiable d'estimation des pertes des grains dues à un ravageur secondaire, *Tribolium castaneum*, à la suite d'attaques de *S. oryzae* (ravageur primaire). Ces deux insectes sont présents dans les diverses régions chaudes et humides d'Afrique.

L'étude a consisté à réaliser en conditions contrôlées une infestation primaire dans quatre lots de 200 g de blé par un nombre de couples variables de *S. oryzae* (6 à 48 couples).

Au bout d'un mois nous avons tamisé les grains pour ressortir tous les insectes et procédé à une désinsectisation par fumigation au bromure de méthyle pour tuer toutes les formes cachées.

Après cette attaque primaire, dont le but essentiel est de trouer les grains, les lots ont été uniformément réinfestés par 20 couples de *T. castaneum* pour une durée d'un mois.

Les résultats obtenus nous ont montré que contrairement à la perte globale en matière sèche, il existe une bonne corrélation positive entre les quantités de frass(*) dégagées par *T. castaneum* (Y) et les dégâts causés par les insectes primaires qui ont vécu sur ce même milieu (X), l'équation de la régression est :

$$Y = 0,0452X - 0,113$$

Ainsi nous pensons qu'une simple pesée des quantités de frass dégagées par une espèce de ravageurs secondaires s'alimentant seule sur des grains préalablement troués, peut être utilisée comme une technique fiable d'estimation des pertes de grains.

(*) Frass : mot anglo-saxon désignant les particules pulvérulentes résultant de l'activité alimentaire des insectes dans les grains.

Introduction

Les grains et graines subissent de multiples agressions de la part des insectes lors du stockage et de la conservation [4, 7, 8]. Ces insectes nuisibles peuvent être répartis en deux groupes :

— les ravageurs primaires, capables de s'attaquer à des grains intacts; de nombreux travaux ont été consacrés à ce type de ravageur [6, 11]. Certains de ces travaux ont abouti à des formules permettant d'estimer les pertes en matière sèche des grains. Ainsi les dégâts causés par *Sitophilus oryzae* et *Rhizopertha dominica* ont pu être quantifiés par certains auteurs [3]

— les ravageurs secondaires ne peuvent déprécier les grains qu'à partir des ouvertures leur servant de voies d'accès, occasionnées par les ravageurs primaires [1, 2]. Les pertes en matière sèche dues aux attaques de ces ravageurs sont difficilement estimables, et n'ont fait l'objet que de rares travaux.

Le but de cette étude est donc de rechercher une technique fiable d'estimation des pertes dues à *Tribolium castaneum* (ravageur secondaire) à la suite d'attaques de *S. oryzae* (ravageur primaire). Ces deux insectes sont souvent présents dans un même biotope dans diverses régions chaudes et humides d'Afrique.

Matériels et méthodes

Matériels

Matériels biologiques. Des jeunes adultes âgés de 10 jours d'une souche de laboratoire de *T. castaneum* et de *S. oryzae*, élevés depuis au moins 10 générations, ont été utilisés.

Chambre de fumigation. Une salle spécialement aménagée pour la fumigation au bromure de méthyle a servi de cadre pour la désinsectisation des milieux.

Milieux alimentaires. Les grains de blé tendre (variété TOP) originaire de la région bordelaise, donnant des résultats plus homogènes que le maïs, ont servi de milieu nutritif.

Méthodes

Après contrôle de leur teneur en eau, quatre lots de 200 g de blé sont infestés par un nombre croissant de *S. oryzae* (6, 12, 24 et 48 couples) en 5 répétitions.

Après 14 jours de ponte, les grains sont tamisés pour éliminer les parents du milieu. A la fin du cycle de développement de la 1^{ère} génération fille, le «frass*» est pesé, et la perte en matière sèche des grains ayant servi de milieu alimentaire aux insectes est déterminée.

Ces différents lots de grains de blé sont ensuite désinsectisés par fumigation au bromure de méthyle à la dose de 32 g/m³ pendant 24 heures [5, 9]. Cette opération vise à tuer les adultes qui n'auraient pas pu être séparés des grains par simple tamisage, ainsi que toutes les formes juvéniles cachées de la 2^e génération. Quarante-huit heures après la fumigation, les grains sont tamisés à nouveau et les teneurs en eau mesurées. Les lots de grains ayant subi l'attaque du ravageur primaire sont réinfestés uniformément par 20 couples de *T. castaneum* pour une durée de 40 jours (la durée d'un cycle complet de développement) sur les grains.

La perte due à *T. castaneum* est estimée comme étant la différence de masse de matière sèche avant et après l'infestation par l'insecte et par comparaison au témoin non infesté.

La perte en gramme est exprimée par la formule suivante

$$PS_1 - PS_2$$

avec $PS = \frac{100 - te}{100} \times M$

te₁ ou te₂ = teneurs en eau (%) de l'échantillon témoin (1), infesté (2)

M₁ ou M₂ = masses en grammes de l'échantillon témoin (1), infesté (2)

PS₁ = masse de matière sèche dans le lot témoin

PS₂ = masse de matière sèche dans le lot infesté par l'insecte (*Sitophilus* ou *Tribolium*).

Résultats

S. oryzae

Les pertes globales en matière sèche dues à ce ravageur primaire en fonction des taux d'infestation (6 à 48 couples) passent en moyenne de 7,98 à 34,51 g (Tableau I).

Tableau I. Pertes globales en grammes de matière sèche occasionnées par *S. oryzae* au bout d'un cycle de développement sur 200 g de blé à 30° C et 70 % H.R.

Répétitions Taux d'infestation	1	2	3	4	5	Moyenne x	Intervalle de confiance au seuil de 5 %
6 couples	9,74	7,38	6,5	10,9	5,4	7,98	± 2,87
12 couples	12,31	9,86	10,8	13,53	11,8	11,66	± 1,74
24 couples	20,64	18,98	19,26	20,41	21,41	20,14	± 1,25
48 couples	36,63	33,92	29,85	33,03	37,51	34,18	± 3,79

(*) Frass : mot anglo-saxon désignant les particules pulvérulentes résultant de l'activité alimentaire des insectes dans les grains.

Le test non paramétrique de Kruskal Wallis donne $\chi^2 = 17,33$ avec 3 degrés de liberté, ce qui indique l'existence de différences significatives entre les traitements.

Nous observons également une très bonne corrélation positive entre le nombre d'insectes et la perte globale en matière sèche; l'équation de la régression linéaire (fig. 1) calculée est la suivante :

$$y = 0,6259 X + 4,4095$$

X = nombre d'insectes

y = pertes en matière sèche/200 g.

Le coefficient de corrélation $\gamma = 0,98$ (xxx) est hautement significatif à 18 degrés de liberté (fig. 1). Il existe également une très bonne corrélation entre le nombre d'insectes et le poids du «frass». L'équation de la régression est la suivante :

$$y = 0,0614 X - 0,0035$$

X = nombre d'insectes

Y = le poids du «frass» en g/200 g de blé.

Le coefficient de corrélation $\gamma = 0,983$ (xxx) est très hautement significatif à 18 degrés de liberté (voir Tableau II).

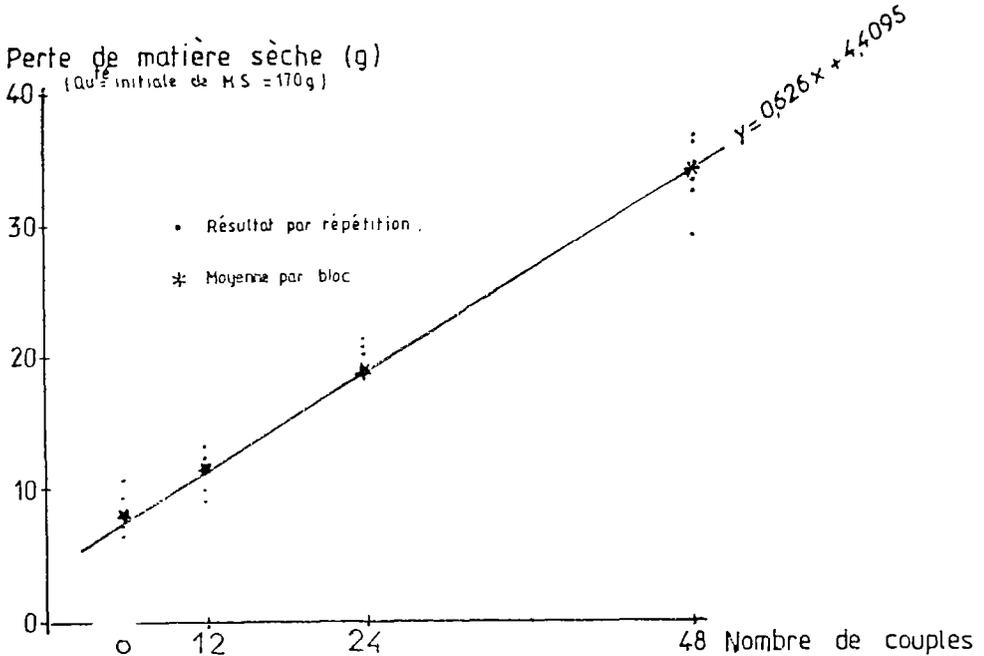


Figure 1. Relation entre le taux d'infestation par *S. oryzae* de 200 g de blé et la perte en matière sèche après une génération.

T. castaneum

Les masses de grains de blé varient entre 159 et 194 g par lot, après le développement de *S. oryzae*. Les pertes globales en matière sèche causées par *T. castaneum* varient en moyenne de 0,080 à 2,24 g (Tableau III).

Pertes en matière sèche des grains dues à un coléoptère

Tableau II. Pertes en matière sèche causées par *S. oryzae* et exprimées à partir de la masse (g) de «frass» dégagée.

Répétitions Taux d'infestation	1	2	3	4	5	Moyenne	Intervalle de confiance au seuil de 5 %
6 couples	0,5	0,3	0,3	0,4	0,15	0,33	± 0,16
12 couples	0,8	0,7	0,6	1,0	0,6	0,74	± 0,20
24 couples	1,4	1,4	1,5	1,5	1,8	1,52	± 0,20
48 couples	3,1	2,7	2,5	3,1	3,2	2,92	± 0,37

Tableau III. Pertes globales en grammes de matière sèche occasionnées par 20 couples de *T. castaneum* au bout d'un cycle de développement et sur du blé préalablement infesté par *S. oryzae*.

Répétitions Taux d'infestation	1	2	3	4	5	Moyenne	Intervalle de confiance au seuil de 5 %
6 couples	0,10	0,02	0,04	0,22	0,03	0,08	± 0,10
12 couples	0,12	0,02	0,25	0,28	0,28	0,19	± 0,14
24 couples	0,05	0,25	0,31	0,59	0,03	0,24	± 0,28
48 couples	2,54	2,13	2,65	2,42	1,48	2,24	± 0,58

Dans nos conditions expérimentales, les pertes en matière sèche dues à *T. castaneum* ne sont sensibles que sur les lots de grains préalablement infestés par 48 couples de *S. oryzae* (ce qui représente un taux d'infestation important : environ 4 g de grains/couples d'insectes primaire). Le poids du «frass» après infestation de *T. castaneum* varie en moyenne entre 0,16 et 2,11 g (Tableau IV).

Tableau IV. Pertes en matière sèche, exprimées à partir de la masse (g) de «frass» dégagée, à la suite d'une infestation uniforme de 20 couples de *T. castaneum* au bout d'un cycle de développement et sur du blé préalablement infesté par *S. oryzae*.

Répétitions Taux d'infestation	1	2	3	4	5	Moyenne	Intervalle de confiance au seuil de 5 %
6 couples	0,25	0,15	0,10	0,20	0,10	0,16	± 0,8
12 couples	0,35	0,50	0,40	0,80	0,60	0,53	± 0,22
24 couples	0,90	0,55	0,45	1,30	0,90	0,82	± 0,41
48 couples	2,20	1,85	2,50	2,30	1,70	2,11	± 0,40

Les quantités de «frass» sont proportionnelles au nombre de couples qui ont vécu préalablement dans le milieu. Il existe une bonne corrélation entre le taux d'infestation et la quantité de «frass». L'équation de la régression (fig. 2) est la suivante :

$$Y = 0,0452 X - 0,113$$

$$Y = \text{Masses de «frass»}$$

$$X = \text{Taux d'infestation initiale.}$$

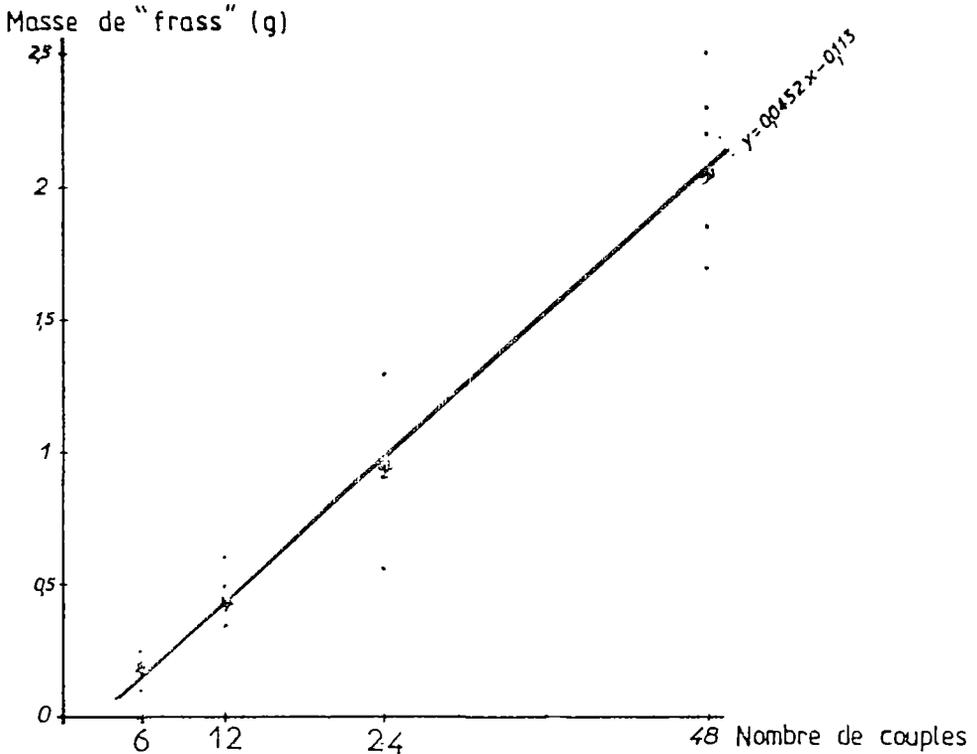


Figure 2. Masse de «frass» produite par 20 couples de *T. castaneum*, souche Abj, dans des lots de blé de 175 g environ préalablement infestés par *S. oryzae* pendant une génération.

Le coefficient de corrélation $\gamma = 0,947$ (xxx) est très hautement significatif à 18 degrés de liberté (fig. 2).

Discussion

Les pertes en matière sèche causées par *S. oryzae* sont élevées. En effet, pour une infestation initiale de 6 à 48 couples (ce qui correspond à environ 1 couple pour 4 à 34 g de blé) et pour seulement une durée d'un cycle de développement, ces pertes varient entre 7,98 et 34,51 g. Cela laisse envisager également qu'au bout de plusieurs générations successives elles seront encore plus importantes.

Si l'on considère la valeur de la perte moyenne la plus élevée qui est de l'ordre de 34,51 g, nous constatons que cette perte est de 17 % de la masse de 200 g de blé infesté. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Campbell et Sinha, qui rapportaient en 1976 qu'après un cycle de développement de *S. oryzae*, les grains de blé subissaient une perte pondérale de 17 %. Par ailleurs de nombreux spécialistes de la FAO, notamment Schulten et Adams [11]; ont estimé la perte pondérale due à l'alimentation des larves et des adultes de cet insecte. Selon Ratcliffe [10], *S. oryzae* adulte consomme par semaine un poids de blé égal à son propre poids, alors que *R. dominica* (autre ravageur primaire partageant souvent le même biotope) consomme par semaine une quantité 5 à 6 fois supérieure à son poids.

S'il est vrai que beaucoup de travaux ont été consacrés à l'estimation des pertes pondérales des grains par des ravageurs primaires (*S. oryzae*, *R. dominica*, etc.) ce n'est pas encore le cas pour les ravageurs dits secondaires. Chez ces derniers, nous avons montré que les dégâts ne sont possibles que sur les grains brisés ou entiers préalablement troués par des ravageurs primaires [1].

Ainsi les résultats présents, qui montrent que la perte en matière sèche est proportionnelle aux taux d'infestation primaire, confirment les résultats obtenus en 1984. Toutefois ces pertes sont faibles pour le ravageur secondaire dans les conditions expérimentales actuelles (durée du cycle de développement, taux d'infestation relativement peu important).

Compte tenu des pertes qualitatives causées par l'insecte (présence d'exuvies, de reste du corps dans le milieu, sécrétion d'une persistante odeur nauséabonde, etc.) [12], pertes pouvant s'amplifier sur une longue période, et de l'ampleur des dégâts quantitatifs, il faut considérer *T. castaneum* comme un insecte véritablement nuisible qui doit faire l'objet d'une lutte rationnelle pour protéger les grains lors du stockage et de la conservation.

Conclusion

Tribolium castaneum, déprédateur secondaire dans la succession des insectes ravageurs des denrées stockées, ne peut s'attaquer qu'à des grains préalablement troués. Dès lors, il est difficile d'estimer les dégâts causés par cet insecte. Le présent travail, mettant en relief l'importance des masses de «frass» dégagées par le ravageur secondaire dans le milieu infesté, contribue à l'approche de cette estimation.

Cette méthode expérimentale reste néanmoins à éprouver dans le cas d'infestation due à d'autres ravageurs secondaires.

Références

1. Bekon K. (1984). Biologie du développement et comportement alimentaire de *Tribolium castaneum* (Herbst) (*Coleoptera tenebrionidae*) sur les semences des céréales. Thèse de Doctorat-ingénieur ENSA de Rennes. Université de Rennes I, 167 p.
2. Bekon K. (1986). Contribution à la connaissance de quelques insectes ennemis des grains et graines cultivés en Basse Côte d'Ivoire. Rapport atelier régional-recherche entomologique dans les écosystèmes forestiers africains. 61-64.
3. Campbell A, Sinha RN. (1976). Damage of wheat by feeding of some stored product beetles. J. Econ Entomol; 69, 1 : 11-13.
4. Campbell A, Sinha RN. (1978). Bioenergetics of graminivorous beetles, *Cryptolestes ferruginens* and *Rhizopertha dominica* (*Coleoptera : cucujidae* and *bostrychidae*). Can J Zool; 56 : 624-633.
5. Ducom P. (1978). Traitement par fumigation. In : Scotti G. *Les insectes et les acariens des céréales*, Coéd AFNOR-ITCF, 138-168.
6. Farjan MA. (1983). Biodynamique en laboratoire de 2 espèces ravageurs du blé dur : le charançon du Riz : *Sitophilus oryzae* L. (*Coleoptera curculionidae*) et le capucin des grains (*Rhizopertha dominica* (*Coleoptera-Bostrychidae*) avec application aux conditions de conservation en Afrique du Nord. Mémoire ingénieur Agronome Institut Agronomique Vétérinaire Hassan II, Rabat, 99 p.
7. Fleurat Lessard F. (1982). Les insectes et les acariens. In : Multon JL, *Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés*. Ed. Lavoisier, Paris, Vol. 1, 394-436;
8. Jacobson RJ, Thomas KP. (1981). *Rhizopertha dominica* (F) (*Coleoptera : Bostrychidae*) in stored home-grown barley. Plant Pathol; 30 : 54-55.

9. Monro HAU. (1970). La fumigation en tant que traitement insecticide. Et Agr FAO Rome; 19 : 2, 398 p.
10. Ratcliffe FN. (1941). The importance of *Rhyzopertha dominica* as a pest of wheat under wartime storages conditions. J Council Sci Res Aust; 14 : 143-180.
11. Schulten GM, Adams JM. (1978). Losses caused by insects, mites and microorganisms 83-93. In : *Postharvest grain loss assesment methods..* AACC St Paul Minnesota USA, 193 p.
12. Sokoloff A. (1974). The biology of *Tribolium*. Oxford University Press, London, 610 p.

2

Conservation des céréales humides sous atmosphère contrôlée. Limites théoriques et pratiques

B. DIAWARA, D. RICHARD-MOLARD, B. CAHAGNIER

INRA, Laboratoire de Microbiologie et Technologie Céréalières, rue de la Géraudière,
44072 Nantes Cedex, France

Résumé

Dans leur très grande majorité, les processus d'altération qui provoquent la dégradation des grains et graines pendant le stockage font intervenir l'oxygène de l'air. Qu'il s'agisse d'attaque par les insectes sur grains secs ou de développement des microorganismes sur grains récoltés plus humides, le stockage sous atmosphère anoxique doit par conséquent améliorer la conservation.

Des résultats d'expériences récentes réalisées en semi-grandeur sur grains humides (maïs, riz), sont présentés et discutés dans la perspective d'applications à plus grande échelle.

Les limites théoriques du principe de la conservation sous gaz neutre sont précisées, notamment vis-à-vis des microorganismes des grains et l'effet inhibiteur du gaz carbonique est analysé : au-delà de teneurs en eau correspondant à des activités thermodynamiques de l'eau (a_w) de l'ordre de a_w 0,90, des processus microbiens de fermentation apparaissent, fermentation alcoolique par des levures appartenant aux genres notamment *Hyphopichia*, *Candida* ou fermentation lactique par des *Lactobacillus*. Les modifications biochimiques et technologiques qui en résultent sont d'autant plus intenses (ou se produisent d'autant plus rapidement) que la teneur en eau est plus élevée.

Après quelques années (suivant la température moyenne de stockage) les modifications sont irréversibles mais l'acidification du grain n'exclut pas l'utilisation en alimentation humaine. Il est cependant nécessaire de se situer dans une optique « produits nouveaux » qui sous-entend des adaptations des technologies de transformation et une approche nouvelle du consommateur.

L'application dans le domaine de l'alimentation des animaux est déjà une réalité en Europe de l'Ouest, et des résultats obtenus en silos métalliques et en silos plastiques sont comparés.

