

CN 99003
H 220
DOU



C.N.R.A. - BAMBEY - S.D.I.

Date 05/03/99

Numéro 1008/99

Mois Bulletin

Destinataire SDI

**UTILISATION D'UNE SOUCHE MUTANTE
POUR L'IDENTIFICATION DE VARIETES
D'ARACHIDE TOLERANTES A *ASPERGILLUS
FLAVUS* ET A LA PRODUCTION D'AFLATOXINES**

**MEMOIRE PRESENTE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME
D'INGENIEUR AGRONOME**

Par
Fatimata Doucouré

Spécialisation : PRODUCTIONS VEGETALES

Soutenu le 21 Janvier 1999 devant le jury

• *M Moussa FALL*

Directeur de l'ENSA et Président du jury

• *M Alioune COLY*

Directeur des Etudes de l'ENSA

• *M Saliou NDIAYE*

Chef du Département Productions Végétales, ENSA

• *M Saliou CISS*

Phytopathologiste à la DPV- DAKAR

• *M. Papa Ibra SAMB*

*Maître de Conférences, Département Biologie Végétale
Université Cheikh Anta Diop de Dakar*

• *M. Amadou BA*

*Chercheur, Coordonnateur du Réseau Arachide de la
CORAF – ISRA/CNRA-Bambey*

SOMMAIRE

Résumé.....	i
Dédicaces.....	ii
Remerciements.....	iii
Liste des figures.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des photos.....	vi
Liste des annexes.....	vii
INTRODUCTION.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. DESCRIPTION DE LA PLANTE.....	4
1. Généralités.....	4
2. Morphologie.....	4
3. Mode de reproduction.....	6
II. PLACE DE L'ARACHIDE DANS L'ECONOMIE SENEGALAISE.....	9
1. Importance de la culture.....	9
2. Contraintes à la production.....	10
3. Les points vulnérables de la filière.....	12
III. GENERALITES SUR LES AFLATOXINES.....	15
1. Toxicité des aflatoxines.....	16
2. Les champignons aflatoxinogènes.....	18
2-1. Morphologie et biologie.....	19
2-2. Conditions de toxino-gène-se.....	21
3. Méthodes de lutte.....	22
3- 1. Prévention de la contamination au champ.....	22
3.1.1. Techniques culturales	23
3.1.2. La résistance génétique.....	24
3 -2. Méthodes curatives.....	26
3.2.1. Méthodes physiques.....	26
a) Le tri.....	26
b) Le Traitement thermique.....	27
3.2.1. Méthodes chimiques.....	28
3.2.3. La lutte intégrée.....	30

PARTIE EXPERIMENTALE

I. PRÉSENTATION DE L'ESSAI.....	32
1. Objectifs de l'essai	32
2. Conduite de l'expérimentation	32
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	33
1. Matériel.....	33
1-1. Matériel végétal.....	33
1-2. Matériel biologique.....	34
1-3. Matériel de laboratoire.....	35
2. Méthodes.....	35
2.1. Dispositif expérimental.....	35
2.2. Détermination du taux de contamination naturelle des graines par <i>A. flavus</i>	35
2.3. Détermination du taux de contamination artificielle des graines par une souche banale d' <i>A. flavus</i>	37
2.4. Détermination de la sensibilité des graines à l'infestation par une souche mutante d' <i>A. flavus</i>	37
2.5. Détermination de l'humidité des graines à la récolte	39
2.6. Détermination du niveau de contamination du sol par <i>A. flavus</i>	39
2.7. Détermination de la teneur en huile des génotypes	39
2.8. Détermination de la teneur en aflatoxine des génotypes	40
2.9. Analyse des données.....	40
III. RESULTATS EXPERIMENTAUX	41
1. Conditions environnementales.....	41
a) Parasitisme,	41
b) Pluviométrie	41
c) Humidité relative	41
d) Température.....	41
2. Performances agronomiques : rendement en gousses et poids de 100 graines	44
a) Rendement en gousses.....	44
b) Poids de 100 graines.....	46

3. Comportement des variétés vis-à-vis de la contamination par A. <i>flavus</i> / A. <i>parasiticus</i>	47
a) Contamination naturelle des arachides..	47
b) Contamination artificielle des graines par A. <i>flavus</i>	51
c) Corrélations entre les tests mis en œuvre..	58
4. Relations entre le niveau de contamination du sol et le taux variétés par A. <i>flavus</i>	61
5. Teneur en huile et niveaux de contamination des variétés par l' aflatoxine	63
DISCUSSION GÉNÉRALE	65
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	69
BIBLIOGRAPHIE	

Résumé

4

Les produits *arachidières* occupent une place importante dans l'économie sénégalaise. Cependant la présence d'*aflatoxines* obère considérablement leur utilisation tant en alimentation humaine et animale qu'à l'échelon industriel.