Introduction

Quelques que soient les zones géographiques de production et les conditions climatiques avant et pendant la récolte, les grains et graines sont toujours porteurs de nombreux microorganismes très divers, bactéries, levures et moisissures [4, 13] dont l'activité dépend essentiellement de l'humidité du grain et, dans une moindre mesure, de la température si l'on considère les méthodes de conservation habituelles en silos non étanches, sous atmosphère non contrôlée.

La conservation des grains secs en silos souterrains étanches à l'abri de l'air et de la vapeur d'eau est une technique de stockage qui remonte à la plus haute antiquité [12]. La réalisation technique de structures effectivement étanches présente des difficultés considérables et ce n'est en fait que depuis la seconde moitié du 19^e siècle que sont réalisées dans le monde, des expérimentations à caractères scientifiques sur la conservation des grains secs et surtout humides [8, 13, 17].

D'une manière générale, la plupart des auteurs s'accorde à reconnaître un effet dépressif des atmosphères appauvries en oxygène, d'une part sur les insectes infestant habituellement les grains stockés et d'autre part sur les microorganismes, et notamment les moisissures qui se développent aux dépens des produits stockés. Si jamais le CO₂ peut être stabilisant vis-à-vis des microorganismes, Calderon, Banks [1], Paster *et al.* indiquent que les concentrations nécessaires seraient en tout état de cause considérablement plus élevées que celles qui permettent une inhibition satisfaisante des populations d'insectes.

Les indications recueillies quant à l'amplitude des phénomènes et les limites théoriques et pratiques du procédé pour des conservations à plus ou moins long terme et à différentes humidités, varient considérablement suivant les auteurs. Ces divergences de point de vue peuvent s'expliquer par exemple par des différences au niveau des critères de qualité testés sur les grains stockés et qui varient selon les pays et les coutumes, mais aussi au niveau des méthodes d'analyses mises en œuvre.

Au cours de l'étude présentée ici, des essais préliminaires réalisés au niveau laboratoire en cellule strictement étanches, sur des grains de riz paddy à différentes humidités sont comparés aux essais réalisés en semi-grandeur en cellules métalliques contenant du maïs à 21 % H₂O s.h. . Les résultats obtenus permettent de préciser les limites du système et de définir les quantités critiques d'oxygène pour la croissance des micromycètes.

Matériels et méthodes

Protocoles expérimentaux

Conservation en cellules étanches de 10 litres

Des grains de riz paddy sont réhumidifiés par addition des quantités d'eau nécessaires pour l'obtention de différentes activités d'eau (0,76; 0,86; 0,90 et 0,95) puis mises en équilibre pendant 5 jours à 5 °C. Les lots sont répartis en fonction des activités de l'eau dans 5 cellules en altuglass de 10 litres à raison de 6,2 kg de grains par cellule. Elles sont ensuite fermées

* s.h. : substance humide

hermétiquement puis placées dans une chambre thermostatée à 25 °C. Les grains sont au préalable surcontaminés artificiellement par une souche d'*Aspergillus flavus* toxigène afin de tester la biosynthèse possible d'aflatoxine B₁ sous de telles conditions.

L'évolution des concentrations d'O₂ et de CO₂ dans l'atmosphère intergranulaire est suivie afin d'effectuer un prélèvement (correspondant à l'ouverture d'une cellule) au moment précis où la pression artérielle de l'O₂ s'annule dans les cellules. Ceci est mis en évidence à l'aide d'un mesureur de type para-magnétique préalablement étalonné sur l'air ambiant et sur de l'azote pur. Les mesures du CO₂ sont effectuées avec un appareil à absorption infra-rouge, de type L.H. La fréquence des mesures effectuées est d'autant plus grande que l'activité de l'eau est élevée.

Stockage en cellules étanches de 1,5 m³

Une série de 5 silos étanches d'une capacité de 1,5 m³ chacun a été spécialement réalisée pour cette étude. Les silos sont équipés de capteurs de température et de pression et comportent des prises d'air permettant la mesure des pressions résiduelles d'O₂ et de CO₂.

Les silos sont remplis avec des grains de maïs à 21 % s.h. de teneur en eau, à raison de 1,3 m³ de grains par silo, puis fermés par un couvercle équipé d'un joint souple, boulonné sur le silo. L'orifice de vidange, ou bas des silos, est obturé de la même manière. Les 5 silos sont placés à l'abri du soleil, dans un hangar, où la température évolue dans une fourchette se situant entre 10 et 25 °C, durant l'expérimentation.

Des prélèvements sont effectués à cinq reprises correspondant chacune à l'ouverture d'un silo, respectivement après 1, 3, 5, 9 et 11 mois de stockage. Des analyses de laboratoire sont réalisées sur chaque prélèvement comme dans les essais en cellule de 10 litres.

Réalisation d'atmosphères contrôlées

Le confinement est obtenu par fermeture hermétique de 5 micro-silos contenant des grains de riz humides ($a_w = 0,95$) ou par balayage avec du CO₂ (100 %).

Les atmosphères expérimentales réalisées visent à préciser d'une part le comportement de la microflore des grains conservés au laboratoire vis-à-vis de l'O₂ et, d'autre part, le rôle éventuel du CO₂ sur l'écosystème.

Dans les micro-silos (5 par série d'essai) étanches d'une capacité de 10 litres, des quantités d'O₂ exactement connues sont journellement introduites dans les cellules en mélangeant des gaz (H.P.) en proportions convenables et en purgeant chacune des cellules avec ces mélanges par un balayage de quelques minutes (2 à 3 minutes). Selon les essais, l'O₂ est accompagné d'une forte proportion soit de CO₂, soit de N₂.

La figure 1 représente le schéma expérimental pour les différents essais réalisés.

Méthodes d'analyses

Teneur en eau des grains

Le dosage de l'eau est effectué selon la norme française AFNOR NF VO3-707 par séchage à l'étuve à 130 °C de 5 g de grains pendant 2 heures pour le riz paddy broyé et pendant 4 heures pour le maïs broyé.

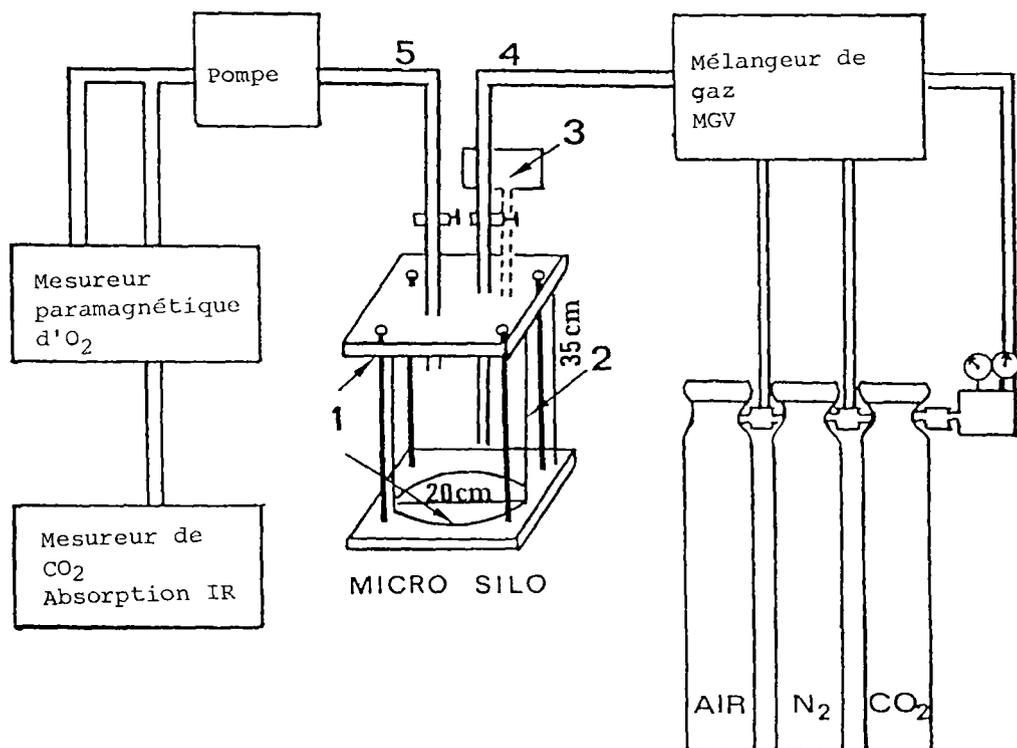


Figure 1. Représentation schématique du dispositif expérimental

1. joint vitron O-Ring; 2. altuglass (paroi transparente du micro-silo); 3. manomètre; 4. entrée de mélanges gazeux expérimentaux; 5. sortie de mélanges gazeux expérimentaux.

Analyses microbiologiques : dénombrement des bactéries et des micromycètes

Les dénombrements sont faits par la méthode des suspensions-dilutions, à partir de 100 g de grains broyés dans 400 ml de diluant à l'aide d'un mixer Waring-Blendor d'un litre en suivant les modes opératoires recommandés par les normes AFNOR VO8-201 et V18-301.

Les lactobacillus sont dénombrés sur milieu de Rogosa, Mitchell et Wiseman; les bactéries mésophiles aéro-anaérobies facultatives sur gélose numération (PCA).

Les micromycètes (levures et moisissures) sont dénombrés sur deux milieux gélosés. L'un à 20 g d'extrait de malt par litre, le second à 50 g d'extrait de malt et 50 g de chlorure de sodium par litre, ce dernier favorisant la mise en évidence d'espèces xérotolérantes; 0,1 g de chloramphénicol sont ajoutés à ces milieux de culture afin d'éliminer le développement des bactéries.

Dosages de l'ergostérol et de l'aflatoxine B₁

Dosage de l'ergostérol dans les grains

Le dosage de l'ergostérol a été pratiqué systématiquement suivant une technique d'extraction et de dosage par chromatographie liquide haute performance et adaptée par Cahagnier *et al.* [4]. Il permet une approche quantitative intéressante de la croissance mycélienne.

L'ergostérol est extrait par 200 ml de méthanol [3]; à partir de 50 g de grains broyés, saponifiés par la potasse alcoolique, puis extraits du mélange par l'éther de pétrole (60-80 °C), purifiés et analysés par HPLC.

Dosage de l'aflatoxine B₁.

La technique d'extraction et de purification employée est celle décrite par la norme AFNOR V18-200. Le dosage est effectué par HPLC et par détection en fluorescence à 362 nm.

Résultats et discussions

Influence de l'activité de l'eau des grains sur la vitesse de consommation de l'oxygène intergranulaire

La figure 2 montre les résultats obtenus sur le riz paddy en micro-silos. La vitesse de disparition de l'oxygène intergranulaire dépend très largement de l'humidité des grains et si une anoxie totale est obtenue en quelques heures à a_w 0,95 (25 % H₂O/substance humide), il faut trois jours pour atteindre cet état à a_w 0,90 (20 % H₂O s.h.). A a_w 0,86 (17 % H₂O s.h.) l'a-naérobiose est effective après 9 jours tandis que pour des grains secs à a_w 0,70 (14,5 % H₂O/s.h.), seule une faible diminution de la pression partielle d'oxygène est observée après trois mois.

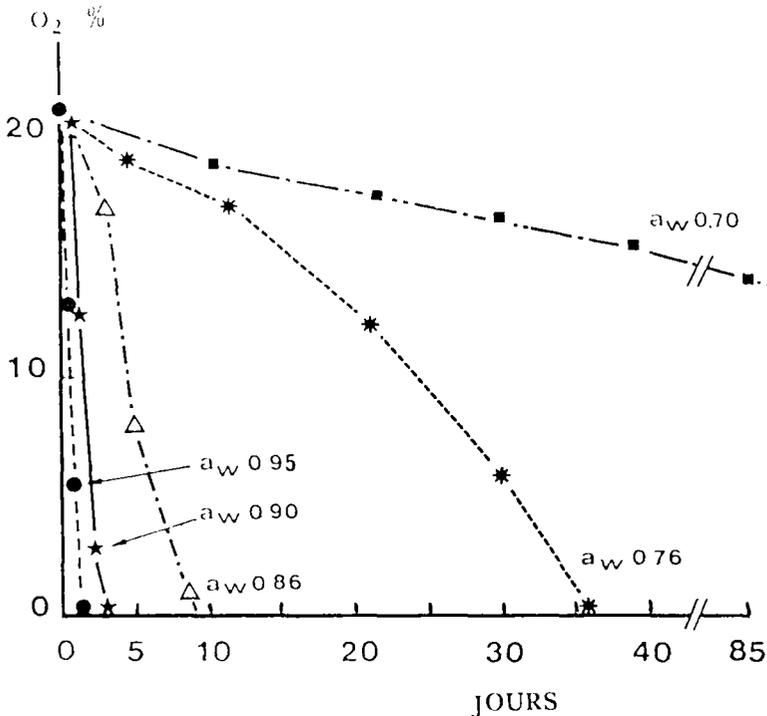


Figure 2. Vitesse de consommation de l'O₂ en fonction de l'a_w des grains de riz.

La figure 3 montre la production de CO₂ observée au cours de ces essais dans les cellules contenant des grains à a_w supérieure à 0,90 montrent l'existence de processus fermentaires dégageant du CO₂ en excès par rapport aux concentrations attendues de la respiration de l'O₂ intergranulaire. On sait qu'une proportion non négligeable du CO₂ produit peut s'adsorber sur les grains suivant l'état physique et l'environnement gazeux mais ces phénomènes, non étudiés ici, ne peuvent conduire qu'à une sous-estimation des fermentations.

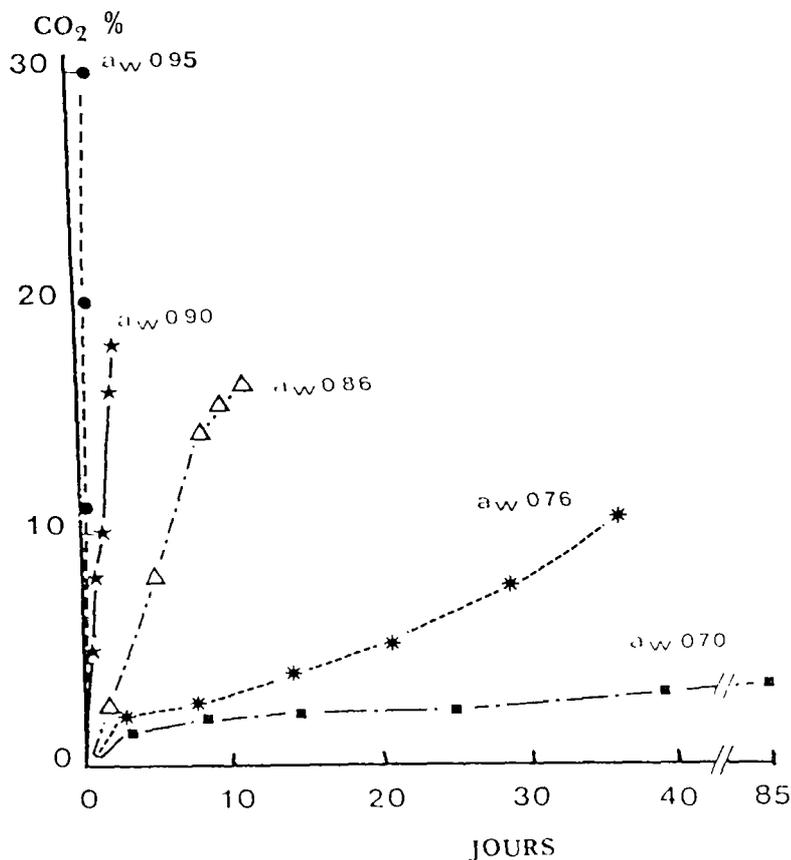


Figure 3. Production du CO₂ en fonction de l'a_w des grains de riz.

Sur le plan microbiologique, seule une multiplication significative des bactéries lactiques sur les grains les plus humides a été observée, la population globale passant de 10⁵ à 10⁷ en une vingtaine d'heures. Aucune autre activité microbienne et notamment aucune formation de mycotoxine n'a été observée, quelle qu'ait été la cinétique de consommation de l'oxygène.

En remettant à l'air libre les micro-silos à a_w comprise entre 0,85 et 0,95, on observe à nouveau une remise en anoxie aux vitesses décrites par la figure 1 et toujours sans conséquences microbiologiques. La conclusion, à ce stade, est que tant que l'oxygène se réduit à celui initialement contenu dans le silo, le grain est préservé des moisissures et des levures et quelques ouvertures du silo en début de stockage restent sans conséquence.

Evolution de la microflore des grains humides conservés en atmosphère confinée à a_w 0,90

Tenant compte des données de la littérature qui fixe à a_w 0,90 environ la limite inférieure pour le développement des bactéries lactiques [13] (Leistner, 1976), et considérant les moisissures comme des aérobies stricts, nous avons réalisé une conservation en anoxie à a_w 0,90 avec du maïs, pour vérifier la faisabilité du procédé. Mené en semi-grandeur sur des silos métalliques de 1,5 m³ de capacité, l'expérience s'est déroulée sur 11 mois et a donné les résultats microbiologiques résumés par la figure 4.

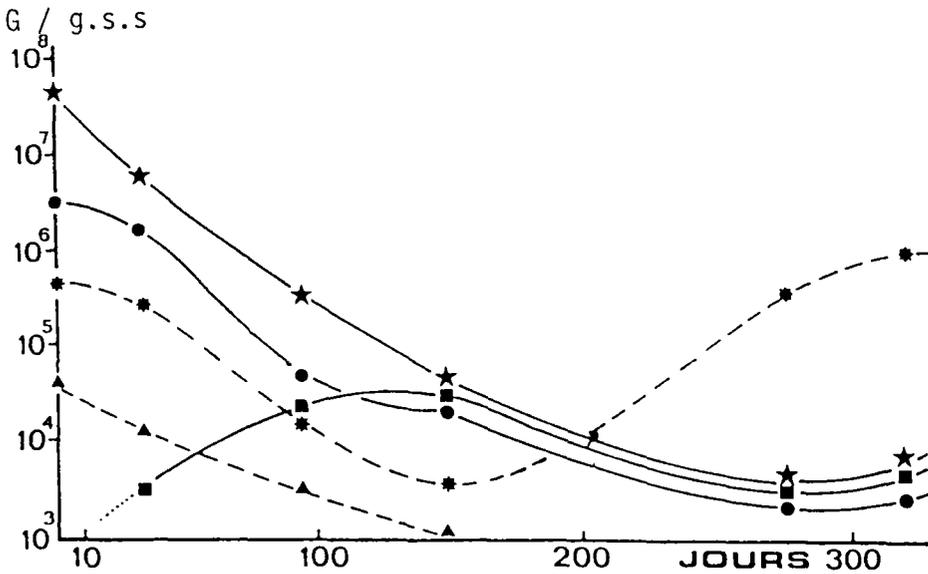


Figure 4. Evolutions microbiologiques du maïs conservé en silos métalliques étanches à a_w 0,90. (★) Bactéries mésophiles. (●) Anaérobies facultatives. (✱) Levures. (■) Bactéries lactiques. (▲) Moisissures.

Comme attendu, l'anoxie est établie dans chacun des silos en 3 à 4 jours, ce qui montre que d'une céréale à l'autre et d'une échelle à l'autre (fig. 2), les cinétiques sont tout à fait comparables.

Les populations de bactéries mésophiles diminuent comme celles des levures et des moisissures et après 150 jours de conservation à l'abri de l'oxygène, les moisissures ne sont plus dénombrables. On notera un léger développement des *Lactobacillus* au cours des 3 premiers mois, développement qui, ajouté à l'inévitable période de fermentation alcoolique se produisant pendant les premiers jours, communique aux grains une odeur agréable de fermenté, odeur d'ailleurs en grande partie perdue si l'on sèche le grain par la suite.

Après 150 jours, à 17 °C de température, les populations microbiennes sont très réduites, la «demande microbologique en oxygène» également (le pouvoir germinatif des grains est perdu et les germes ne respirent plus). On observe alors un phénomène inattendu qui est celui du développement de populations de levures appartenant vraisemblablement au genre

Candida et qui paraissent remarquablement adaptées à l'écosystème très particulier que constituent les grains humides stockés en anaérobiose [9, 19]. Ces observations posent évidemment la question de la tolérance de ces genres et espèces à l'anoxie et aux activités de l'eau réduites, et les résultats qui ont été obtenus dans cette direction sont exposés ci-après.

Il faut cependant noter que sur ces grains une évaluation de la qualité nutritionnelle a été réalisée sur poulets, lors d'essais conduits pendant 4 semaines en utilisant comme témoin le même grain de maïs maïs séché à 15 % H₂O s.h. dès la récolte.

Ainsi que le montre le Tableau I, la valeur nutritionnelle du grain conservé 5 mois sous atmosphère anoxique à a_w 0,90 serait légèrement supérieure à celle du témoin. Après 11 mois de conservation, le grain conservé humide montre toujours une efficacité alimentaire satisfaisante.

Tableau I. Mesure de la valeur nutritionnelle des grains. Essais sur poulet.

Régime	Stockage 5 mois		Stockage 11 mois	
	T	E	T	E
Matière sèche ingérée (g.M.S.)	2 092,1 (± 39,4)	2 179,6 (± 31,6)	1 988,3 (± 40,4)	1 907,9 (± 44,9)
Gain de poids (g)	1 016,7 (± 21,2)	1 119,5 (± 17,1)	1 022,5 (± 28,4)	1 011,2 (± 26,2)
Efficacité alimentaire	0,496 (± 0,004)	0,514 (± 0,003)	0,514 (± 0,001)	0,530 (± 0,047)

Evolutions microbiologiques de grains humides en présence de traces d'oxygène ou sous anaérobiose stricte

Les essais en anaérobiose stricte ont été conduits sur riz à a_w 0,95, soit en atmosphère simplement confinée, soit sous CO₂ pur en micro-cellules de 10 litres dont l'étanchéité à l'oxygène est vérifiée au préalable. Les essais dans lesquels des traces d'oxygène sont volontairement introduites pour simuler une fuite dans des silos hermétiques ont été conduits à a_w 0,95 et 0,87. La quantité minimale d'oxygène qui peut être introduite quotidiennement par la méthode de purge employée est de 5 µg d'O₂ par gramme de grain. Pour comparaison un essai parallèle a été conduit avec 10 µg O₂/gramme/24 heures. La figure 5 montre les effets de ces traces d'oxygène combinées à l'a_w des grains. Sur grains très humides, une multiplication très importante des *Lactobacillus* est obtenue, alors que ces bactéries ne peuvent se développer à a_w 0,87. A a_w 0,95, comme dans l'essai sur maïs maïs beaucoup plus rapidement, des levures se multiplient activement sur les grains. Trois espèces ont été identifiées : *Cryptococcus hungaricus* (Zsolt) Phaff et Fell, *Candida sp* d'une part (dénommées «autres levures» sur les figures) et *Hyphopichia burtonii* (Boidin) Von Arx, d'autre part. A une a_w de 0,87, les deux premières espèces ne sont plus capables de se maintenir et seule *Hyphopichia burtonii* qui manifeste donc une tendance à la xérotolérance se multiplie significativement.

La figure 6 obtenue en anaérobiose totale à a_w 0,95 démontre la dépendance des levures vis-à-vis de l'oxygène et confirme celle des moisissures. La stabilité des teneurs en ergostérol confirme l'absence de croissance de micromycètes dans ces conditions et, au passage, on

Conservation des céréales humides sous atmosphère contrôlée

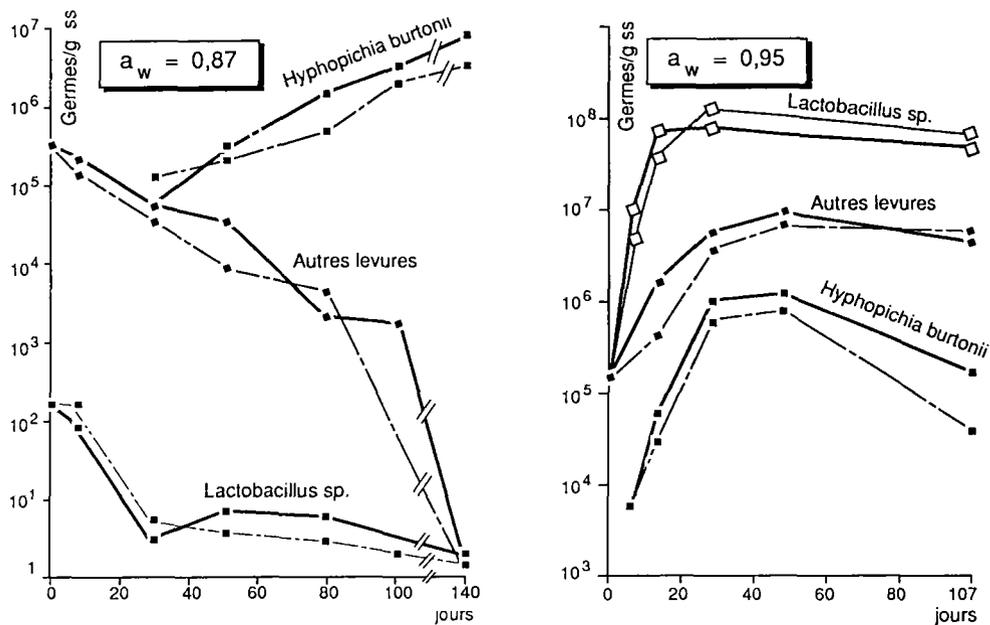


Figure 5

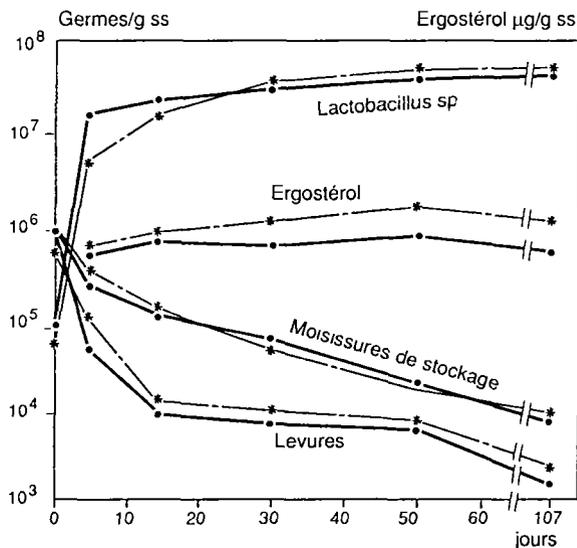


Figure 6

peut noter l'intérêt du dosage *a posteriori* de ce composé qui prouve une infection passée même lorsque tout germe revivifiable a disparu.

Cette expérience qui ne montre pas d'influence particulière des atmosphères de CO_2 pur sur la vitesse de régression des micromycètes, démontre le caractère aérobic strict des levures,

que nous qualifions ici de «levures de stockage», mais souligne le fait que des quantités d'O₂ extrêmement faibles suffisent à leur développement. Il est probable que l'émergence de ces levures dans l'essai sur maïs en semi-grandeur, après 5 mois de conservation (fig. 4) tient plus au fait qu'à ce stade, la plupart des consommateurs d'oxygène (germes, microorganismes divers) ont disparu et que les faibles quantités (non mesurables) qui pénètrent inévitablement sont entièrement disponibles pour ces populations remarquablement adaptées.

Effet de l'introduction des quantités croissantes d'O₂ sur l'évolution des populations microbiennes

Si le rôle que peut jouer le gaz carbonique quant à la conservation des grains humides reste incertain, l'influence déterminante de l'oxygène paraît clairement démontrée et il n'est pas certain que dans l'état actuel des technologies, il soit possible de construire des silos ayant un degré d'étanchéité suffisant.

Pour examiner l'influence qu'aurait l'introduction de quantités d'oxygène plus importantes, une conservation a été réalisée sur riz paddy à a_w 0,90 (élimination du développement des bactéries lactiques) avec des introductions journalières d'oxygène de 5, 10, 40 et 60 µg d'O₂/g respectivement.

Les figure 7 montre l'évolution des conidies de moisissures et d'*Hyphopichia burtonii* sous ces régimes gazeux.

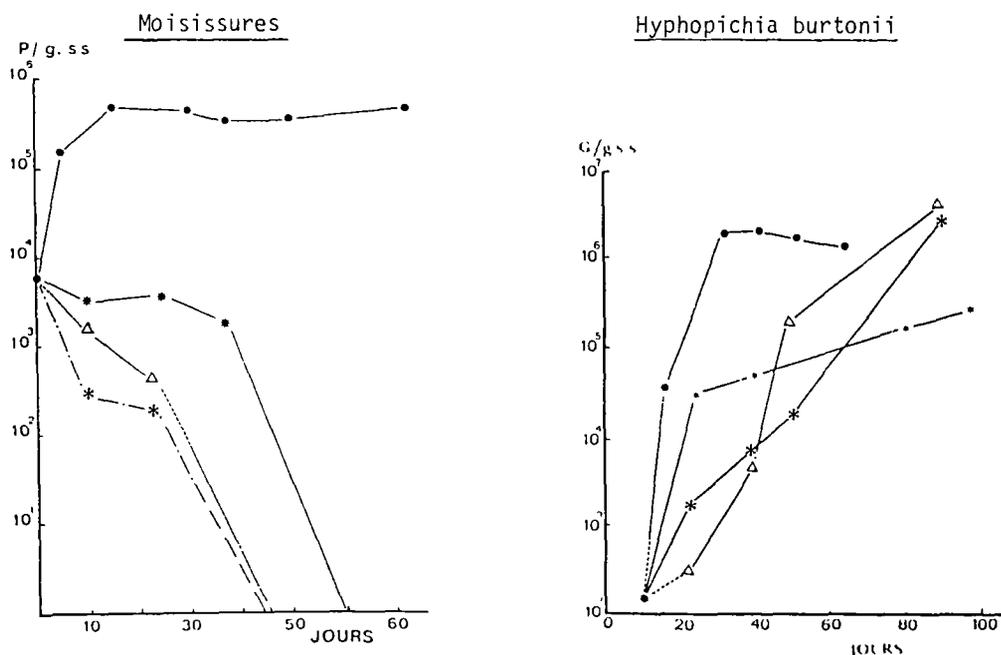


Figure 7. Evolution des micromycètes sur riz à 0,90 sous différentes quantités d'oxygène.

(●) = 60 µg d'O₂/g s/j (*) = 40 µg d'O₂/g s/j
 (Δ) = 10 µg d'O₂/g s/j (*) = 5 µg d'O₂/g s/j

Comme précédemment, *Hyphopichia* forme des blastospores dans tous les essais et d'autant plus vite et plus intensément que l'oxygène est plus disponible. Les moisissures en compétition restent par contre incapables d'assurer une conidiogenèse suffisante à moins de 40-60 µg d'oxygène par gramme de grain et par jour. A 60 µg O₂/g, un développement rapide de la sporulation est observé en début de stockage puis un régime stationnaire est atteint à 5.10⁵ conidies par gramme, régime qui traduit certainement la compétition entre levures et moisissures vis-à-vis de l'oxygène dans ces conditions. A ce stade, l'altération microbiologique reste faible si l'on en juge par les teneurs en ergostérol, mais est déjà visible. Cette quantité de 60 µg d'oxygène/g et par jour est donc sans doute déjà supérieure à ce qu'on pourra tolérer, à cette activité de l'eau, pour des conservations de ce type. On notera cependant que la souche d'*Aspergillus flavus* artificiellement introduite n'a produit aucune trace d'aflatoxine B₁ au seuil de 60 µg d'O₂/g/jour.

Conclusion

L'expérimentation à l'échelle pilote a montré la faisabilité du procédé à moyenne hydratation en prouvant la bonne qualité microbiologique, technologique et nutritionnelle des grains malgré un faible développement de levures de stockage imputable aux fuites du silo.

Jusqu'à des a_w 0,90 (ou plus si on envisage des conservations plus courtes), le procédé peut concurrencer très valablement les techniques utilisant des acides organiques ou le séchage, au moins pour certaines utilisations. La condition d'étanchéité est évidemment de toute première importance et la valeur de 40-50 µg d'O₂/g/jour ne doit pas être dépassée si l'on se contente d'une stabilisation des moisissures. Une étanchéité totale est nécessaire si l'on veut aussi bloquer le développement des levures «microaérotolérantes». A l'heure actuelle, il reste difficile de préciser si ces espèces peuvent ou non être utilisées pour créer, par fermentations contrôlées, des caractères organoleptiques nouveaux. Des tentatives récentes dans ce domaine (Flores-Galarza, 1985) permettent d'imaginer que, dans un avenir proche, l'industrie agro-alimentaire saura de mieux en mieux utiliser des grains conservés humides et ayant subi des fermentations contrôlées, pour créer des produits alimentaires nouveaux pour l'homme comme pour les animaux.

Références

1. Banks HJ. (1981). Effect of controlled atmosphere storage on grain quality. A review. *Food Technol*; 33 : 7, 335-340.
2. Banks HJ, Annio PC. (1980). Conversion of existing grain storage structures for modified atmosphere use. In : Shejbal J, ed. *Controlled Atmosphere Storage of Grain*. Elsevier Amsterdam, 461-473.
3. Cahagnier B. (1984). Contribution à l'étude de la sporulation, de la croissance mycélienne et de la biosynthèse d'ergostérol chez les moisissures des grains et graines au cours de la conservation. Thèse 3^e cycle. Université de Nantes.
4. Cahagnier B, Richard-Molard D, Poisson J, Desserme C. (1983). Evolution de la teneur en ergostérol des grains au cours de la conservation. Une possibilité d'évaluation quantitative et rapide de leur mycoflore. *Sci Aliments*; 3 : 219-244.
5. Christensen CH, Kaufmann HH. (1974). Microflora. In : Christensen CM, ed. *Storage of cereal grains and their products*. AACC, St Paul, Minnesota, pp. 159-192.

6. Forbes TJ. (1964). Some observations on the hermetic storage of undried barley and its use in pig feeding. *Agric Prog*; 40 : 55-67.
7. Gonen H, Calderon M. (1968). Changes in the microfloral composition of moist sorghum stored under hermetic conditions. *Trop Sci*; 10 : 2, 107-114.
8. Hyde MB, Oxley TA. (1960). Experiments on the airtight storage of damp grain : introduction, effect on the grain and the intergranular atmosphere. *Ann Appl Biol*; 48 : 4, 687-710.
9. Hyde MB. (1974). Airtight storage. In : *Storage of Cereal Grains*. AACC, St Paul, Minnesota, pp. 383-419.
10. Landers KE, Davis ND, Diener UL. (1967). Influence of atmospheric gases on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts. *Phytopathology*; 57 : 10, 1086-1090.
11. Multon JL, Sigaut F. (1982). Historique et prospective des technologies de stockage et de conservation des grains et graines. *Ind Agric Alim*; 9 : 1057-1171.
12. Poisson J. (1960). Conservation du grain en silos étanches. Introduction et étude historique. *Ann Technol*; 2 : 117-137.
13. Richard-Molard D. (1985). Stockage du maïs en atmosphère contrôlée. *Ind Agric Alim*; 5 : 435-411.
14. Richard-Molard D, Cahagnier B, Multon J.L. (1984). Pilot scale experiments on half-wet maize storage under airtight conditions : microbiological and technological aspects, In : Ripp BE ed. *Controlled atmosphere and fumigation in grain storage*. Elsevier, Amsterdam.
15. Richard-Molard D, Cahagnier B, Poisson J. (1980). Wet grains storage under modified atmospheres. Microbiological aspects. In : Shejbal J, ed. *Controlled atmosphere storage of grains*. Elsevier, Amsterdam, 173-182.
16. Rolando AFG, Glatz BA, Bern CJ, Van Fossen LD. (1985). Preservation of high-moisture corn microbial fermentation. *J. Food Prot*; 48 : 5, 407-411.
17. Shejbal J. (1979). Preservation of cereal grains in nitrogen atmosphere. *Res Recov Conservation*; 4 : 13-29.
18. Shejbal J, De Bois Lambert JN. (1982). Le stockage en atmosphère modifiée. In : Multon JL, Ed. *Conservation et stockage des grains et graines*. Lavoisier, Paris, pp. 772-800.
19. Teunisson DJ. (1954b). Yeasts from freshly combined rough rice stored in a sealed bin. *Appl Microbiol*; 2 : 215-220.

3

Les microorganismes fongiques saprophytes du maïs au cours de la conservation au Congo

C. MAKAMBILA

Département de Biologie et Physiologie Végétales. Faculté des Sciences. Université Marien Ngouabi, BP 69, Brazzaville, République Populaire du Congo

Résumé

Les dégâts enregistrés au cours de la conservation du maïs en République Populaire du Congo, sont principalement dus à deux types d'agents : les ravageurs, notamment les charençons, et secondairement, les microorganismes fongiques. Des isollements ont été réalisés sur un milieu de culture, à partir d'échantillons de grains de maïs prélevés dans les structures de stockage. Ces isollements ont permis d'identifier des champignons appartenant aux Ascomycètes (*Penicillium* et *Aspergillus*), aux Zygomycètes (mucorales) et aux Adélomycètes. Les facteurs favorisant le développement des microorganismes au cours de la conservation, aussi bien chez les paysans qu'à l'usine d'aliments du bétail, ont été étudiés. Ces facteurs sont en général : la température, l'humidité relative, l'absence d'un traitement phytosanitaire, l'état de propreté des structures de conservation...

L'action des microorganismes fongiques conduit à une dégradation qualitative du maïs destiné à la production d'un aliment du bétail. La qualité nutritive de celui-ci pose non seulement des problèmes au niveau des utilisateurs, mais elle contribue aussi à une réduction de l'activité d'élevage. Des améliorations devraient être apportées afin de réduire partiellement l'action des microorganismes fongiques au cours de la conservation. Celles-ci pourraient résulter d'une étude centrée sur une bonne connaissance des facteurs favorisant la propagation et le développement des microorganismes cités.

Introduction

Le maïs est une céréale dont la culture est très répandue en République Populaire du Congo. Sa transformation conduit à deux principaux produits qui interviennent dans l'alimentation humaine et animale. Il s'agit d'une pâte blanche obtenue à partir de grains de maïs écrasés au moulin après hydratation. Cette pâte entre dans l'alimentation humaine, principalement celle des nourrissons. Les autres produits obtenus après transformation sont utilisés dans l'alimentation animale.

Dans le premier cas, le maïs transformé provient directement des paysans, juste après la récolte ou après conservation dans les structures paysannes, notamment les claies et les paniers. Au contraire, le maïs dont la transformation conduit aux produits destinés aux animaux est conservé dans les silos. C'est au cours de cette conservation, et principalement dans les silos, que les agents fongiques saprophytes se développent et dégradent le maïs.

Nous nous sommes proposés en considérant les structures de conservation du maïs au Congo, notamment les silos de conservation :

- d'isoler et d'identifier les microorganismes fongiques saprophytes du maïs, présents dans les silos,
- et, secondairement, d'analyser les facteurs qui favorisent la propagation de ces microorganismes dans les structures de conservation du maïs.

Méthodes de conservation du maïs au Congo

Plusieurs méthodes de conservation sont couramment utilisées en milieu paysan. Le maïs est conservé principalement dans des paniers ou sur des claies (sortes d'étagères) installés dans les maisons, à côté ou au-dessus du feu qui en assure la dessiccation.

Paniers et claies sont construits à partir d'éclats de pétioles et de rachis du palmier à huile ou du palmier à raphia. Ces deux structures sont aussi dans d'autres régions préparées à partir des rotins obtenus des plantes appartenant au genre *Eremospatha*. Là encore, la dessiccation des grains est assurée par le feu.

Ces deux types de structures ne permettent de stocker que de faibles quantités de maïs.

Actuellement, de nouvelles mesures tendant à améliorer cette conservation ont vu le jour. Celles-ci se traduisent par l'installation de silos de conservation dans les chefs-lieux des régions productrices de maïs.

Les différentes méthodes qui viennent d'être citées et principalement les silos présentent un certain nombre de défauts qui de temps à autre favorisent le développement des microorganismes fongiques au cours de cette conservation. Ce sont : le taux d'humidité relative élevé de l'air présent dans les silos, la mauvaise ventilation du gaz carbonique à l'intérieur des silos et enfin le mauvais entretien de ces structures.

Méthodes de conservation. Pollution du maïs par les champignons

Les taux de pollution observés à partir de grains de maïs, conservés dans les trois structures citées ci-dessus, diffèrent selon le mode de conservation.

Les grains prélevés dans les claies et ensemencés sur un milieu de culture présentent de très faibles taux de pollution par les microorganismes fongiques. Les ensemencements réalisés à partir des grains de maïs provenant des paniers installés au-dessus des foyers ne permettent pas d'obtenir des champignons en culture, et mettent donc en évidence une absence de pollution des grains par les microorganismes fongiques.

C'est au contraire à partir des grains prélevés dans les silos que de nombreux champignons ont été isolés. Les résultats obtenus à partir des cultures réalisées montrent que le mode de conservation du maïs a une influence sur la pollution des grains par les microorganismes fongiques.

Identification des microorganismes fongiques

Méthode d'isolement

Les microorganismes sont isolés à partir de grains de maïs prélevés dans les silos. Les grains prélevés sont par la suite ensemencés dans des boîtes de Petri, à raison de 3 grains par boîte. Les boîtes contiennent un milieu de culture composé de cristomalt (10 g) de gélose ou Agar-Agar (15 g) et d'eau bidistillée (1 000 ml). Le milieu est autoclavé à 120 °C pendant 20 minutes puis réparti dans les boîtes de Petri, à raison de 20 ml par boîte. Avant que le milieu soit réparti dans les boîtes de Petri, 150 mg de streptomycine y sont ajoutés. Les boîtes de Petri ensemencées sont ensuite incubées à 28 °C dans l'obscurité pendant cinq jours, et les thalles différenciés sur le milieu sont observés au microscope.

Caractéristiques des thalles isolés

Trois groupes de thalles isolés. Ce sont :

— Des thalles appartenant à la classe des Ascomycètes et au genre *Aspergillus*. Ces thalles sont caractérisés par un mycélium filamenteux, ramifié et cloisonné. L'appareil de reproduction asexuée est constitué par des rameaux de conidiophores. Chaque conidiophore se termine par une tête globuleuse garnie de phialides qui portent chacune un chapelet de conidies pulvérolentes. Les différents thalles d'*Aspergillus* isolés diffèrent les uns des autres par la pigmentation des organes de reproduction asexuée qui sont colorés en noir, vert, jaune et brun. La grande majorité des thalles isolés sont représentés par le genre *Aspergillus*.

— Des thalles appartenant aux Siphomycètes et principalement à la sous-classe des Zygomycètes. Il s'agit du genre *Mucor*, caractérisé par un thalle filamenteux ramifié et non cloisonné. L'appareil de reproduction asexuée est constitué par des conidiocytes pédicellés qui produisent des conidies directes. Ce sont des vésicules sphériques formées au sommet des pédicelles appelées conidiophores ou sporocystophores. Les pédicelles sont constitués par des filaments dressés dont le sommet se renfle et devient un sporocyste ou conidiocyste.

— Quelques thalles appartenant aux Ascomycètes et principalement au genre *Penicillium*. Ces thalles ont un mycélium filamenteux cloisonné et ramifié et leur appareil de reproduction asexuée comprend des conidiophores porteurs de phialides. Les conidies sont disposées en chapelet aux apex des phialides.

— Le quatrième groupe de thalles obtenus est constitué par quelques champignons à filaments cloisonnés mais que nous n'avons pas pu identifier en raison de l'absence de fructifications asexuées ou sexuées.

Origine des microorganismes isolés

Les microorganismes isolés et décrits ci-dessus (genres *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*) polluent le maïs soit avant la récolte dans les champs, soit au cours de sa dessiccation sur les claies, lorsqu'il est exposé à l'air. La présence dans de nombreux cas d'une humidité importante dans les grains de maïs permet un développement des microorganismes qui se poursuit plus tard dans les silos.

Facteurs favorisant le développement de microorganismes fongiques

L'étude des conditions dans lesquelles la conservation du maïs est réalisée a permis de reconnaître quelques facteurs responsables du développement des microorganismes dans les silos. Ce sont :

La température

Les valeurs de la température qui permettent un développement des *Aspergillus*, *Mucor* et *Penicillium* sont comprises entre 20 et 36 °C. L'intervalle de température favorable à un optimum de la croissance et de la différenciation des organes de reproduction asexuée se situe entre 24 et 28 °C. Ces températures sont couramment obtenues dans ces structures et expliquent le développement et la propagation de ces microorganismes.