La recherche de variétés tolérantes représente la voie la plus séduisante pour réduire la contamination par l'*aflatoxine* ; mais les méthodes classiques d'évaluation de la tolérance des variétés vis-à-vis d'*A. flavus* au laboratoire fournissent des résultats souvent contradictoires avec ceux de la contamination naturelle au champ.

Dans cette étude, une souche mutante d'*A. flavus* productrice d'acide norsolorinique a été utilisée pour caractériser la réaction des variétés vis-à-vis d'*A. flavus*. L'utilisation combinée de cette méthode avec d'autres techniques d'évaluation du comportement variétal vis-à-vis d'*A. flavus* permet d'obtenir des résultats encore plus fiables.

Cependant pour une utilisation exclusive de cette technique à cette fin, il faudra substituer l'estimation visuelle de l'extension de la couleur caractéristique de l'acide norsolorinique par la détermination quantitative de ce composé.

Il ne fait aucun doute que l'amélioration de la technique d'utilisation du mutant d'*A. flavus* pourra fournir aux sélectionneurs, un outil fiable et rapide pour discriminer les descendance de croisements.

Mots-clés : Arachide - *Aspergillus flavus* - Souche mutante - Contamination naturelle - Contamination artificielle - acide norsolorinique - Méthodes de lutte - Résistance génétique - Aflatoxine

Abstract

7

Peanut products are highly ranked in Senegalese economy. But the presence of aflatoxins limits their use for human consumption, animal feed and in industry.

Resistant varieties have been proven as the most reliable control method. However the available laboratory techniques to evaluate genotype reaction often give contradictory results to those of field infestation.

In this study, a norsolorinic acid producing mutant of *A. flavus* has been used to characterize varieties reaction to *A. flavus*. The combined use of this method and other technics to evaluate varieties against *A. flavus* gave more reliable results. However using exclusively this method would necessitate quantitative determination of norsolorinic acid content of artificially infested plant parts instead of a visual evaluation of contaminated kernels.

The improvement and utilization of the *A. flavus* mutant form technic would constitute a fast and reliable method for breeders to discriminate individuals in segregating generations for the presence of aflatoxins.

Key words : Peanut - *Aspergillus flavus* - Mutant strain - Natural contamination - Artificial contamination - Norsolorinic acid - Control methods - Genetic resistance - Aflatoxin.

DEDICACES

A toi Yaye Mou **Ndaw** (Rokhaya Doucouré), je n'oublierai jamais les nuits que nous avons passées ensemble, toi, Waldé et moi-même. Repose en paix.

A mes très chers parents, Boubacar Doucouré et **Nafissa** Kounta pour le sacrifice toujours consenti pour notre éducation. Que Dieu vous accorde longue vie.

A la petite Dieynaba, mon amie et à tous les autres membres de ma famille pour m'avoir toujours soutenu.

A Cheikh Cissé (**Mahamat**), tes conseils m'ont été précieux.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je remercie Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné force et santé pour l'accomplir.

Il a été réalisé au laboratoire d'aflatoxine du Centre National de la Recherche Agronomique (CNRA), à Bambey.

Que Monsieur Amadou **BA**, Chercheur et Coordonnateur du Réseau Arachide de la Conférence des Responsables de Recherche Agronomique en Afrique de l'Ouest et du Centre (CORAF) trouve ici, l'expression de ma profonde gratitude pour l'encadrement rapproché, les conseils et les encouragements qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Je remercie Monsieur Moussa Fall, Directeur de l'ENSA pour la qualité de l'enseignement qui m'a été généreusement dispensé; à travers lui mes remerciements s'adressent à l'ensemble du corps professoral et au personnel Administratif et Technique.

Mes remerciements vont également à :

Monsieur **Dogo Seck**, chef du CNRA de m'avoir accueilli au sein de cette structure et de m'avoir fourni un appui constant. Merci pour tout.

Madame Danièle Clavel, chercheur **CIRAD/ISRA** pour le soutien et la disponibilité dont elle a su faire preuve à mon égard. A travers elle, je remercie tout le personnel sympathique du Laboratoire ARASEC.