L'humidité relative

L'humidité relative est un important facteur pour le développement des champignons. Elle intervient aussi bien pour le développement du thalle que pour la germination des organes de propagation cités ci-dessus. Les taux d'humidité relative de l'air présent dans les silos sont souvent supérieurs à 50% et permettent le développement des champignons. Ces valeurs élevées sont souvent obtenues dans les silos construits en tôle, par l'effet de la condensation, ou encore par une mauvaise étanchéité des joints qui laissent s'infiltrer les eaux de pluies à l'intérieur des silos.

Mauvais entretien des structures de conservation

Deux types de silos sont installés au Congo. Des silos en fer et d'autres en tôle ondulée. Pour le premier type, la ventilation est faite au gaz carbonique, et pour le second, à l'air. Dans certains cas, un mauvais entretien du système de ventilation favorise la propagation des microorganismes fongiques dans les silos.

Absence d'un traitement fongique avant la conservation du maïs

Au Congo, le maïs ne subit aucun traitement avant sa conservation aussi bien en milieu paysan que dans les silos. Ceci favorise une fois de plus le développement des microorganismes fongiques.

Conclusion

La conservation du maïs dans les silos pose actuellement des problèmes au Congo. En plus des dégâts dus aux Coléoptères, il faut ajouter ceux qui sont dus aux microorganismes fongiques. Toutes ces actions entraînent une dégradation du maïs et celle-ci a pour conséquence une baisse de la qualité des produits obtenus par la transformation des grains, aussi bien destinés à l'alimentation humaine qu'animale.

La production d'aliments pour les animaux d'une qualité correcte paraît être actuellement l'un des souhaits les plus exprimés par les éleveurs. L'obtention de cette qualité nécessite un certain nombre de mesures dont quelques-unes devraient consister à améliorer les conditions de conservation du maïs dans les silos.

4

Intérêt du mélange deltaméthrine + organo-phosphorés pour la protection des céréales stockées dans les pays tropicaux

J. DUGUET

Roussel UCLAF, 163, avenue Gambetta, 75020 Paris, France

Résumé

La deltaméthrine est un insecticide pyréthrinoïde utilisé seul ou synergisé, efficace contre les principaux ravageurs des grains. Ses caractéristiques sont différentes des insecticides déjà commercialisés pour la protection des grains.

— Elle a une activité résiduelle généralement supérieure à 1 an.

— Elle est très efficace sur *Rhizopertha dominica*, *Sitotroga cerealella*, *Corcyra cephalonica*, *Prostephanus truncatus*, *Trogoderma granarium*. Les charançons et, principalement, *Sitophilus zeamais*, réapparaissent les premiers dans les grains traités à la deltaméthrine.

— Elle est synergisée par le butoxyde de pipéronyl alors que dans l'association avec les organo-phosphorés ceux-ci ont leur activité retardée par le synergiste.

— On a remarqué que certaines espèces résistantes au malathion manifestaient une sensibilité accrue à la deltaméthrine.

Du fait des spectres d'activité complémentaires, le mélange deltaméthrine + organo-phosphorés présente certains avantages économiques. Selon les objectifs souhaités ce mélange peut avoir des proportions différentes mais, en général, ces proportions restent voisines de 0,5 ppm de deltaméthrine + 5 ppm de fenitrothion ou de chlorpyrifos méthyl ou de pirimiphos méthyl, pour une protection de 8-10 mois dans les pays chauds.

Introduction

Les pertes après récoltes préoccupent depuis très longtemps tous les pays tropicaux; leur importance est d'autant plus grande que les ravageurs impliqués se trouvent dans des conditions de développement optimales : 30 à 32 °C et 80 % d'humidité relative. Les fumigants utilisés avec succès ont une efficacité totale mais aucune rémanence. Les organo-phosphorés sont très efficaces contre certaines espèces, telles que les charançons du genre *Sitophilus*, mais se montrent insuffisants contre les capucins *Rhizopertha dominica* (F.) et *Prostephanus truncatus* (Horn). De plus leur activité est de courte durée sur *Sitotroga cerealella* (Oliv.), *Corcyra cephalonica* (Stn), *Trogoderma granarium* (Everts) et les bruches du genre *Callosobruchus*. Bien que *Sitophilus* sp soit le principal ravageur, les organo-phosphorés ne peuvent pas assurer la protection du maïs et du riz, principales céréales vivrières de la zone tropicale, plus de 6 mois dans les régions où prolifèrent ces ravageurs [1].

Les pyréthrinoïdes et, plus particulièrement la deltaméthrine (DTM) connue sous l'appellation K-Othrine grain, sont proposés dans de nombreux pays comme nouveaux insecticides pour la protection des denrées. La deltaméthrine est un insecticide complet à large spectre d'activité doté d'une activité résiduelle très longue, de plusieurs années dans certains cas. Mais ces deux qualités sont obtenues avec un prix de revient souvent plus élevé que celui des organo-phosphorés. Dans un but de compétitivité, on a recherché à développer l'association deltaméthrine + organo-phosphorés.

Caractéristiques comparées de la deltaméthrine et des organo-phosphorés

Spectre d'activité

La deltaméthrine est efficace à une dose inférieure à 1 mg/kg (ppm), sur *Callosobruchus maculatus* (F.) et *C. chinensis* (L), *S. cerealella*, *C. cephalonica*, *Cryptolestes* sp. *Carpophilus hemipterus* (F). Elle est très efficace contre *R. dominica*, *P. truncatus*. Parmi les autres ravageurs, la protection contre les attaques de *Sitophilus* sp. nécessite au minimum une dose d'application supérieure ou égale à 1 ppm, et dans les pays équatoriaux, *S. zeamais* est plus exigeant (fig. 1) : Von Berg et A. Biliwa [2] au Togo ont trouvé qu'il fallait 2 ppm pour obtenir une durée de protection supérieure à 10 mois.

Les ravageurs des grains ont une sensibilité aux organo-phosphorés différente selon l'espèce. Les charançons sont les plus sensibles. Le seuil d'efficacité est souvent inférieur à 1 ppm. *Oryzaephilus surinamensis* (L) est détruit avec des doses de l'ordre de 4 ppm, alors que *Tribolium* sp et *Callosobruchus* sp. nécessitent déjà des doses plus élevées si l'on veut maintenir pendant plusieurs mois l'efficacité insecticide. *S. cerealella* et *T. granarium* sont très tolérants et *R. dominica* et *P. truncatus* sont difficilement contrôlés aux doses utilisées, même les plus élevées.

Coulon [3] estimait qu'il fallait 5 à 6 fois plus de deltaméthrine ou de pirimiphos méthyl pour contrôler *T. confusum* (J. Duval) que *S. Granarius*. Si l'adulte de *T. confusum* est tolérant aux insecticides sa larve est plus sensible.

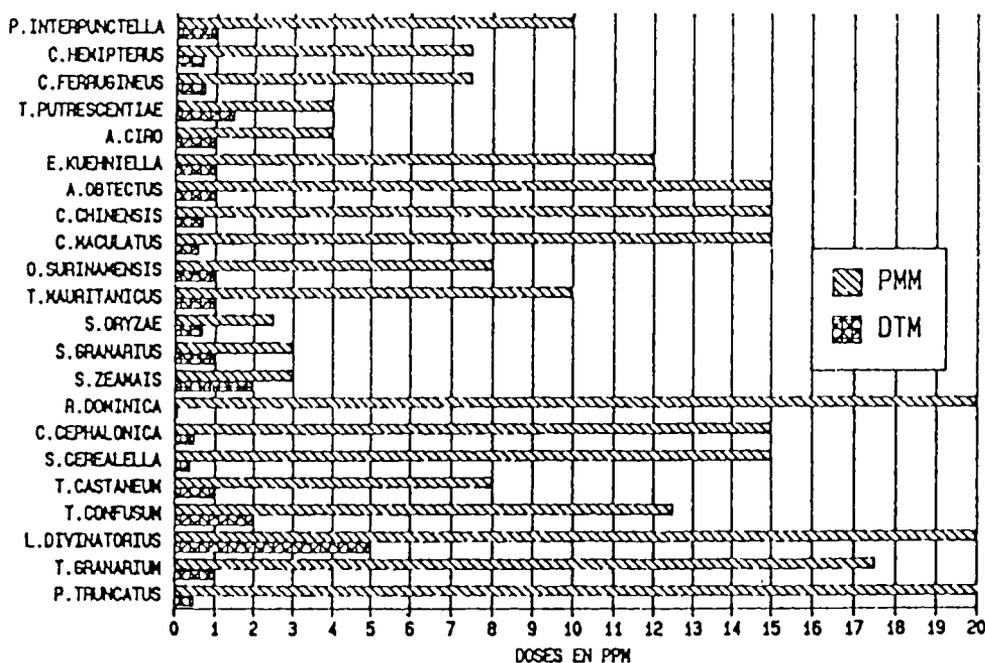


Figure 1. Doses en ppm qui assurent 100 % de contrôle pendant 6 à 8 mois dans les pays chauds.

Activité résiduelle et demi-vie

Les analyses d'insecticides en Australie sur blé tendre par Bengston [4], en Tanzanie sur maïs, par Mushi [5], en Zambie sur maïs par Mwiinga et Mainga [6] (fig. 2), etc., font apparaître, après les pertes normales au moment du traitement, une dégradation dans le temps très lente pour la deltaméthrine et variable pour les organo-phosphorés selon la température et la teneur en eau du grain.

Selon Noble [7], la demi-vie de la deltaméthrine est de 28 mois à 25 °C pour un blé à 12 % de teneur en eau du grain et 9 mois à 35 °C et 15 % de teneur en eau. En conséquence, la dose de deltaméthrine dans les pays équatoriaux chauds et humides est généralement fixée à un niveau plus élevé.

Caractéristiques propres à une association deltaméthrine + organo-phosphorés (OP)

Objectif technique de l'association

L'objectif est double :

1) associer à la deltaméthrine un organo-phosphoré à une dose suffisante pour détruire les charançons. Le seuil d'efficacité contre *Sitophilus* sp. du chlorpyrifos méthyl, du pirimiphos

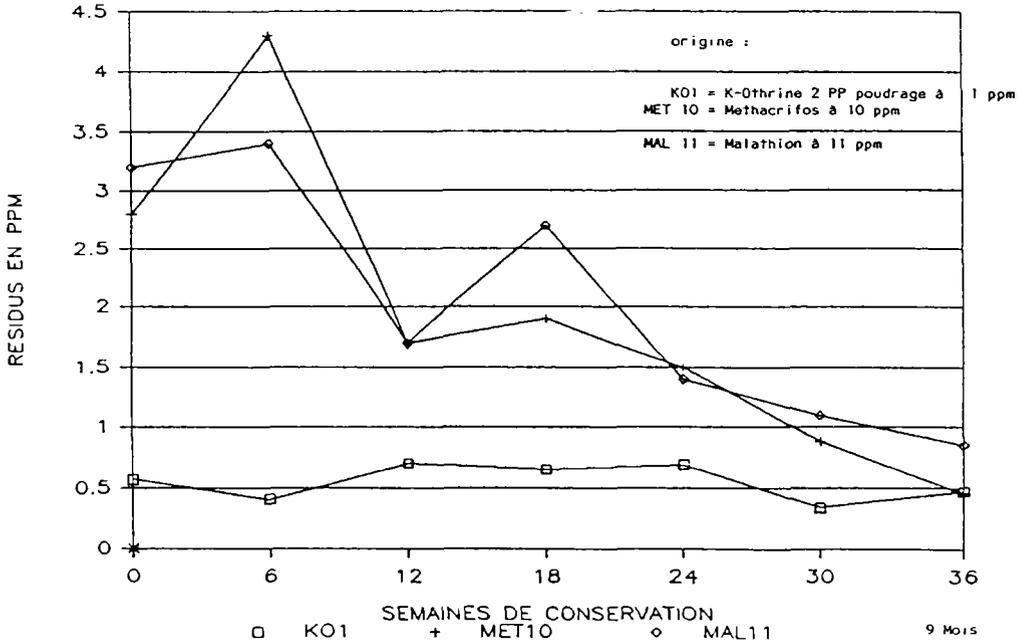


Figure 2. Résidus de deltaméthrine-malathion et méthacrifos sur maïs déspathé en Zambie en 1986.

méthyl, du fenitrothion et du malathion, est inférieur à 1 ppm, mais plus le temps de stockage est long, plus cette dose doit être augmentée.

2) maintenir une dose de deltaméthrine suffisante pour protéger la céréale contre la plus large gamme d'espèces de ravageurs potentiels, excepté *Sitophilus* sp. Cette dose oscille autour de 0,5 à 0,75 ppm.

Le choix du ratio DTM/OP est primordial pour couvrir pendant un temps déterminé un spectre de ravageurs variable selon les pays.

La résistance

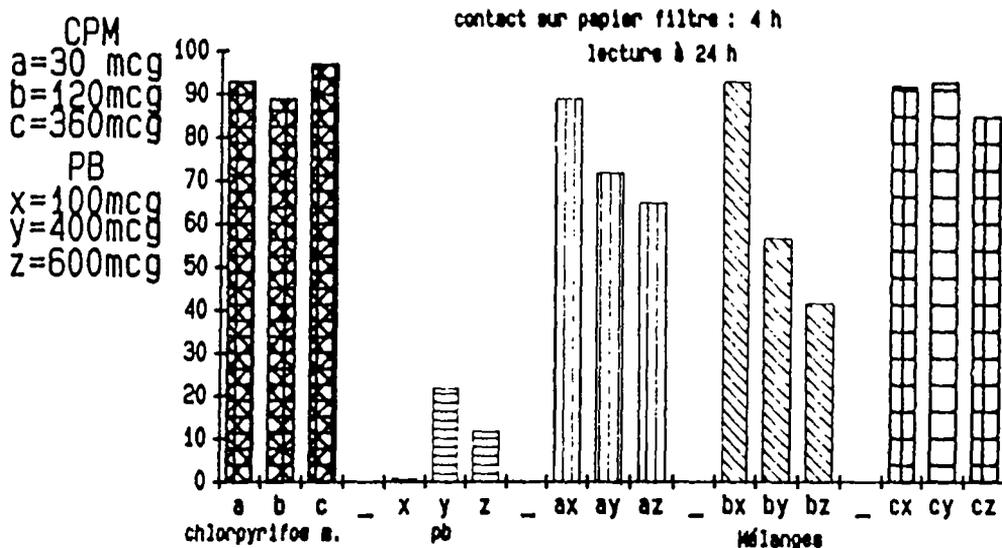
Bengston [4] a constaté en Australie que la résistance des souches locales de *S. oryzae*, *T. castaneum*, *R. dominica*, aux insecticides organo-phosphorés n'affectait pas les résultats de la deltaméthrine.

Piccolo de Villar [8], en 1987, a trouvé en Argentine qu'une race locale de *T. castaneum* résistante au malathion était dix fois plus sensible à la deltaméthrine qu'une espèce non-résistante. L'association paraît garantir l'efficacité sur les ravageurs actuellement résistants aux OP.

Influence du butoxyde de pipéronyl sur le mélange deltaméthrine + organo-phosphorés

Fleurat Lessard [9], en laboratoire, sur papier filtre et avec *S. zeamais*, a montré que le butoxyde de pipéronyl a un effet retardateur sur les organo-phosphorés (fig. 3) dans les

Rôle du PB dans l'association PB + CPM.



Rôle du PB dans l'association PB + OP

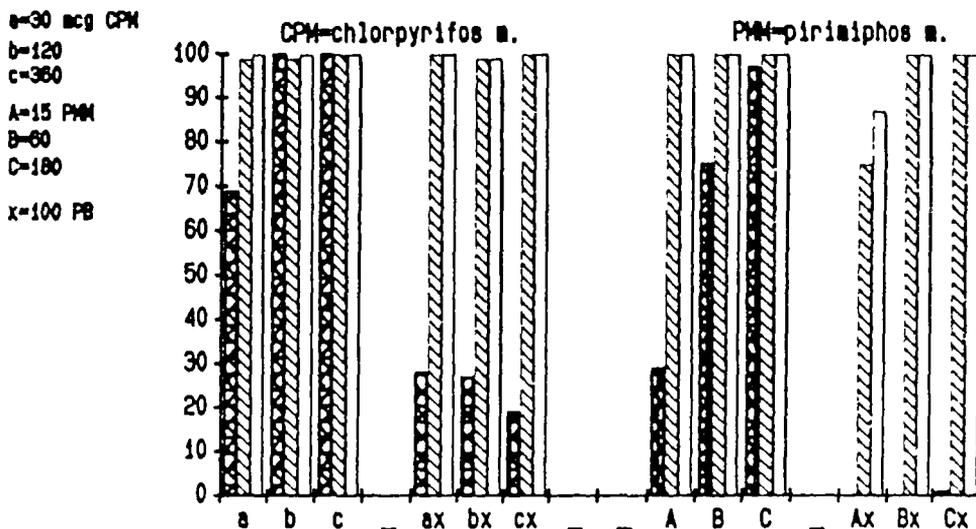


Figure 3. Effet retard du PB observé à 24 h sur chlorpyrifos méthyl (fig. du haut) et sur pirimiphos-méthyl (fig. du bas). L'effet retard disparaît aux doses de l'expérience dès le 4^e jour. Essai sur papier filtre.

comptages effectués 4 heures après le traitement. Cet effet retardateur disparaît dès le 4^e jour, durée à partir de laquelle les effets redeviennent comparables à ceux obtenus avec l'OP utilisé seul.

La synergie DTM/PB dans le rapport optimal 1/10 a été montrée par Coulon [10] sur *S. granarius*; il obtenait un coefficient multiplicateur de 4.

L'effet de synergie du butoxyde de pipéronyl avec la deltaméthrine et son effet retardateur sur les OP diminuent son intérêt dans l'association DTM et OP.

Le butoxyde de pipéronyl étant photolabile, son utilisation dans les poudres semble illusoire dans la mesure où le poudrage est effectué à l'air libre avant la mise en grenier.

Conclusion

La deltaméthrine est un insecticide qui a un spectre d'activité suffisamment large pour être utilisée seule. Toutefois, pour améliorer le prix de revient des traitements de protection des grains stockés, l'association avec un organo-phosphoré, pirimiphos méthyl ou chlorpyrifos méthyl ou même fenitrothion, apporte une amélioration à la lutte contre *Sitophilus* sp. due à l'OP principalement et une solution aux autres ravageurs et principalement, *R. dominica*, *P. truncatus*, *S. cerealella*, *C. cephalonica* avec la deltaméthrine. Le choix des doses de deltaméthrine et celle de l'OP dépend des ravageurs, du temps de protection demandé et des conditions climatiques des zones à traiter. Un dosage de l'association type : 0,5 ppm de deltaméthrine plus 5 ppm d'organo-phosphoré peut servir de base de départ. Des essais devront être entrepris dans chaque région pour déterminer les proportions les mieux adaptées aux exigences locales.

Références

1. Arcozzi L, Contessi A. (1986). Prova di efficacia di K-Othrine Grains CE (PA deltamethrin sinergizzato con piperonilbutossido) in confronto a malathion et pirimiphos-methyl su crumento tenero infestato da *Sitophilus granarius* L. e *Rhizopertha dominica* F. in nuove acquisizioni sulla protezione dei cereali immagazzinati. Incontro di aggiornamento tecnico, Bologna, 4 novembre 1986.
2. Von Berg A, Biliwa A. (1987). Lutte contre le grand capucin du maïs, *Prostephanus truncatus* Horn (Coleoptera Bostrichidae) dans les greniers traditionnels du Sud Togo sur maïs spathé. Service de la Protection des Végétaux, BP 1263 Lomé, Togo.
3. Coulon J. (1983). Sensibilité comparée de *Sitophilus granarius* et *Tribolium confusum* à diverses substances utilisables dans la désinsectisation de céréales stockées. In : *La conservation des céréales en France*. Les ATP de l'INRA; 1 : 35-147, INRA éd., Versailles.
4. Bengston M, Davies RAH, Desmarchelier JM, Henning R, Murray W, Simpson BW, Snelson JT, Sticka R, Wallbank BE. (1983). Organophosphorothioates and synergised synthetic pyrethroids as grain protectants on bulk wheat. *Pestic Sci*; 14 : 374-384.
5. Mushi AM, Nyakunga B, Marenga D. (1984). Field evaluation of different insecticides for control of the larger grain border, *Prostephanus truncatus* (Horn) under hot and humid conditions in eastern Tanzania. Ministry of Agriculture Pest Control Services, Arusha, Tanzania.
6. Mwiinga GM, Mainga A. (1986). Report on the "use of methacrifos and deltamethrin as storage insecticide" trial. MI ST, TTC Food Storage Officer Mt. Makulu.
7. Noble RM, Hamilton DJ, Osborne WJ. (1982). Stability of pyrethroids on wheat in storage. *Australia. Pestic Sci*; 13 : 246-252.

Protection des céréales stockées dans les pays tropicaux

8. Picollo de Villar MI, Wood E, Seccacini-Zerba E, Martelli E. (1987). Susceptibilidad exaltada a piretroides en una cepa de *Tribolium castaneum* resistente a malathion. Possible mecanismo. Centro de investigaciones de plagas et insecticidas. Zufriategui 4280 -U.
9. Fleurat-Lessard F, Serrano B. (1987). Effet retardateur du butoxyde de pipéronyl associé au CPM PMM et à l'etrimfos. (essai sur papier filtre). *Communication personnelle*.
10. Coulon J, Barres P. (1978). Résultats obtenus avec quelques pyrèthrinoïdes appliqués au charançon du blé. INRA Laboratoire de Phytopharmacie. Bull CILDA; 9 : 8-20.

5

Possibilités d'amélioration de la résistance variétale du riz aux insectes des stocks

B. SAUPHANOR

Institut des Savanes. BP 635, Bouaké, Côte d'Ivoire

Résumé

Des expérimentations sont conduites en Côte d'Ivoire pour établir la sensibilité de 80 variétés de riz, issues de différents groupes génétiques, à 3 ravageurs primaires des grains stockés : *Sitophilus zeamais*, *Rhyzoperta dominica* et *Sitotrogra cerealella*. Des relations sont recherchées entre la résistance à chacun de ces ravageurs et les caractéristiques des grains. Des échantillons de riz paddy et cargo sont constitués pour chaque variété et conditionnés en enceintes fermées pour être infestés artificiellement à partir de pontes ou d'adultes issus d'élevages de masse.

De fortes différences variétales sont observées sur le riz paddy pour la résistance à *S. zeamais* et à *R. dominica*, de nombreuses variétés étant exemptes d'attaque ou peu attaquées. Les différences sont plus faibles pour *S. cerealella* : aucune variété n'est exempte d'attaque et seules quelques-unes, essentiellement parmi les *O. glaberrima* et quelques variétés du groupe indica, présentent un bon niveau de résistance.

La résistance du riz paddy aux deux coléoptères est conditionnée essentiellement par le taux d'étanchéité des glumelles, la pénétration ne pouvant se faire qu'à la faveur de défauts de fermeture, soit cassure mécanique au moment du battage, soit mauvaise coaptation entre les deux parties de l'enveloppe. Ce caractère influe moins sur la résistance à *S. cerealella*, dont les larves ont la faculté de traverser des enveloppes intactes au niveau du pédoncule du grain. Une relation est observée entre la résistance à cet insecte et le taux d'égrenage, lui-même lié à la dureté du pédoncule.

Les caractéristiques du caryopse ont peu d'influence sur la résistance du riz à ces insectes. Il n'apparaît que peu de différences variétales pour la résistance du riz cargo aux trois insectes considérés. Comparativement au riz paddy, l'infestation par *S. zeamais* et *R. dominica* est très sévère, et l'infestation par *S. cerealella* est par contre modérée.

Introduction

Les premiers travaux d'amélioration variétale du riz pluvial conduits à Bouaké permirent l'obtention de cultivars de taille plus courte que les variétés traditionnelles, présentant une bonne productivité ainsi qu'une certaine rusticité. La vulgarisation de certaines d'entre elles se heurta cependant au refus des utilisateurs en raison des fortes pertes subies au stockage, ce qui désigna la résistance aux insectes des stocks comme critère à prendre en compte pour la sélection.

Les principaux ravageurs primaires des stocks de paddy en Côte d'Ivoire sont *Sitotroga cerealella* Ol., *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus zeamais* Mots. et *Rhyzoperta dominica* F. Conformément aux données fournies par la littérature, les variétés sans défauts de glumelles testées à Bouaké présentent un bon niveau de résistance à *Sitophilus* sp. Il apparaît plus difficile de relier la résistance à *S. cerealella* aux caractéristiques des grains. Nous conduisons dans ce but une série d'expérimentations où sont comparées des variétés issues de groupes génétiques différents. Pour chacune d'entre elles, les tests portent à la fois sur des échantillons de paddy et de riz décortiqué, afin de séparer les facteurs de résistance liés aux enveloppes des grains de ceux liés au caryopse.

Méthodes expérimentales

Matériel biologique

Variétés de riz. L'étude porte sur 84 variétés multipliées en culture pluviale à Bouaké. Pour 8 d'entre elles, on dispose également d'un échantillon multiplié à Bouaké en culture irriguée. Toutes sont testées sous forme de paddy mais seulement 60 d'entre elles sous forme de cargo, la quantité de grains disponibles pour les autres étant insuffisante. Après récolte et séchage, les échantillons sont ramenés à la teneur en eau de 13 % par addition d'eau (méthode définie par l'AFNOR), puis laissés pendant un mois en sachets ouverts dans la salle d'expérimentation pour qu'ils s'équilibrent avec l'air ambiant.

Insectes. Ils proviennent d'élevages de masse au laboratoire sur riz paddy.

Réalisation

Des échantillons de 20 g par variété, conditionnés en boîtes plastiques cylindriques, sont infestés avec 5 couples d'adultes, retirés au bout de 10 jours, pour *S. zeamais* et *R. dominica*, et avec une plaque de 20 œufs embryonnés pour *S. cerealella*. Trois répétitions sont réalisées dans chaque cas.

Observations

Sur les insectes. Elles portent sur le nombre et le poids des adultes au bout de 60 jours sur cargo et de 80 jours sur paddy pour les deux premières espèces, et, pour *S. cerealella*, sur le taux de survie de la première génération, donné par le rapport :

$$\frac{\text{nombre d'adultes de 1}^{\text{ère}} \text{ génération}}{\text{nombre d'œufs éclos}} \times 100$$

Sur les grains. Afin d'établir des relations avec la résistance aux insectes, différentes caractéristiques des grains font l'objet de mesures quantitatives.

Une partie d'entre elles est réalisée à Bouaké : taux de glumelles ouvertes ou cassées, taux d'égrenage à maturité, taux de paille, pilosité des glumelles, poids de 1 000 grains, longueur et largeur du caryopse, teneur en eau des grains avant infestation, étalement et gélification à la potasse.

Des échantillons sont envoyés aux laboratoires de technologie de l'IRAT et de l'IRRI, pour l'analyse de la composition biochimique des grains : teneur en amidon, taux d'amylose et d'amylopectine, protéines totales, teneur en lipides, taux de silice dans les glumelles.

Résultats

Des différences significatives de résistance variétale aux trois insectes considérés apparaissent au sein de l'échantillon, qu'il s'agisse du riz paddy ou du cargo (Tableaux I et II).

Les perturbations intervenues au niveau des salles d'élevage en fin d'expérimentation semblent avoir interrompu le développement des deux coléoptères sur paddy, se traduisant pour *S. zeamais* par l'absence de descendants sur de nombreuses variétés, et par un coefficient de variation supérieur à 50 % après transformation. On note cependant pour ces deux insectes la forte résistance des variétés du groupe G1 et de plusieurs variétés des groupes G4, G5 et type spécial. Le plus grand nombre de variétés sensibles se rencontre dans les groupes G2, périphériques de G3-G4, et «mal classés». Bien que la variabilité soit plus faible pour la résistance du paddy à *S. cerealella*, les variétés du groupe G1 et quelques variétés des groupes G4 et G5 sont les plus résistantes (Tableau I).

Bien qu'inférieures à celles observées sur paddy, les différences variétales sur riz décortiqué sont hautement significatives pour les trois insectes étudiés, différant en cela de la plupart des résultats cités dans la littérature. Les variétés du groupe G1 (*O. globerrima*) sont les moins sensibles (fig. 1, 2 et 3). Des variétés présentant un bon niveau de résistance sont rencontrées dans d'autres groupes variétaux mais, à l'état de cargo du moins, aucune n'est résistante aux trois insectes.

Le taux de développement de *S. zeamais* et de *R. dominica* est beaucoup plus élevé sur cargo que sur paddy, mais *S. cerealella* se développe mieux sur paddy que sur cargo. L'enveloppe n'étant pas consommée par cet insecte, on peut penser qu'elle sert d'appui aux larves pour pénétrer dans le caryopse.

Facteurs environnementaux

Pour quelques variétés, un échantillon supplémentaire provenant d'une multiplication en culture irriguée a été testé parallèlement aux échantillons pluviaux.

On constate que les échantillons de paddy provenant de la culture irriguée sont en moyenne deux fois infestés par *R. dominica* et *S. zeamais* que les échantillons pluviaux (fig. 4). Cet élément, déjà observé sur des expérimentations conduites à Bouaké, provient en partie du fait que le défaut de fermeture des glumelles, favorable à ces deux insectes, se manifeste surtout en culture pluviale. C'est particulièrement net pour IRAT 144 et IDSA 6, dont les taux de glumelles ouvertes sont respectivement de 20 et 12 % en culture irriguée, et de 44 et 58 % en culture pluviale (valeurs supérieures à celles enregistrées les années précédentes). Pour douardo précoce, c'est exceptionnellement l'échantillon irrigué, présentant un plus fort taux de

B. Sauphanor

Tableau I. Développement comparé de *S. cerealella* (% de survie de la première génération), *R. dominica* et *S. zeamais* (nombre d'adultes à 80 jours) sur différentes variétés de riz.

GROUPE	VARIETE	SITOTROGA		RHYZOPERTA		SITOPHILUS	
		PADDY	CARGO	PADDY	CARGO	PADDY	CARGO
61 (<i>O. glaberrima</i>)	BG 35	12	19	3	78	0	107
	BG 136	26	23	0	69.8	0	53
	BG 141	8	12	1	85	0	29
	BG 187	44		10.3		0	
	YG 275	21	13	2.3	105	0	74
	CG 18	29		1.3		0	
	CG 18 (i)	12		3		0	
	ZAKPALE	15		2.3		0	
62 (<i>Japonica</i>)	407 LUNG SHENG 1	83		72.3		26	
	482 CHIANAN 8	74		108.7		23	
	1141 TAINUNG CH 2			193.3		57.3	
	1144 KAOSHIUNG 66	75	68	5.7	195	0	143
	1158 OKAMINORI	78		63.7		1.3	
	1162 MIZUHATA-MOCHI	54		125.7		57	
	1778 NOIKU 1517	47		43		17.3	
	1779 NOIKU MOCHI	91		92.7		57.3	
63 (<i>Pluviaux</i>)	120 MORBEREKAN	46	53	6.3	103	0	220
	120 MORBEREKAN (i)	46		1		0	
	208 KOTO DUROSI	67	44	2	141	1.7	128
	245 YANCAOUSSA	55		14		1.7	
	265 YABOA	65		23		6.3	
	284 YASSI	64		9.7		0	
	345 PATEBLANC	77		31.7	168	12.3	110
	897 PENDDK	81		12.3		0	
	997 TJEMPOVELUT	44	50	9	170	3	164
	4054 PLANTAISOLU	73	63	5.3	159	0	121
	4115 LEBAY	73		22.3		8	
	64 (<i>Pluviaux</i>)	6 DS6	58	50	3.3	133	1
35 RT1031		36	37	11.3	119	0	103
84 GOUE		54	35	1.7	143	0.7	129
89 IGUAPE		54	59	9.3	117	0	106
89 IGUAPE (i)		67		3		0.7	
211 MALOKORD		68	60	7.7	140	0.7	108
322 PALAWAN		39	54	7	150	0	122
413 PRATAO		58	28	6.7	115	0	134
433 DS4		54	71	5.3	191	1	178
1772 PAYEIPATOSU		81	57	3.7	148	0.7	123
1880 CUTTACK 4		21	71	1	226	0	157
1926 DOURANODESECO		12	57	6.3	228	1.7	212
2570 MED NOI		57		19.3		0	
4067 HOHONO		49	60	4	104	0	59
4075 BETE 3		67	26	14.7	140	0	159
6432 IRAT 13		51	63	1.7	156	0	141
6444 IRAT 112		54	53	11.3	184	2.7	122

64 (suite)	8326 IRAT 177	55	42	4	171	0	78
	8506 IAC 164	70		44		19.3	
	8693 IRAT 170	39	42	0	158	0	137
	8788 IDSA 5	63	54	7	95	0.7	214
	8791 IDSA 8	22	34	14	113	0	139
	8793 IDSA 10	68	44	9	202	4	129
	8794 IDSA 11	83	72	18	115	1.3	133
	8795 IDSA 12	65		22		1.3	
	8797 IDSA 14	68		17.7		0	
	8798 IDSA 15	53		1.7		0	
65 (Indica)	900 BASMATI 370	93	70	6.3	108	1	86
	935 CARREON	39	36	3.7	129	0	94
	1165 IR 5 (i)	48	57	16.3	23	0	122
	1167 JAYA	18	63	63.3	158	0	108
	1167 JAYA (i)	23	56	0.7	61	0	111
	1306 NHTAA	48		13		0	
	2134 TEKSICHUT	60	53	9.7	119	0	153
	2142 PURSIGI	53		0		0	
	8808 BG 90 2	66		10.3		0	
	8820 BOUAKE 189	66	44	5	189	0	117
	8820 BOUAKE 189 (i)	67	74	7	83	0	179
63-64 PERIPH	4 902 TONI	57	67	6.7	170	0	154
	254 BANKD	71	53	6.3	138	3	155
	3362 KU 62	59	42	5	175	4	156
	6431 IRAT 10	67		11.3		0	
	6445 IRAT 133	77		28.7		11.3	
	7702 IRAT 144	69	44	63.3	175	71.7	132
	7702 IRAT 144 (i)	92	54	3.3	159	26.7	141
	8671 IRAT 156 (i)	70	29	58	72	10	167
	8682 IRAT 159	95	54	6	144	3	161
63-64-65 PERIPH	1 500A	60	62	8.7	154	0.7	179
	220 KPHNPOU	76	60	15.7	114	1	74
64-65 PERIPH	2531 HAO KHAO	88	66	1.3	166	0	125
TYPE SPECIAL	605 TS 123	79		17.3		2	
	2387 KHAOMONE TIA	52	71	9	213	0	125
	2564 KHAO YOUK	69		5.3		1.7	
	2578 ITAME	78	67	8.7	160	0	169
	3383 KU 86	37	60	1.3	116	0	137
	3401 KU 115	61	60	5.3	176	0.7	147
MAL CLASSES	27 R 67	68	53	1.3	170	0	143
	329 BATATTAIS	61	62	32.7	177	0.7	129
	336 DOURADO PREC	79	49	23	173	13.3	159
	336 DOURADO PREC (i)		54	63.7	119	31.7	181
	8559 ITA 116	58	57	4	151	1.7	158
	ITA 117	91	59	12	147	17	134
	ITA 135	81		9.3		0	
	8789 IDSA 6	61	67	28	189	24.3	190
	8789 IDSA 6 (i)	54	61	4.3	83	0	139

(i) : échantillon multiplié en culture irriguée

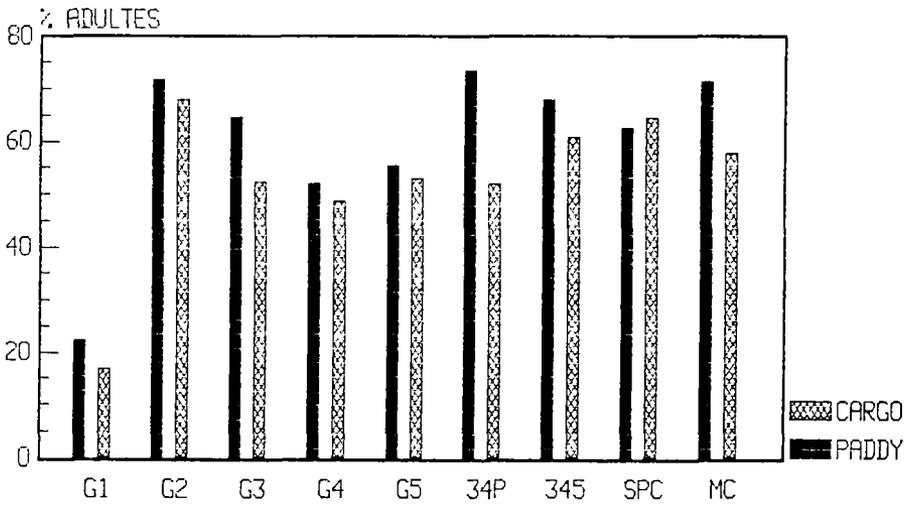


Figure 1. Taux de survie moyen de la 1^{ère} génération de Sitotroga sur différents groupes génétiques de riz.

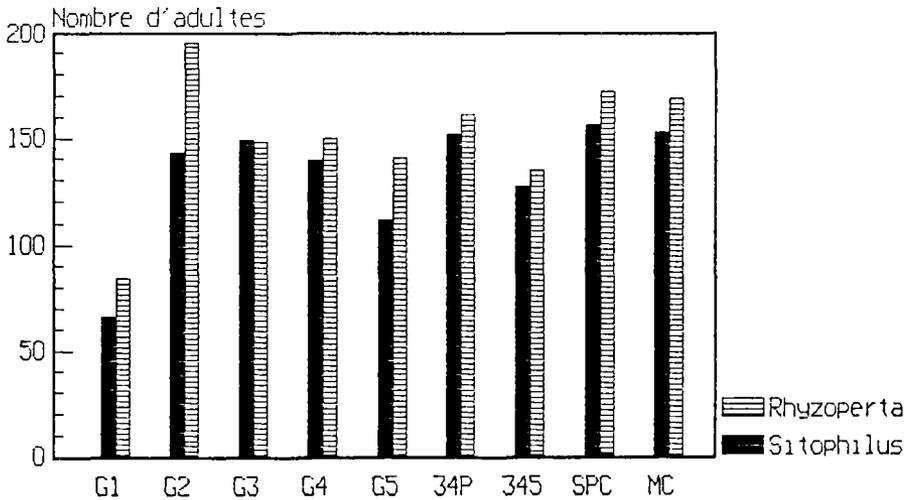


Figure 2. Développement comparé de Rhyzoperta et Sitophilus sur riz cargo.

Résistance variétale du riz aux insectes

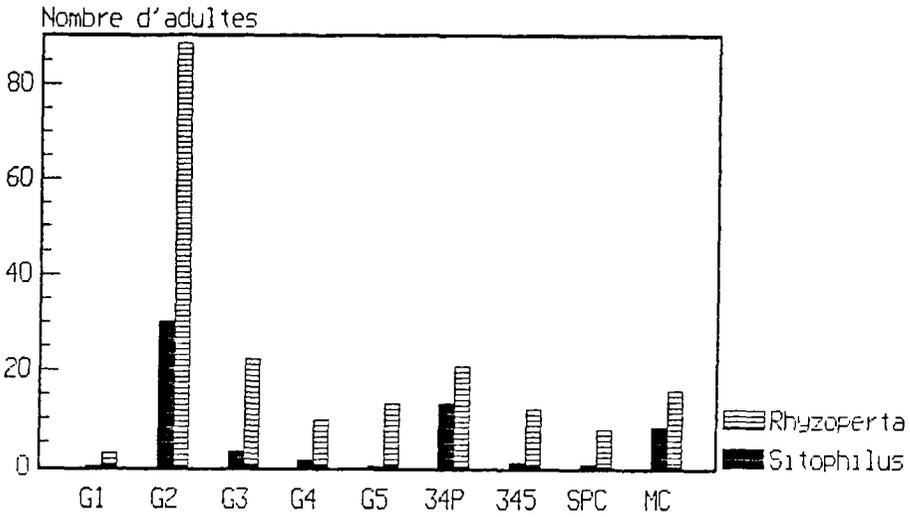


Figure 3. Développement comparé de *Rhyzopertha* et *Sitophilus* sur riz paddy.

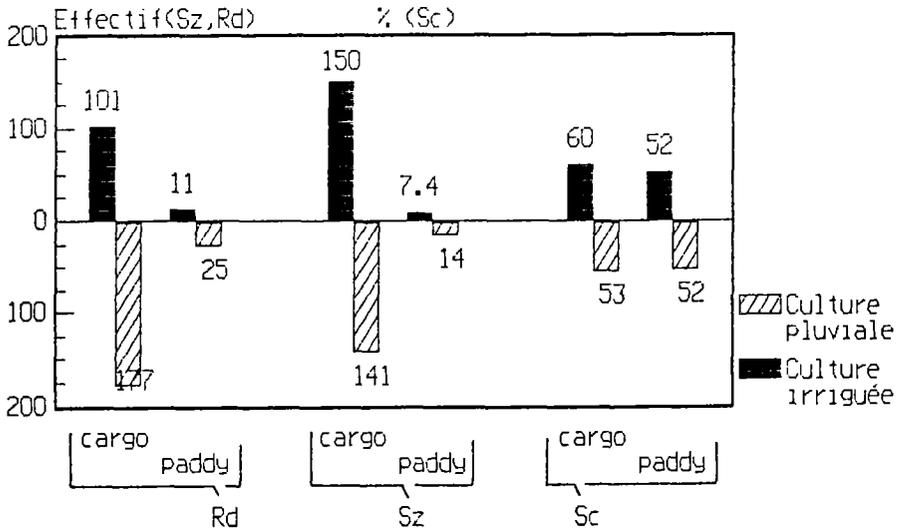


Figure 4. Influence du mode de culture sur la résistance aux insectes des stocks.

Tableau II. Analyses de variance du développement des 3 insectes sur riz paddy et cargo.

Variable analysée		Moyenne	Ecart-type échantillon	CV(%)	Test F
<i>Sitotroga</i> cargo	(1)	52,2	15	21,0	3,13 HS
<i>Sitotroga</i> paddy	(1)	58,3	21	12,5	8,92 HS
<i>Rhyzoperta</i> cargo	(2)	143	42	22,0	2,71 HS
<i>Rhyzoperta</i> paddy	(3)	18,4	29,9	54,1	
<i>Sitophilus</i> cargo	(2)	135	38	16,7	2,56 HS
<i>Sitophilus</i> paddy	(3)	5,8	13,7	63,2	

Analyse après transformation Arc sin Vx (1), Vx (2), Log (x + 1) (3). Moyenne et écart-type avant transformation

glumelles cassées, qui est le plus sensible. On peut signaler également que le taux de silice dans les enveloppes est beaucoup plus élevé en culture irriguée (8,6 % dans nos conditions de multiplication) qu'en culture pluviale (2,3 %).

Il est plus surprenant de constater que le facteur environnement a également un effet sur la résistance du riz cargo, mais à *R. dominica* uniquement, ce qui pourrait orienter les investigations sur les caractéristiques du caryopse favorables à cet insecte.

Pour les variétés testées, il n'apparaît pas de différence de sensibilité à *S. cerealella* en fonction du mode de culture (fig. 4).

Caractéristiques des grains liées à la résistance

On observe tout d'abord l'absence de relation entre la résistance variétale du paddy et celle du cargo à *R. dominica* ($r = 0,05$) et à *S. zeamais* ($r = 0,09$), ce qui indique le peu d'influence des propriétés du caryopse sur la résistance du paddy à ces deux insectes. Les taux de développement de *S. cerealella* sur paddy et cargo sont par contre corrélés positivement ($r = 0,4061$ pour 59 dl, significatif au seuil de 1 %).