Monsieur **Saliou** Ndiaye, Chef du Département Productions Végétales, pour ses conseils méticuleux.

Messieurs Pape Ibra Samb, Alioune **Coly** et **Saliou** Ciss pour l'honneur qu'ils nous font de siéger dans ce jury.

Je suis heureuse de remercier tout particulièrement Madame Sokhena Sow Tall, MM Ngor Diagne et Ousseynou Ciss qui n'ont eu de cesse de m'aider à réaliser ce travail ainsi que Ciré Elimane **Sall** pour l'assistance portée dans l'analyse statistique des résultats.

Que Sophie Faye, ma **sœur** et amie qui a toujours su m'entourer de sa gentillesse et de sa compréhension trouve ici, l'expression de ma sincère reconnaissance.

J'exprime également ma reconnaissance à Abdoulaye Faye Sarr et à sa famille pour la disponibilité dont ils ont su faire preuve à mon égard.

A mes promotionnaires, ainsi qu'à tous les élèves ingénieurs de l'ENSA pour les années passées ensemble. Sincères amitiés.

Je ne saurai enfin oublier tous mes amis ainsi que le personnel du CNRA pour la sympathie qu'ils m'ont témoignée. Qu'ils en soient tous remerciés.

LISTES DES FIGURES

- Figure 1 Types de ramification chez l'arachide
- Figure 2 Plant d'arachide
- Figure 3 Carte variétale de l'arachide
- Figure 4 Morphologie d'un *Aspergillus*
- Figure 5 Cycle de développement de *Aspergillus spp*
- Figure 6 Schéma de détoxification de l'aflatoxine B 1 par traitement à l'ammoniac
- Figure 7 Répartition de la pluviométrie décadaire (Nioro)
- Figure 8 Evolution de l'humidité relative décadaire (Nioro)
- Figure 9 Evolution de la température décadaire (Nioro)
- Figure 10 Rendement en gousses (**kg/ha**) des variétés
- Figure 11 Poids de 100 graines (g) des variétés
- Figure 12 Contamination naturelle des variétés au champ (graines non stérilisées)
- Figure 13 Contamination naturelle des variétés au champ (graines préalablement stérilisées en surface)
- Figure 14 Contamination artificielle des variétés avec la souche banale d'*A. flavus*
- Figure 15 contamination artificielle des variétés avec la souche d'*A. flavus*
- Figure 16 Droites de régression entre divers tests de contamination
- Figure 17 Populations de spores d'*Aspergillus flavus* dans le sol à différentes phases du cycle de la plante

LISTES DES TABLEAUX

- Tableau I : Teneur en acides gras de l'arachide et recommandations de la FAO.
- Tableau II : Formules brutes des aflatoxines B₁, B₂, G₁, G₂, M₁.
- Tableau III : Manifestations pathologiques causées par la consommation de denrées contaminées par l'aflatoxine B₁.
- Tableau IV : Caractéristiques essentielles des 2 champignons producteurs d'aflatoxines, *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*
- Tableau V : Excrétion d'aflatoxines ($\mu\text{g}/100\text{g}$) en fonction de la température sur graines inoculées par une suspension de spores d'*A. flavus*
- Tableau VI : Teneurs maximales en aflatoxines autorisées par le règlement CE n°1525/98 dans les arachides
- Tableau VII : Liste de variétés mises en test.
- Tableau VIII : Rendements en gousses (kg/ha), et poids de 100 graines (g) des géotypes.
- Tableau IX : Taux de contamination naturelle (au champ) des graines non stérilisées en surface.
- Tableau X : Taux de contamination naturelle (au champ) des graines stérilisées en surface.
- Tableau XI : Taux de contamination artificielle des graines par *A. flavus*
- Tableau XII : Contamination artificielle des graines avec la souche mutante.
- Tableau XIII : Classement des variétés par rapport aux paramètres de la contamination suivant diverses échelles relatives
- Tableau XIV : Corrélations entre les divers paramètres
- Tableau XV : Evolution de la population de spores par g de sol pour différentes dates de prélèvement allant du semis à la récolte
- Tableau XVI : Teneurs en huile et aflatoxine B 1

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : *Aspergillus flavus*, Souche banale

Photo 2 : *Aspergillus flavus*, Souche mutante

Photo 3 : Coloration orange caractéristique de l'acide norsolorinique

Photo 4 : Graines d'arachide colonisées par *A. flavus*, souche banale

Photo 5 : Graines d'arachide contaminées par *A. flavus*

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1	Plan de l'essai Nioro
Annexe 2	Milieux de culture
Annexe 3 :	Détermination du niveau de contamination du sol par <i>A. flavus</i>
Annexe 4	Humidité des graines à la récolte