On observe une corrélation positive entre le développement sur paddy de *R. dominica* et de *S. zeamais*, pour lesquels interviennent donc les mêmes facteurs de résistance. Par contre la liaison entre le développement sur paddy de *S. cerealella* et celui des deux coléoptères est faible ou absente :

<i>Sitophilus</i>	0,679 *	
<i>Sitotroga</i>	0,395 *	0,453*
	<i>Rhyzoperta</i>	<i>Sitophilus</i>

* corrélation significative au seuil de 0,1 % pour 90 dl

Les développements des trois insectes sur riz cargo sont faiblement corrélés entre eux, indiquant donc l'intervention de facteurs de résistance en partie différents :

<i>Sitophilus</i>	0,3258**	
<i>Sitotroga</i>	0,3765**	0,3743**
	<i>Rhyzoperta</i>	<i>Sitophilus</i>

** corrélation significative au seuil de 1 % pour 59 dl.

Influence des caractéristiques des glumelles

Parmi les caractères observés, seule l'herméticité des glumelles est fortement corrélée avec le développement de *S. zeamais* et *R. dominica*. La prise en compte des taux d'égrenage, taux de paille, taux de silice dans les glumelles et de la pilosité n'améliore pas sensiblement la corrélation (Tableau III).

L'herméticité des glumelles est faiblement corrélée avec le développement de *S. cerealella* et la prise en compte de l'ensemble des caractères observés sur les glumelles n'explique que 34 % de la variabilité de la résistance à cet insecte (Tableau III).

Tableau III. Corrélations entre les caractéristiques des glumelles et le développement des insectes sur riz paddy.

	Adultes à 100 j		Survie G1
	<i>Rhyzoperta</i>	<i>Sitophilus</i>	<i>Sitotroga</i>
Glumelles déficientes (%)	0,6889 *	0,7853 *	0,4464 *
Taux d'égrenage (%)	-0,3891 *	-0,3178 **	-0,2682 **
Taux de paille (%)	-0,09	-0,1724	-0,2790 **
Taux de silice (%)	-0,19	-0,10	-0,3746 *
Pilosité	-0,07	0,10	0,23
Corrélation multiple	0,7358	0,8077	0,5797

Transformation Arc sin Vx pour les pourcentages, log (x + 1) pour les effectifs de *Rhyzoperta* et *Sitophilus*.

Influence des caractéristiques du caryopse

Les résultats des analyses concernant la composition du caryopse ne nous étant pas encore parvenus, seules les mesures effectuées à Bouaké sont analysées. Aucun des caractères étudiés n'est corrélé avec le développement des insectes sur paddy, et le poids du grain est corrélé faiblement avec le développement de *R. dominica* sur cargo.

Discussion

Une étude approfondie du déterminisme du taux de glumelles ouvertes effectuée à Bouaké permet aujourd'hui de maîtriser la sélection de ce caractère, et de garantir ainsi l'obtention de variétés résistantes (à l'état de paddy) à *Sitophilus* sp., et dans une certaine mesure, à *R. dominica*.

Les pertes au stockage du paddy en Côte d'Ivoire sont essentiellement dues à *S. cerealella*, pour laquelle les facteurs de résistance restent à définir. Dans nos conditions expérimentales, le faible nombre d'œufs infestants limite l'évaluation de l'influence des enveloppes, 75 % des larves environ pénétrant dans des grains à défaut de glumelles. Lors d'une expérimentation précédente, où le développement de la seconde génération avait pu être suivi, le nombre de

grains à glumelles ouvertes devenait dans ce cas limitant, faisant apparaître le rôle d'autres caractères (comme l'observation d'une relation entre la résistance à *S. cerealella* et le taux d'égrenage, liée à la dureté du pédoncule par lequel pénètrent les larves). La compréhension du problème serait améliorée par la mise au point de dispositifs permettant de mesurer la dureté des enveloppes, ainsi que le degré d'adhésion de la balle au grain.

La résistance de quelques variétés a néanmoins été confirmée, permettant d'envisager une étude sur l'héritabilité de ce caractère. Un croisement a été réalisé à cette fin entre la variété BG 141 (*O. glaberrima*), résistante à *S. cerealella*, et IRAT 104 (pluviale), et les résistances observées dans les groupes G4 (CUTTAC 4, DOURANDODESECO, IRAT 170, IDSA 8) et G5 (CARREON, JAYA) pourraient être exploitées.

6

Facteurs contribuant à la protection du maïs contre les attaques de *Sitophilus* et *Prostephanus*

B.J.R. PHILOGÈNE*, J.T. ARNASON*, J.D.H. LAMBERT**

* Département de Biologie, Université d'Ottawa, Ottawa, K1N 6N5, Canada

** Department of Biology, Carleton University, Ottawa, K1N 6N5, Canada

Résumé

L'entreposage du maïs avant sa consommation ou sa transformation se fait souvent dans des conditions qui favorisent la prolifération de déprédateurs qui non seulement détruisent une grande partie mais rendent également les grains non attaqués peu comestibles.

Les plus grands dégâts sont généralement causés par *Sitophilus zeamais* et *Prostephanus truncatus*, deux coléoptères particulièrement actifs dans les régions chaudes. *Prostephanus* est récemment devenu un des principaux fléaux du maïs en Afrique. Les nouvelles variétés de maïs sont particulièrement sensibles à ce type d'insecte alors que les variétés moins répandues mais généralement préférées des petits planteurs de l'Amérique Centrale sont plus résistantes.

Avec la collaboration du CIMMYT et l'aide du CRDI nous avons entrepris une étude systématique de plus d'une centaine de variétés de maïs pour en évaluer la résistance à *Sitophilus* et *Prostephanus*. Nos travaux démontrent que les grains de maïs particulièrement riches en substances phénoliques et surtout en acide férulique sont moins susceptibles d'être attaqués par ces insectes. On doit particulièrement noter que les variétés anciennes d'origine mexicaine sont les plus résistantes à l'infestation. En analysant systématiquement des variables comme les pertes de poids, le pourcentage de mortalité des charançons, le taux de consommation, la préférence des insectes pour les variétés étudiées et l'indice de sensibilité de Dobie, on a pu établir que les variétés Puebla 463 (Arrorillo), Mexico 005 (Palomero), Mexico 182 (Conico) étaient mieux protégées contre les attaques des insectes. Le maïs de type Palomero semble être le plus résistant alors que la variété Cacahuacintle est plus sensible aux attaques de *Sitophilus*.

Nos travaux indiquent par ailleurs que les lipides, les protéines, les glucides, la dureté et la forme du grain contribuent de façon importante à la résistance aux insectes. La lignine et le silice ainsi que les composés inorganiques ne semblent pas jouer un rôle significatif.

Ces observations ont une grande importance, non seulement en fonction de l'entreposage proprement dit, mais surtout par rapport aux caractéristiques génétiques à préserver et à favoriser dans les sélections éventuelles de variétés résistantes et performantes.

Introduction

Le maïs est une des vingt denrées les plus importantes pour l'alimentation humaine. En Amérique, d'où cette plante est originaire, elle fut longtemps considérée par les populations autochtones comme un «don des dieux» [15]. Cultivé du Canada au Sud de l'Amérique latine pendant des millénaires le maïs n'a traversé l'Atlantique qu'avec le retour de Christophe Colomb.

Il n'y a pas beaucoup de plantes cultivées qui présentent autant de variabilité que le maïs par la dimension des épis comme par les coloris des grains. Certaines variétés ne prennent que deux mois pour compléter leur développement alors que d'autres ont besoin de plus d'une année.

Sur le continent africain le maïs est une culture majeure pour certains pays (Kenya, Zambie) alors qu'il est considéré dans d'autres (Mali) comme étant une culture de soudure. Soumis à des déprédations constantes par les insectes lors de sa croissance, le maïs doit également subir dès l'entreposage et jusqu'à sa consommation les attaques de certains coléoptères qui non seulement en détruisent un fort pourcentage mais rendent également les grains ou la farine de maïs impropres à la consommation.

Deux espèces sont particulièrement reconnues, en régions chaudes, pour leur voracité envers le maïs entreposé : *Sitophilus zeamais* qui prolifère surtout dans le maïs égréné et *Prostephanus truncatus* (le grand capucin du maïs) qui préfère les épis. Les nouvelles variétés de maïs mises au point avant tout pour leur fort rendement sont particulièrement sensibles à ce type d'insectes alors que les variétés moins répandues mais généralement préférées par les petits planteurs de l'Amérique Centrale y sont plus résistantes.

Nous rapportons ici nos observations sur les facteurs qui contribuent à la sensibilité ou à la protection des grains de maïs envers *S. zeamais* et *P. truncatus*, en mettant particulièrement l'accent sur les réactions de *Sitophilus*.

Résistance et sensibilité à *S. zeamais*

L'insecte

Le *Sitophilus* est un charançon de 2,3 à 4,5 mm de long qui se distingue par quatre taches rougêtres. La larve apode, dure et légèrement courbée, vit uniquement dans le grain. Elle produit une poudre blanchâtre abondante qui rend le maïs impropre à la consommation [10]. Dans les conditions optimales de développement (27 °C et 70 % H.R.) les adultes vivent de 25 (femelles) à 30 semaines (mâles). La femelle creuse un trou dans le grain et y dépose un ou plusieurs œufs qu'elle recouvre d'un bouchon muqueux facilement détectable. Les œufs ne sont guère affectés par les ovicides durant les six jours d'incubation. Une seule larve se développe

jusqu'à maturité dans chaque grain, le premier stade larvaire étant particulièrement vulnérable aux conditions de l'environnement (H.R., oxygène, densité de la population, température) [14, 20]. On peut compter jusqu'à 90 % de mortalité à ce stade. Les survivants réussissent généralement à atteindre le stade adulte. La durée des quatre stades larvaires est d'environ 20 jours. Ceci est suivi d'une pupe (6-7 jours) et d'un stade pré-adulte (5-6 jours) qui restent dans le grain [30].

Composantes de la résistance du maïs grain aux insectes

La résistance de la plante hôte fait partie des stratégies de lutte contre les déprédateurs depuis le 18^{ème} siècle [21]. La recherche de variétés résistantes de maïs constitue depuis un certain temps une voie de protection de la plante contre les insectes phytophages, voie autre et complémentaire à l'utilisation des pesticides. Le problème se pose de façon différente pour le maïs entreposé sous forme de grains ou d'épis maïs n'exclut pas l'utilisation de lignées présentant un ou plusieurs facteurs de résistance. On a longtemps relié la résistance des grains de maïs à *Sitophilus*, à des facteurs physiques : protection par les spathes; dureté de l'enveloppe; faible teneur en eau [3, 5, 8, 12, 26, 27, 28, 34, 36]. Cependant il a été établi que certaines variétés possédaient un certain degré de sensibilité malgré une dureté notable [5, 9, 19, 27]. Le rôle joué par les métabolites secondaires de la plante sur le développement du charançon avait été jusqu'ici peu étudié malgré les indices rapportés dans certaines études antérieures. C'est surtout en examinant les caractéristiques nutritionnelles majeures du grain de maïs que les auteurs ont saisi l'importance primordiale du rôle des différentes molécules dans la sensibilité ou la résistance du maïs au charançon. Singh et McCain [36] soulignaient l'importance des glucides alors que Gomez *et al.* [12] attiraient l'attention sur le niveau protéinique après les observations de Betanzos [3] sur le tryptophane. On a signalé également l'importance d'un phagostimulant [28], de composés volatils attractifs [35] et d'un stimulant de la ponte [5].

En 1982 notre équipe faisait ressortir la teneur élevée en acides phénoliques de certaines variétés récoltées en Amérique Centrale et présentant une résistance exceptionnelle à *Sitophilus* [9]. Il a alors été convenu d'étudier cette question en détail, ce qui a été largement favorisé par la collaboration du CIMMYT et le financement du CRDI. Il s'agissait : 1) d'établir le niveau de résistance des variétés de maïs produites par le CIMMYT en vue d'évaluer leur utilisation éventuelle par des petits fermiers ne disposant pas de facilités adéquates pour l'entreposage et 2) d'analyser le mécanisme de la résistance en fonction des composés phénoliques présents dans le grain et d'autres caractéristiques que l'on pourrait sélectionner comme caractères transmissibles. Ce travail nous a amené à étudier plus d'une centaine de variétés provenant du CIMMYT ainsi que des variétés utilisées au Belize et à l'Ile Maurice.

Origine taxonomique de la résistance

La résistance des grains de maïs au genre *Sitophilus* a attiré l'attention des chercheurs depuis les observations de Eden [8] sur les différences de dureté du grain. Il a établi une corrélation positive entre cette caractéristique physique et la sensibilité de la variété à *S. oryzae*. Il n'y avait eu jusqu'à l'heure aucune analyse systématique de la résistance du plasma-germinatif du maïs. Le travail que nous avons entrepris à ce sujet est rapporté en détail dans une autre publication [29] et l'on ne trouvera ici que les résultats les plus significatifs :

1. Une comparaison des taux moyens de consommation par *S. zeamais* a permis la séparation de 7 groupes différents selon leur sensibilité à l'insecte.

2. Les taux de mortalité de la population de *Sitophilus* sont inversement proportionnels à la quantité de grains consommés, le maïs le moins avarié étant associé à une mortalité plus élevée de l'insecte.

3. A partir d'un index de stabilité (B^1) calculé à partir des techniques de Eberhart et Russell [7] et Betanzos [3], indiquant le taux journalier de consommation de grains par les insectes, on a pu établir un indice qualitatif de sensibilité ($R+$ à $S+$) pour chaque population.

4. Les variétés Puebla 463 (Arrocillo), Mexico 005 (Palomero) et Mexico 182 (Comico) sont les plus résistantes, alors que Chiapas 218 (Oloton) et Mexico 212 (Cacahuacintle) sont les plus sensibles.

5. Les résultats rapportés en 4 ont été confirmés par des tests de préférence pour la ponte : Mexico 212 et Chiapas 218 ont attiré davantage d'insectes alors que Palomero (Mexico 005 et 055), un groupe indigène ancien, a été négligé par les charançons. Le nombre de grains attaqués et le nombre des lieux de ponte sont clairement plus élevés dans les grains de Cacahuacintle et Oloton.

6. Bien qu'il soit possible d'affirmer à partir des observations qui précèdent que les maïs de type Palomero sont les plus résistants et les Cacahuacintle les plus sensibles, il est parfois

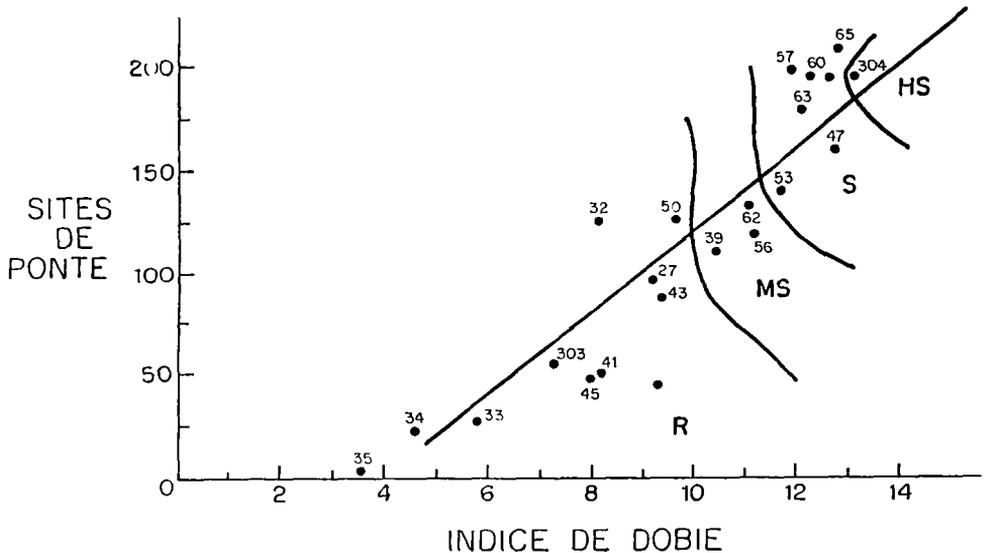


Figure 1. Relation existant entre les sites de ponte et l'indice de sensibilité Dobie dans les variétés propagées par le CIMMYT. R : résistant, MS : modérément sensible, S : sensible, HS : très sensible.

Variétés :

303/304 – Cacahuacintle	45 – La Molina 8128
27 – Poza Rica 8126	47 – Poza Rica 8129
28 – CIAT 8130	50 – Poza Rica 8136
32 – Survan (1) 8131	53 – Santa Rosa 8073
33 – Ilonga 8032	56 – Across 8033
34 – Across 8035	57 – Across 7934
35 – Ratray-Arnold (1) 8149	60 – Antalya 8045
39 – Rosa Rica 8121	62 – Across 8146
41 – Across 8024	63 – Gemeiza 8047
43 – Los Banos 8027	65 – Qulampu 7948.

possible de classer une variété dans la catégorie résistante en terme de consommation, maïs relativement sensible à partir d'autres indices. Pour remédier à ce problème on a procédé à une analyse multivariée. Ceci a permis de distinguer trois catégories : 1) une comprenant deux races très sensibles (Cacahuacintle et Oloton) provenant du groupe Pré-Colombien exotique [37]; 2) une comprenant des races de résistance intermédiaire aux affinités mal définies (Chalqueno, Comico) provenant du groupe Moderne Incipient [37], ainsi que Puebla 537 et 463 provenant du groupe Arrocillo Amarillo (Indigène Ancien) et Mexico 461 et 182 (race Comico); 3) une comprenant la race Palomero Toluqueno (Indigène Ancien), et la race Maiz Dulce (Pré-Colombien exotique), catégorie particulièrement résistante. Il semble enfin que la résistance s'apparente aux anciennes races indigènes de maïs.

7. Les classifications de résistance basées sur des paramètres comme la variation des isozymes [6], les protéines polliniques [13] et le génotype par interactions environnementales peuvent servir à compléter les observations rapportées dans notre étude et guider les sélectionneurs recherchant les caractéristiques méritant d'être améliorées.

Variétés propagées par le CIMMYT

Le CIMMYT a pour mandat de fournir aux programmes nationaux des variétés de maïs à haut rendement possédant une résistance aux déprédateurs et aux maladies. Nous avons examiné 19 de ces variétés en fonction de leur sensibilité à *Sitophilus*. Les résultats apparaissent à la figure 1 où l'on voit que trois variétés sont particulièrement résistantes (Ilonga 8032, Alron 8035 et Ratray-Arnold 8149). Ilonga et Ratray-Arnold ont été plantées en Tanzanie avec des rendements élevés. Nous ne savons cependant pas comment leurs grains ont survécu à l'entreposage.

Génotype à haute teneur en protéine

En 1970 le CIMMYT entreprenait un programme intensif visant à sélectionner des génotypes à haute teneur protéinique (QPM). Nous avons envisagé la possibilité que le gène QPM contribue à la résistance et avons étudié 10 populations de ce type ainsi que 10 rétrocroisements avec les génotypes normaux (QPM x normal). Une forte corrélation a été obtenue entre les sites de ponte et l'indice de Dobie. Des onze populations résistantes 5 étaient QPM et 6 des rétrocroisements. Mais seulement deux populations et leurs rétrocroisements respectifs faisaient partie de ce groupe. La présence du gène QPM n'est donc pas incompatible avec la résistance.

Mécanismes de la résistance

Nos travaux antérieurs [9] ayant indiqué que les substances phénoliques semblaient jouer un rôle dans la résistance de certaines variétés aux attaques du *Sitophilus*, nous avons examiné la question en détail. Nous avons pu obtenir une excellente séparation des composés phénoliques présents dans les grains de maïs grâce à la chromatographie en phase gazeuse (GC) et en phase liquide (HPLC). Les méthodes de détection par fluorescence ont également été utilisées. Tous ces travaux ont été entrepris avec 15 collections de variétés améliorées et propagées par le CIMMYT, et 10 races indigènes du Mexique.

Nous avons identifié dans le maïs les composés phénoliques suivants : acide cis-férulique, acide trans-férulique, acide p-coumarique et acide sinapique. Une corrélation a ensuite été établie entre la présence de ces composés et les paramètres de sensibilité du grain à *Sitophilus*. Les grains ayant la plus haute teneur en acide trans-férulique, qui est le composé phénolique principal, sont particulièrement résistants alors que les autres acides ont un effet moindre sur les attaques de *Sitophilus*. Cette observation qui est la première du genre à été vérifiée autant dans les variétés du CIMMYT que pour les races mexicaines indigènes.

En ajoutant des concentrations de 0,1 à 1,0 µg/g d'acide phénolique à une diète méridique on n'a pu observer l'effet antiappétant de l'acide férulique qu'envers *Sitophilus*, ce qui confirme le rôle primordial de ce composé dans la résistance du grain à l'insecte. On doit par ailleurs souligner que les composés phénoliques sont concentrés dans la partie extérieure de la graine (péricarpe), ce qui est facile à démontrer grâce à la microscopie à fluorescence.

Nous avons pu établir également que les lipides, les protéines, les glucides, la dureté du grain ainsi que sa forme contribuent au degré de résistance du maïs.

Etudes sur *P. truncatus*

Le grand capucin du maïs *P. truncatus* est un charançon originaire d'Amérique Centrale qui est reconnu comme dévastateur typique des récoltes engrangées par les petits fermiers. S'attaquant avant tout aux grains de maïs sur l'épi, ce coléoptère peut être responsable de pertes énormes comme on a pu le constater lors de son introduction en Tanzanie [16]. Peu d'études sont disponibles sur cet insecte si l'on considère que, suite aux bibliographies de Wright et Spilman [38] et Hodges [16], seulement 30 des publications citées traitaient de la biologie de *Prostephanus* et 25 de son contrôle.

Aux conditions optimales de développement soit 32 °C et 70 à 80 % H.R. [2, 31, 32], le grand capucin complète son cycle en 24-25 jours. Il peut cependant se développer dans une fourchette très large de température et d'humidité, ce qui lui permet de s'installer dans l'épi avant la récolte.

La présence de *Prostephanus* se signale par de petits trous bien nets à la surface des spathes. Les femelles pondent leurs œufs dans un intervalle de 95 à 100 jours [17, 32]. Alors que l'on peut compter jusqu'à 600 œufs par femelle sur les épis, il n'est guère possible d'en trouver plus de 50 sur des grains lâches [2]. On compte trois stades larvaires qui prennent en moyenne 16 jours, et une pupe avant l'émergence de l'adulte.

L'activité destructrice du *Prostephanus* s'accompagne d'une augmentation de la teneur en eau du grain [4], ce qui facilite la contamination par les champignons et les bactéries, et d'une augmentation de la teneur en acide gras. Cette particularité a été utilisée comme mesure de la détérioration du grain entreposé. Le pouvoir germinatif du grain est également affecté.

Les moyens chimiques (perméthrine, phostoxine ou phosphine) n'ont pas encore réussi à contrôler de façon efficace les infestations de *Prostephanus*. Ces insecticides n'ont une action optimale que si l'épi est dégainé, ce qui va à l'encontre des habitudes d'entreposage des fermiers africains [11]. On a même essayé des méthodes physiques comme les rayons γ, le laser et les électrons accélérés [1, 23, 24, 25].

La mise au point de variétés de maïs résistantes aux attaques de *Prostephanus* est donc devenue impérieuse, surtout si l'on prend en considération les coûts socio-économiques de l'apparition de cet insecte sur le continent africain. Il semblerait que certaines variétés à grains

durs et silicieux soient moins sensibles que les variétés à grains farineux [2, 17, 18, 22, 33]. Selon Howard [17] la fréquence de ponte est particulièrement sensible aux caractéristiques variétales, en tout cas davantage que pour *Sitophilus zeamais*.

Nos travaux sur *Prostephanus* ne nous permettent pas encore de rapporter ici des résultats aussi spectaculaires que ceux obtenus avec *Sitophilus*. Il nous faut cependant souligner que notre étude porte sur une gamme de variétés recouvrant tous les degrés de sensibilité mesurés pour *Sitophilus* et, en particulier, la dureté du grain, la teneur en glucides, en protéines et en tryptophane.

Remerciements. Ce travail a été rendu possible grâce au financement du CRDI, la collaboration du CIMMYT (J. Mihm, D. Jewell et S. Toba) ainsi que du Grain Quality Lab d'Agriculture Canada (G. Fulcher). Nous remercions également C. Nozzolillo, N. Donskov, J. Gale et B. Connilh de Beyssac pour leur contribution.

Références

1. Adem E, Uribe RM, Walters FL. (1979). Responses of *Prostephanus truncatus* (Coleoptera : Bostrichidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) to gamma radiation from Co. Can Ent; 111 : 1111-1114.
2. Bell RJ, Watters FL. (1982). Environmental factors influencing the developmental and rate of increase of *Prostephanus truncatus* (Horn).
3. Betanzos ME. (Selección de variedades de maíz de alta calidad proteínica por resistencia al picudo del maíz *Sitophilus zeamais* Motsch. 1. Correlaciones entre características del grano e indicadores de resistencia. Agri Tec Mex; 6 : 45-66.
4. Demianyk CJ, Sinha RN. (1987). Effect of infestation by the larger grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn) and the lesser grain borer *Phyzopersha dominica* F. (Coleoptera : Bostrichidae) on stored corn. Environ Entomol; 16 : 618-624.
5. Dobie P. (1977). The contribution of the tropical stored products centre to the study of insect resistance in stored maize. Trop Stored Prod Inf; 34 : 7-22.
6. Doebley JF, Goodman MM, Stuber CW. (1985). Isozyme variation in the races of maize from Mexico. Amer J Bot; 72 : 629-639.
7. Eberhart SA, Russell WA. (1966). Stability parameters for comparing varieties. Crop Sci; 6 : 36-40.
8. Eden WG. (1952). Effects of kernel characteristics and components of husk cover on rice weevil damage to corn. J Econ Entomol; 45 : 1084-1085.
9. Fortier G, Amason JT, Lambert JDH, McNeill J, Nozzolillo C, Philogène BJR. (1982). Local and improved corns (*Zea mays*) in small farmer agriculture in Belize, CA; their taxonomy, productivity and resistance to *Sitophilus zeamais*. Phytoprotection; 63 : 68-78.
10. Freeman P. (1980). Common insect pests of stored food products. A guide to their identification. British Museum (Natural History), Economic Series, N° 15 (6th ed.), London.
11. Golob P. (1984). *Prostephanus truncatus* (Horn), the larger grain borer in East Africa : the development of a control strategy. Proc 3rd Int. Wkg. Conf on Stored Product Entomol, Manhattan, Kansas, 1983 pp. 711-721.
12. Gomez LA, Rodriguez JG, Poneleit CG, Blake DF. (1983). Relationship between some characteristics of the corn Kernel pericarp and resistance to the rice weevil (Coleoptera : Curculionidae) J Econ Entomol; 76 : 797-800.

13. Greenhouse VY, Hernandez-X E, Rojking C, Larralde C. (1982). Electrophoretic and immunological characterization of pollen protein of *Zeamays* races. *Econ Bob* 36 : 113.
14. Hardman JM. (1978). A logistic model simulating environmental changes associated with the growth of populations of rice weevils, *Sitophilus oryzae*, reared in small cells of wheat. *J Appl Ecol*; 15 : 65-87.
15. Heiser CB Jr. (1973). *Seed to civilization*. WH Freeman, San Francisco. 243 pages.
16. Hodges RJ. (1982). A review of the biology and control of the greater grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *Trop Stored prod Inf*; 43 : 3-9.
17. Howard DC. (1983). The population biology of the greater grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn). Thesis, University of Reading.
18. Howard DC. (1984). The ability of *Prostephanus truncatus* to breed on different maize varieties. Proc. GASA workshop on the larger grain borer. *Prostephanus truncatus*, 24-25 febr 1983. TPI Slough Publ GTZ Eschborn pp. 17-31.
19. Ivbijaro MF. (1980). The resistance of new varieties of maize to post-harvest infestation by *Sitophilus zeamais* Motsch and *Sitophilus oryzae* (L.). *J Agric Sci Com*; 96 : 479-481.
20. Longstaff BC. (1981). Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera : curculionidae) : A critical review. *Protect Ecol*; 2 : 83-130.
21. Philogène BJR (1984). Successes and future prospects for host plant resistance in integrated control systems In : Allen G, A Rada, éd. *Proc of the Int Syrup : The role of biological control in pest management*. IOBC/WHRs, 42-61.
22. Ramirez Martinez M Silver BJ. (1983). Deterioration and damage produced in corn grain in Mexico by *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *Biodeterioration*; 5 : 582-591.
23. Ramos E de CJ, Garces MC. (1980). Accion de un estimulo luminoso sobre el desarrollo de *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *Folia ent Mex*; 45 : 38.
24. Ramos E de CJ, Garas MC, Barajas C, Ramirez Martinez M, Beltrones JS. (1984). Comparative effects on life cycle and reproductive degree of *Oryzaephilus surinamensis* and *Prostephanus truncatus* provoked by the action of a laser light. Proc 3rd Int. Wkg, Conf on stored product Entomol, Manhattan, Kansas, 1983, pp. 548-571.
25. Ramos E de CJ, Ramirez Martinez M. (1979). Efecto de la razon de dosis de los rayos gamma sobre la oviposicion y emergencia de *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *Ann Inst Biol UNAM*; 50 : 363-373.
26. Rivnay E. (1972). Pests of stored grain in field crop pests in the Near East. *Uitgeverij, Dr W Trensh Der Haag, Netherlands*, pp. 242-247.
27. Russell MP. (1962). Effects of sorghum varieties on the lesser rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). I. Oviposition, immature mortality and size of adults. *Ann Entomol Soc Amer*; 55 : 675-685.
28. Schoonhoven AV, Horber E, Mills RB. (1976). Conditions modifying expression of resistance of maize kernels to the maize weevil. *Environ Entomol.*; 5 : 163-168.
29. Serratos JA, Arnason JT, Nozzolillo C, Lambert JDH, Philogène BJR, Mihm J, Jewell D. (1988). The assessment of resistance of maize germplasm to *Sitophilus zeamais* infestation. (*in press*).
30. Sharifi S, Mills RB. (1971). Radiographic studies of *Sitophilus zeamais* Mots. in wheat kernels. *J Stored Prod Res*; 7 : 195-206.
31. Shires SW. (1979). Influence of temperature and humidity on survival, development period and adult sex ratio in *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Prostrichidae). *J Stored Prod Res*; 15 : 5-10.
32. Shires SW. (1980). Life history of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae) at optimum conditions of temperature and humidity. *J Stored Prod Res*; 16 : 147-150.
33. Silva BI, Ramirez Martinez M, MacGregor L. (1981). Resistencia de 10 variedades de maiz al ataque de *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae). *Folia Ent Mex*; 48-49.
34. VanDer Schaaf P, Welbur DA, Painter RH. (1969). Resistance of corn to laboratory infestation of the larger rice weevil *Sitophilus zeamais*. *J Econ Entomol*; 62 : 352-355.
35. Yamamoto R, Ohsawa K, Honda H, Yamamoto I. (1975). Attractants for rice weevil, *Sitophilus zeamais*. Motschulsky, isolated from corn grain. In : *Environmental Quality and Safety*, Suppl. vo. III. Pesticides Intl Congr Helsinki Finland. july 3-9, 1974, pp. 663-667.

Protection du maïs contre Sitophilus et Prosthephanus

36. Singh DN, McCain FS. (1963). Relationship of some nutritional properties of corn kernel to weevil infestation. *Crop Sci*; 3 : 259-261.
37. Wellhausen EJ, Roberts LM, Hernandez-Xolocotzi E, Mangeldorf PC. (1951). Razas de Maïs en Mexico. Sn origen, características y distribución. Foll Tec No S SAG, Mexico, DF.
38. Wright V. (1983). An annotated bibliography on *Prosthephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae) : a pest of stored grain. *Trop Stored Prod Inf*; 46 : 25-30.

7

Profil bactériologique du kutukutu à température ambiante

F.X. ETOA, C.M.V. MBOFUNG, R. NDJOUENKEU

Centre Universitaire de N'Gaoundéré. Département des Sciences de l'Alimentation, ENSIAAC, BP 455, N'Gaoundéré, Cameroun

Résumé

Le «kutukutu» est un amidon de maïs couramment consommé dans l'Adamaoua (Nord Cameroun). Il est habituellement conservé dans l'eau à température ambiante.

L'objet de ce travail est de comparer du point de vue bactériologique la conservation traditionnelle à une conservation au réfrigérateur.

Les résultats globaux restent comparables bien que les évolutions diffèrent, en particulier du point de vue acidité. La méthode traditionnelle semble égaler du point de vue hygiénique la réfrigération; elle altère toutefois les qualités organoleptiques.

Introduction

Le kutukutu (amidon de maïs) rentre de façon régulière dans la plupart des régimes alimentaires des habitants autochtones de la région de N'Gaoundéré : adultes, enfants, bébés. Le kutukutu prêt à la consommation peut être préparé avec ou sans ingrédient, soit :

- kutukutu seul
- kutukutu + citron
- kutukutu + arachide.

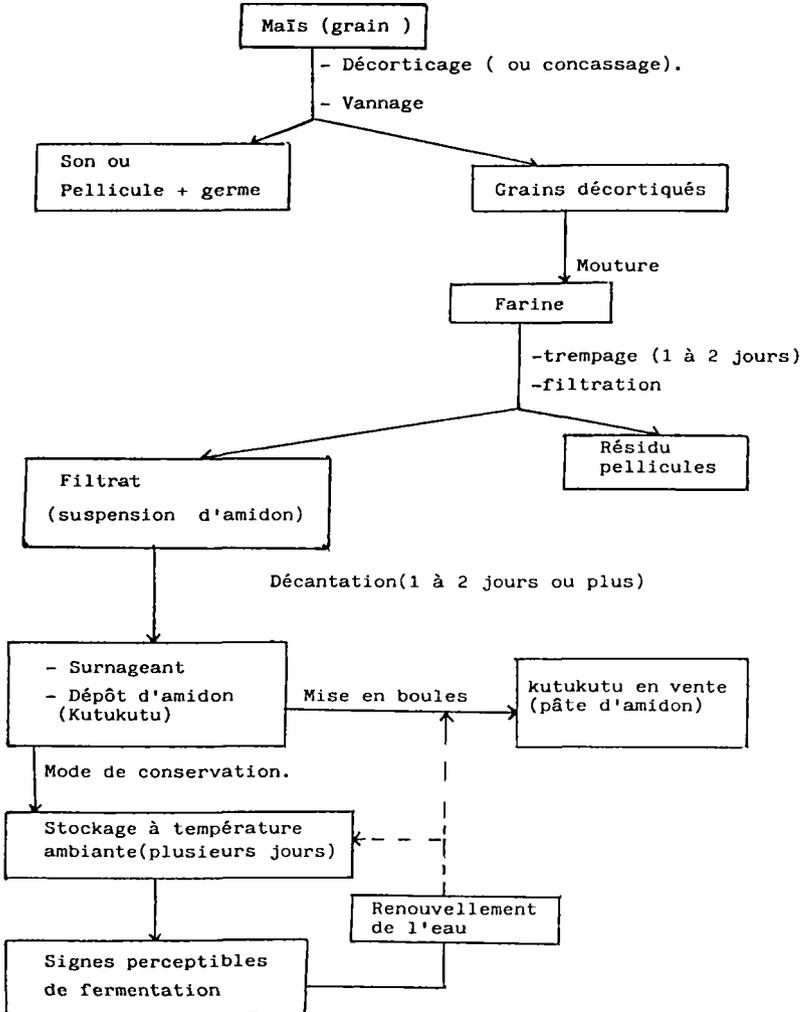


Figure 1. Fabrication et conservation traditionnelle du kutukutu.

Le kutukutu est essentiellement consommé au petit déjeuner ou au dîner. Pendant la période du ramadan, le kutukutu est généralement le premier aliment pris par la communauté musulmane avant consommation de tout autre.

Compte tenu de la consommation importante de cet aliment, nous nous sommes intéressés à son mode de fabrication et surtout de *conservation* (fig. 1) par les populations villageoises de la région qui ne disposent d'aucun moyen de réfrigération.

La technique villageoise de conservation du kutukutu consiste à le stocker à température ambiante, immergé dans l'eau. Le renouvellement de cette eau a lieu dès que les signes d'altération (fermentation) sont perceptibles. Nous nous sommes attachés à vérifier la qualité hygiénique et bactériologique du kutukutu ainsi conservé. Nous avons également envisagé le cas de la conservation de cet aliment à la température d'un réfrigérateur, en vue de comparer les deux modes de conservation.

C'est donc à dessein que nous avons orienté le travail sur la recherche des formes sporulées des genres *Clostridium* et *Bacillus*, en l'occurrence : *C. perfringens* et *B. cereus*. L'influence de la cuisson sur la conservation du kutukutu par les deux techniques a été abordée par la recherche qualitative de ces deux espèces bactériennes.

Protocole expérimental

Les échantillons de boules de kutukutu utilisés au cours de ce travail proviennent du marché public de N'Gaoundéré. Chaque échantillon est divisé en deux parties : une partie est stockée à température ambiante, selon le mode traditionnel de conservation, l'autre partie dans le réfrigérateur.

Analyses

Sur les deux types d'échantillons : kutukutu à température ambiante (KTA) et kutukutu à température de réfrigération (KTR), la méthodologie retenue est la suivante :

- contrôle du pH (au cours du temps),
- élimination de l'eau (surnageant) en accord avec le procédé traditionnel,
- prélèvement de 10 g de kutukutu, homogénéisation et dilution dans du tryptone-sel, dilution finale 10^{-1} ,
- revivification à température ambiante pendant deux heures.

Recherche et dénombrement des formes sporulées des *Bacillus* dont *B. cereus*

Deux types de méthodes sont employés :

- traitement classique de l'échantillon pendant 10 minutes à 80 °C,
- parallèlement, traitement à l'alcool (50 % v/v) à température ambiante sous faible agitation (150 t/min), pendant une heure.

Après les dilutions nécessaires chacune des préparations estensemencée sur le milieu de Mossel et incubée à 37 °C pendant 24 heures.

Pour la recherche qualitative des *Bacillus* : l'étape de revivification est suivie de l'enrichissement pendant 24 heures à 37 °C, de l'échantillon dans un bouillon de culture selon Burnett *et al* [1].

L'identification des colonies caractéristiques est réalisée par des méthodes standard et par l'emploi des tests d'utilisation des sucres, au moyen des galeries API.

Recherches et dénombrements des formes sporulées des *Clostridium* dont *C. perfringens*

Les techniques d'isolement sont similaires à celles ci-dessus, mais les milieux étudiés sont : RCM solide pour les *Clostridium* et TSN pour les *Clostridium* sulfito-réducteurs.

La recherche qualitative des *Clostridium* est effectuée par l'enrichissement de l'échantillon en milieu RCM liquide (24 heures à 37 °C) et de l'isolement sur RCM solide et TSN. L'incubation a lieu à 37 °C pendant 24-48 heures pour les *Clostridium* et à 46 °C pour la recherche sélective de *C. perfringens* dont l'identification est réalisée par des méthodes standard et par l'application du test de St-John *et al* [2].

Résultats et discussion

L'examen des résultats obtenus indique qu'à l'achat, certains échantillons de kutukutu hébergeaient déjà en moyenne un nombre de formes sporulées très élevé (fig. 2, et 3, J₀).

Cette observation peut s'expliquer par le fait que d'une part, l'historique de ces boules de kutukutu, lié à leurs manipulations, n'est pas toujours maîtrisé. En effet entre le moment de la fabrication des boules de kutukutu et celui de leur vente, combien de temps s'est écoulé ? Et dans quelles conditions ? Il est admis que les invendus d'une journée sont presque toujours remis en vente le lendemain, plus de 80 % des vendeuses interrogées le reconnaissent. De surcroît, les boules de kutukutu en vente sont exposées à l'air libre. Les conditions d'hygiène et de conservation semblent donc avoir été défailtantes.

Au bout de deux ou quatre jours (J₂, J₄) de conservation, on observe une diminution des formes sporulées aussi bien des genres *Clostridium* que *Bacillus* dans le KTA alors qu'elles restent relativement élevées dans le KTR. Cette observation s'expliquerait par la différence de pH entre les deux échantillons, pH compris entre 3,7 et 4 pour le KTA contre 3,9 et 4,5 pour le KTR. Cette acidité élevée s'explique par la poursuite de la fermentation du KTA alors qu'elle serait ralentie, voire bloquée, dans le KTR.

L'acidité semble avoir activé les formes sporulées, qui auraient ainsi germé, d'où le faible nombre de formes sporulées isolées, car certaines (en voie de germination) n'auraient pas survécu au traitement thermique de 10 min à 80 °C ou à celui de 60 min à l'éthanol.

Si cette diminution du nombre de formes sporulées semble se maintenir jusqu'au sixième jour (J₆) en ce qui concerne les *Clostridium*, le contraire s'observe chez les *Bacillus* où un

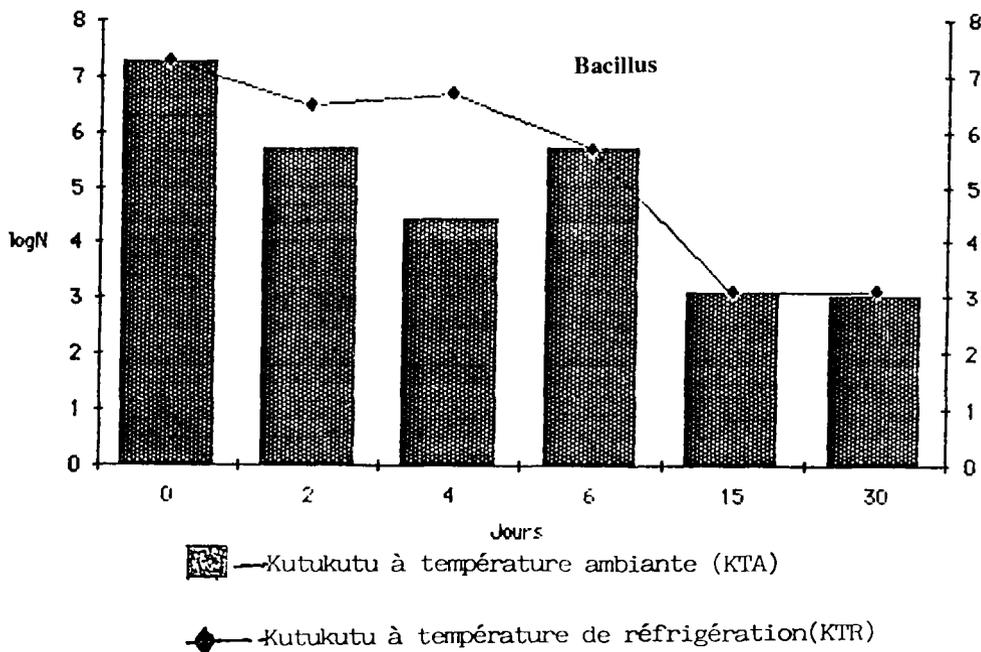


Figure 2.. Évolution des formes sporulées dans le kutukutu.

Profil bactériologique du kutukutu à température ambiante

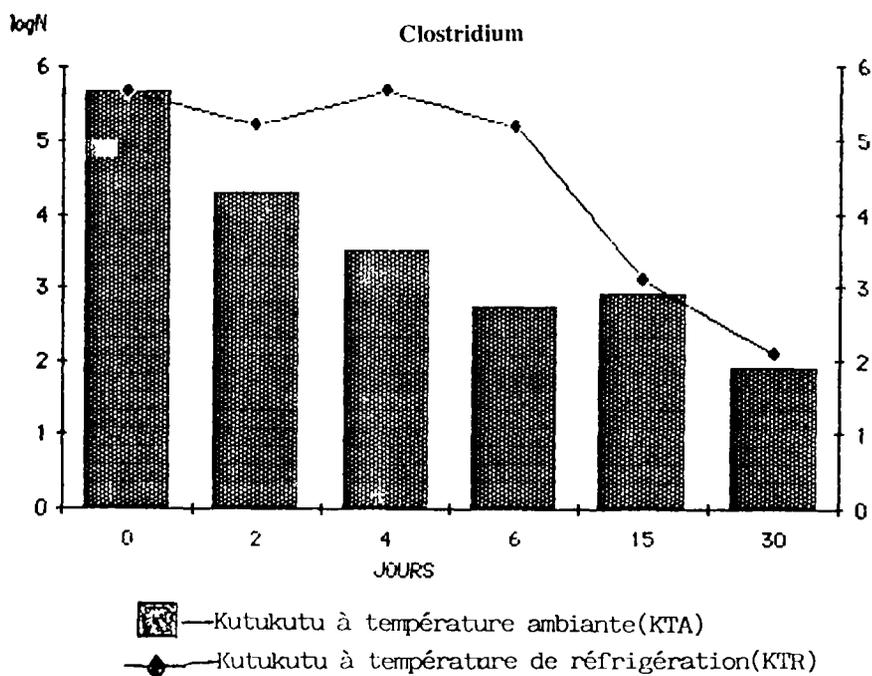


Figure 3. Évolution des formes sporulées dans le kutukutu.

nombre non négligeable aurait resporulé (microcycle), compte tenu des conditions de plus en plus hostiles du KTA (pH compris entre 3,7 et 3,85).

Au delà du 6^e jour, le délai limite de conservation dans le réfrigérateur semble atteint, raison pour laquelle on observe une baisse du pH (pH compris entre 3,6 et 4) et du nombre des formes sporulées dans le KTR. Au bout de quinze jours (J₁₅) de conservation il n'apparaît

Tableau I. Pourcentage de cas où *C. perfringens* et *B. cereus* ont été isolés

Période	<i>C. perfringens</i>		<i>B. cereus</i>	
	KTA	KTR	KTA	KTR
KNC	40 %	50 %	60 %	70 %
J ₀ - J ₂				
KC	0 %	10 %	20 %	30 %
KNC	20 %	30 %	50 %	60 %
J ₂ - J ₄				
KC	0 %	20 %	0 %	10 %
KNC	10 %	30 %	20 %	—
J ₁₅ - J ₃₀				
KC	—	—	—	—

KNC= kutukutu non cuit; KC = kutukutu prêt à la consommation (kutukutu cuit); — = recherche non effectuée.

plus de différence notable de comportement entre KTR et KTA. Cela pourrait signifier que le kutukutu au bout de cette période atteint un degré d'altération indépendant du mode de conservation.

Dix recherches indépendantes de *C. perfringens* et de *B. cereus* ont été effectuées aussi bien dans le kutukutu non cuit (KCN) que dans le kutukutu cuit (KC). Comme l'indiquent les données du tableau I, le nombre de fois où ces deux espèces bactériennes réputées pathogènes ont été isolées est pratiquement nul dans le KTA après cuisson ménagère et se situe en moyenne au-dessous de 20 % dans le KTR après cuisson (Tableau I). De plus les taux de contamination par ces bactéries se sont révélés généralement bas (10 à 10^3 UFC/g), ce qui est loin d'être préoccupant du point de vue sanitaire. Il y a donc lieu de penser que seule la méthode de préparation du kutukutu contribue à lui sauvegarder (du point de vue sanitaire) une qualité bactériologique acceptable, quel que soit le mode de conservation.

Conclusion

Il ressort de cette étude que la méthode traditionnelle de conservation du kutukutu à température ambiante peut égaler en performance la conservation de ce produit au frais; ceci est vrai du strict point de vue sanitaire, puisqu'il y a probablement perte de qualité sur le plan organoleptique. Il apparaît aussi que le KTR reflète le niveau de contamination du kutukutu avant sa conservation dans le réfrigérateur.

Références

1. Burnett GW, Pelcar MJ, Conn JR, Conn HJ (1957). Cultivation and storage Media. In : *Manual of Microbiological Methods*. Mc Graw-Hill, New York, pp. 41-46.
2. St John WD, Matches JR, Wekell MM. (1982). Use of Iron Milk Medium for Enumeration of *Clostridium perfringens*. J Assoc Off Anal Chem; 65 : 5 : 1129-1133.

8

Les aflatoxines dans les céréales et les aliments prêts à la consommation au Cameroun

F. DOMNGANG MBIAPO, A. TCHANA, P.F. MOUNDIPA

Université de Yaoundé. Laboratoire de Biochimie, BP 812, Yaoundé, Cameroun

Résumé

Le climat tropical est particulièrement propice au développement des champignons producteurs d'aflatoxines sur des substrats à base de produits alimentaires et notamment céréaliers.

Le présent travail consiste en une analyse systématique des quantités de toxines sur 154 échantillons prélevés sur les marchés dans diverses zones climatiques du Cameroun. Les aflatoxines semblent présentes partout, jusque dans les aliments cuits prêts à la consommation, à des taux pouvant dépasser 0,1 ppm.

Ceci amène les auteurs à comparer les fréquences de contamination à la fréquence d'observation du cancer primitif du foie chez les populations concernées, région par région.

Introduction

Dans les pays en voie de développement où la technologie alimentaire est encore à l'état embryonnaire, la préservation des aliments et des denrées est un problème préoccupant. C'est ainsi qu'à cause de sa situation en zone tropicale, le Cameroun offre un champ de prédilection à la prolifération des moisissures et, par suite, à la production des aflatoxines dans les denrées alimentaires.

Les champignons producteurs de ces toxines, les *Aspergillus flavus* et *parasitus*, peuvent se développer dans des conditions d'humidité et de température appropriées (28 °C) sur une

variété d'aliments essentiellement à base de céréales et d'arachides. Par ailleurs des études ont révélé des corrélations évidentes entre l'ingestion de ces toxines, la toxicité alimentaire et à long terme le cancer primitif du foie [3, 9, 10]. Il reste néanmoins que les quantités exactes d'aflatoxines ingérées de façon chronique et leurs effets exacts sur l'homme demeurent encore mal connus.

Des études préliminaires réalisées dans notre laboratoire sur des échantillons alimentaires de la région de l'Ouest Cameroun, ont mis en évidence la présence des aflatoxines dans les aliments prêts à la consommation [5]. Il nous a paru nécessaire d'étendre ces recherches sur l'ensemble du territoire et par zone climatique, afin d'établir une corrélation entre la fréquence de contamination des aliments prêts à la consommation mis à la disposition du public, et l'incidence du cancer primitif du foie au Cameroun établi par Abondo *et al.* [1].

Matériels et méthodes

Les échantillons alimentaires crus ou cuits ont été achetés sur les marchés de certaines provinces en fonction des zones climatiques (Tableau I). Ces aliments ont été choisis en raison de leur forte consommation et de leur sensibilité à l'attaque par les moisissures. Les denrées achetées ont été immédiatement conservées au froid à -20°C (pour empêcher toute attaque ultérieure par les souches d'*Aspergillus* producteurs d'aflatoxines) jusqu'à l'analyse. En moyenne, 25 échantillons par type d'aliment ont été analysés. Ces derniers sont : les beignets de maïs, les boulettes de maïs-arachide, les pâtes d'arachides, les galettes d'arachides, les beignets de haricot-maïs, et les farines de maïs crues.

Tableau I. Lieux d'achat et zones climatiques correspondantes.

Province	Ville	Végétation	Climat
Adamaoua	N'Gaoundéré	Zone de savane et de steppe	Climat tropical sec et climat tropical humide
Nord	Garoua		
Centre	Yaoundé	Zone forestière	Climat équatorial
Littoral	Douala Nkongsamba	Zone littorale	Climat équatorial côtier
Ouest	Bafoussam Foumbot	Zone montagneuse	Climat équatorial de montagne
Nord-Ouest	Bamenda		

Les aflatoxines sont extraites des échantillons selon la méthode de Jacquet *et al* [7]; la purification de l'extrait et l'identification sont réalisées suivant les techniques de l'AOAC [2]. Puis l'estimation quantitative des aflatoxines (B₁, B₂, G₁ et G₂) est effectuée sur les dilutions sériées de différents extraits selon la méthode de l'extinction limite [8].

Résultats. Discussion

Sur un total de 154 échantillons analysés, 61 % sont contaminés par les aflatoxines. Parmi les quatre types d'aflatoxines (B₁, G₁, B₂, G₂) les aflatoxines B₁, G₁, qui sont des potents carcinogènes, se retrouvent respectivement dans 50 % et 44 % des échantillons. Nous avons noté des différences dans les fréquences de contaminations aflatoxiniques au niveau des aliments, et suivant les zones climatiques (fig. 1).

Cette fréquence est la plus élevée dans les boulettes d'arachide (75 %), suivie des farines de maïs (72 %), des galettes d'arachide (65,4 %), des boulettes maïs-arachide (64 %), des beignets haricot-maïs (48 %) et enfin des beignets de maïs (40 %). Bien que les beignets de haricot précèdent les beignets de maïs, ils accusent des taux d'aflatoxines relativement faibles (0,1 ppm). La forte fréquence observée dans les cas des boulettes d'arachides et de la farine de maïs serait probablement liée aux difficultés de conservation des arachides et du maïs. Dans les régions du Cameroun où elles sont les plus consommées (zones montagneuses), l'arachide et le maïs sont généralement récoltés en pleine saison des pluies. Leur séchage par temps humide est relativement lent, ce qui occasionne la prolifération des moisissures. Par ailleurs, comparés au haricot qui est récolté en saison sèche, et fort demandé sur les marchés, le maïs et l'arachide connaissent un entreposage plus ou moins long. Or il a été démontré que l'environnement, les conditions et la durée de stockage sont les facteurs déterminants dans le développement des champignons [3].

Trente neuf pour cent d'aliments contaminés ont un taux d'aflatoxines compris entre 0,1 et 0,5 ppm. Si l'on considère les données climatologiques, les fréquences de contamination sont relativement plus faibles dans les régions littorales au climat chaud et humide (55 % à Nkongsamba, 46,6 % à Douala) que dans les régions de savane et de steppe, (75 % à Garoua et 77 % à N'Gaoundéré) (fig. 2). Cependant les taux d'aflatoxines contenus dans les aliments y sont faibles, sinon relativement moyens comparés à ceux des régions chaudes, humides, et montagneuses. Avec leur climat quelque peu semi-aride, on serait tenté de penser que la croissance de ces champignons producteurs d'aflatoxines y est difficile.

Il ressort de ces travaux que 20 % d'échantillons analysés ont des taux d'aflatoxines supérieurs à 0,1 ppm, valeur largement supérieure à celle tolérée par la FAO/OMS dans les aliments et qui est de 30 µg/kg. Il apparaît que la tendance à transformer les produits avariés sous une forme plus ou moins agréable est dominante, surtout en raison des impératifs de la commercialisation. De telles constatations témoignent de l'exposition des populations au danger des aflatoxines dans ces types d'aliments locaux, et à long terme.

Un triage minutieux des denrées (maïs, arachides, haricots) et la chaleur de cuisson abaissent certainement le taux des aflatoxines [6]. Ceci a été bien vérifié par les résultats préliminaires [5], lorsqu'on passe de 368 ppm dans les arachides crues stockées dans des conditions d'humidité les plus appropriées au développement des *Aspergillus*, à 0,212 ppm dans la pâte d'arachide cuite [5]. Les farines de maïs telles qu'elles sont vendues, sont faites à partir de graines n'ayant subi qu'un triage partiel des éléments moisissés. C'est ainsi que la chaleur de cuisson pourrait être responsable de la destruction d'une certaine partie des aflatoxines, potents carcinogènes, dans les aliments à base de ces céréales.

La connaissance du pouvoir cancérigène des aflatoxines suscite des comparaisons entre leur fréquence dans les aliments, et la fréquence des carcinomes primaires dans différentes régions. Une étude rétrospective réalisée à partir d'une enquête épidémiologique [1] montre que, de 1973 à 1981, 4 292 cas de cancer ont été répertoriés, dont 388 cas de cancers primi-

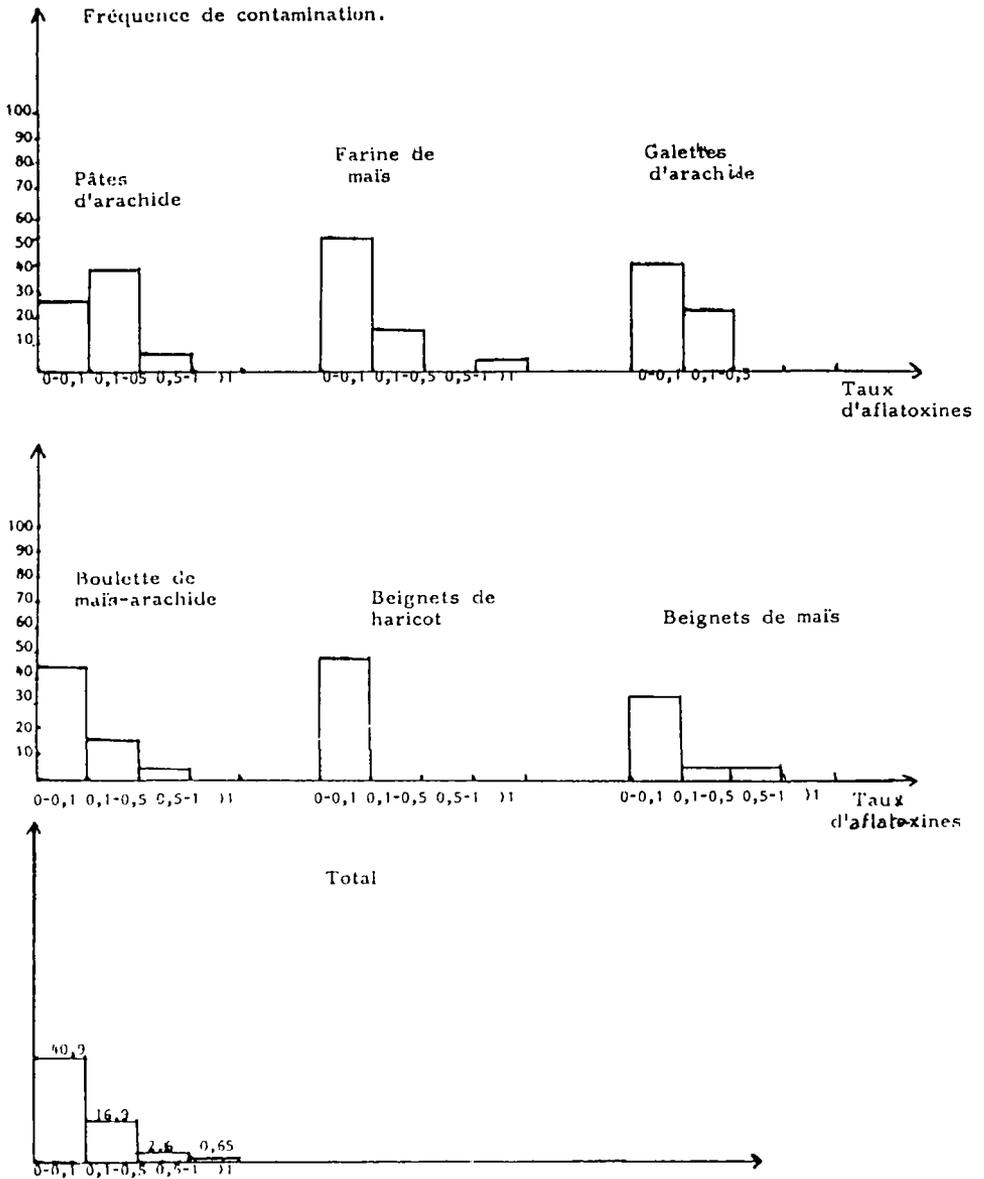


Figure 1. Concentration totale des aflatoxines en fonction des aliments.

tifs du foie (soit 7,4 % de la totalité des cancéreux). Nos travaux indiquent que la fréquence de contamination des aliments suit approximativement la distribution de l'incidence du cancer primaire du foie dans différentes régions du Cameroun (fig. 3). En région forestière, en particulier dans les provinces du Centre et du Sud, où les plus forts taux d'aflatoxines ont été enregistrés dans les aliments, on a une plus forte incidence du cancer primitif du foie. Ce

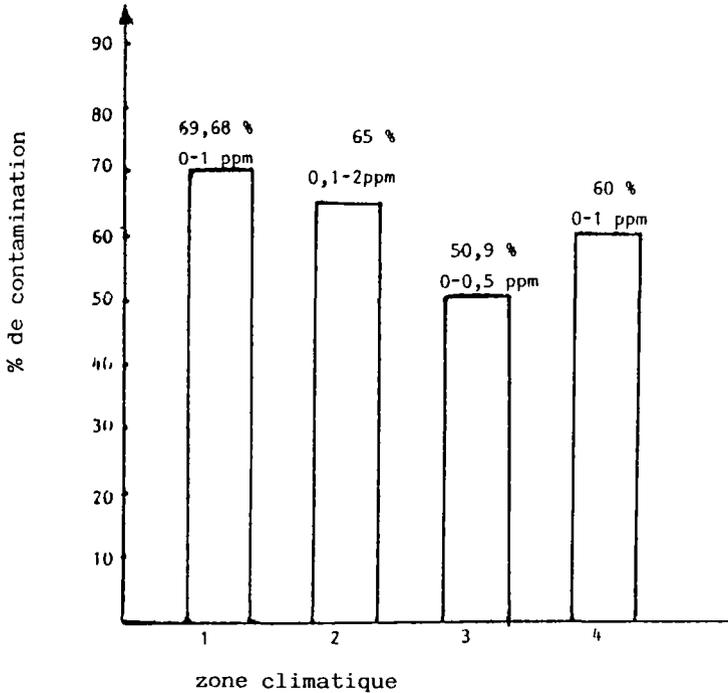


Figure 2. Contamination en fonction de la zone climatique.

1. Zone de savane et de steppe
2. Zone de forêt
3. Zone littorale
4. Zone montagneuse.

résultat serait également en partie dû aux déplacements des malades des endroits dépourvus de potentialités thérapeutiques vers les régions disposant des structures adéquates aux traitements à Yaoundé. Il reste que les populations de cette ville et des environs sont beaucoup plus susceptibles à une ingestion des aflatoxines en quantités non négligeables. Actuellement aucune preuve directe ne permet d'impliquer les aflatoxines seules dans l'évolution de cette maladie chez l'homme. Il faut cependant réitérer que, outre les aflatoxines, il existe d'autres carcinogènes actifs à l'instar des virus de l'hépatite B, les nitrites, etc., dans les milieux environnants et les aliments incriminés dans le développement de cancer primitif du foie.

Par conséquent, l'existence de tous ces facteurs réunis dans les aliments y créerait certainement un écosystème favorable au développement à long terme du cancer primitif du foie.

Conclusion

Au Cameroun les aflatoxines sont présentes non seulement dans certaines céréales en stockage, mais également dans les aliments cuits prêts à la consommation; leur taux dépasse parfois des taux alarmants de 0,1 ppm. Cette présence d'aflatoxines dans les aliments reste

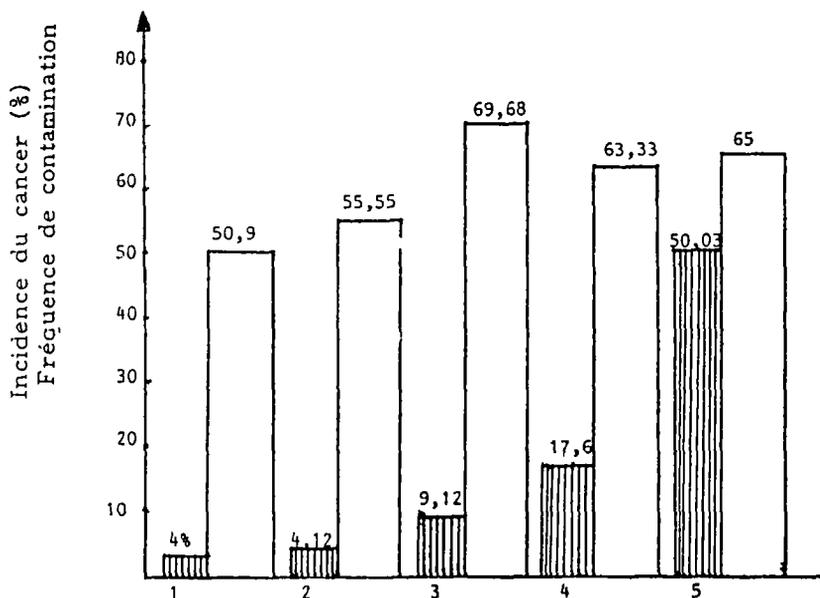


Figure 3. Distribution géographique des fréquences de contamination aflatoxinique et du cancer primitif du foie [1].

une menace sérieuse qui se surajoute aux conséquences de la malnutrition. Une sensibilisation de la population doit être faite sur les méthodes de conservation et de traitement des aliments crus [4, 6] :

- *durant la récolte* :
 - éviter les dommages physiques sur les graines
 - utiliser judicieusement les pesticides qui permettent une inhibition de la croissance des moisissures.
- *pendant l'entreposage* :
 - éviter une atmosphère humide et sécher immédiatement après récolte,
 - utiliser des structures de séchage sèches et étanches aux eaux.
- *avant cuisson*
 - éliminer toutes les graines moisies, et bien laver le reste si possible,
 - cuire longtemps, de préférence sous pression.

Références

1. Abondo A, Essomba R, Ngbangako M, Essamé Oyono JL, Mbakop A. (1984). La pathologie cancéreuse au Cameroun : aperçu sur les aspects épidémiologiques. Cahiers de l'IMP; I : 39.
2. AOAC. (1980). Official methods of analysis. Thirteenth edition. Association of official analytical chemists. Washington DC, 20 004.
3. Alpert ME, Hutt MSR, Wogan CN, Davison CS. (1971). Association between aflatoxin content of food and hepatocarcinoma frequency in Uganda; Cancer; 28 : 253-260.
4. Domngang F. (1985). Carcinogenicity induced by environmental agents. Educat Health; 46 : 241-242.

Les aflatoxines dans les céréales et les aliments

5. Domngang F, Kamdem L, Moundipa FP. (1984). Présence d'aflatoxines dans certains aliments consommés au Cameroun. *Ann Fac Sc Biol Biochim*; 2 : 93-101.
6. FAO/PNUE. (1979). Prévention des mycotoxines; 10 : 1-2.
7. Jacquet J, Boutignonnes P, Teherani A. (1971). Méthode simple de recherche des flavocoumarins (aflatoxines). *Industries alimentaires et agricoles. PPJ*.
8. Kamdem L, Percebois. (1980). Condition de production d'aflatoxines et de l'acide kojique par les souches d'*Aspergillus* et *Penicillium* isolées du revêtement cutané humain. *Bull Acad Sc Lorr Sci*; 19 : 11-20.
9. Nwokolo C, Okonkwo P. (1978). Aflatoxin load on common food in savanna and forest region of Nigeria. *Transac Royal Soc Trop Med Hyg*; 72 : 4.
10. Wogan CN. (1966). Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. *Bacteriol Rev*; 30 : 460-469.