INTRODUCTION

L'arachide (*Arachis hypogaea* L.), légumineuse originaire d'Amérique du Sud est l'un des oléagineux les plus cultivés dans le monde. Sa production donne lieu à une intense activité de transformation industrielle pour la fabrication d'huile destinée à la consommation et de tourteau utilisé en tant qu'aliment de bétail. L'arachide est également une culture vivrière et, à ce titre, elle intervient pour une large part dans la couverture des besoins alimentaires des populations. Ses fanes constituent un excellent fourrage pour le bétail.

Au Sénégal, l'arachide occupe une place de choix sur l'échiquier des productions agricoles. Sa production est estimée à 588.181 tonnes durant la campagne 1996-1997, (BCEAO, 1997). De par les devises que procure sa vente sur les marchés extérieurs, l'arachide représente une importante source de revenus et d'emplois pour les producteurs ruraux et les acteurs de la filière. Cependant, l'une des contraintes à son utilisation tant en alimentation humaine que pour le bétail tient à la présence fréquente d'aflatoxines dans les graines.

C'est en 1960 que s'est posée, pour la première fois en Angleterre, la problématique de la présence des aflatoxines dans les aliments de bétail. Depuis cette époque, cette question ne cesse de préoccuper aussi bien les pays importateurs que les pays producteurs d'arachides

Les aflatoxines constituent les mycotoxines les plus toxiques connues à ce jour. Ce sont des métabolites secondaires produits par des souches toxigènes de champignons s'inscrivant à deux espèces : *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*. Un rôle certain a été attribué en expérimentation animale à ces aflatoxines dans la formation des lésions hépatiques pouvant aller jusqu'à la cancérisation du foie chez les animaux nourris à base de produits les incluant. De fortes présomptions pèsent, d'ailleurs, sur le rôle de ces substances dans l'étiologie du cancer primitif du foie chez les populations des zones tropicales.

En conséquence, la présence de ces mycotoxines, même en quantités infimes, dans les aliments destinés à l'homme ou au bétail introduit un risque grave pour leur santé. Ce fait revêt une importance particulière lorsqu'on sait que les agents générateurs de ces toxines sont des saprophytes présents dans presque tous les types de sols et que les conditions de température, d'humidité relative et la teneur en eau des produits agricoles au moment de la récolte en milieu tropical sont de nature à favoriser leur prolifération massive. Cela se traduit chez l'arachide soit par une contamination pré-récolte des gousses et graines, singulièrement

lorsqu'une sécheresse sévit en fin de cycle, soit par une contamination post-récolte lors du séchage et de la conservation des produits.

Les génotypes d'arachide présentent une sensibilité différente à l'infestation par *A. flavus* et *A. parasiticus* et à la production subséquente d'aflatoxines. Les tentatives de classification de ces génotypes sur la base de leurs comportements vis-à-vis de ces champignons tendent à prouver que l'échelle de résistance établie au champ par détermination de la contamination naturelle n'est pas toujours corrélée avec les résultats de tests de contamination artificielle menés au laboratoire.

Aussi pour rendre plus efficace la lutte contre l'aflatoxine par voie génétique, il importe d'identifier des critères fiables de caractérisation du comportement du matériel végétal face à la colonisation par les champignons aflatoxinogènes et à la production subséquente d'aflatoxines. Cette étape constitue un préalable essentiel à l'élaboration de schémas de sélection pertinents.

Le but de ce travail est de mettre au point une méthode simple de caractérisation fiable du comportement de divers génotypes vis à vis de la contamination par l'aflatoxine B₁. Cette méthode se fonde sur une technique d'infestation artificielle mettant en œuvre une souche mutante d'*A. flavus* productrice d'acide norsolorinique, précurseur de l'aflatoxine. Le but recherche ici est d'analyser les relations possibles entre d'une part l'extension du pigment orange symptomatique de la présence d'acide norsolorinique dans les graines et, d'autre part les taux de contamination naturelle des génotypes par *A. flavus* et leurs teneurs en aflatoxine B₁ et d'apprécier, en conséquence, l'intérêt de cette technique pour une caractérisation *ex-ante* du comportement des variétés ou lignées d'arachide eu égard à *A. flavus*.

Ce document comprend deux parties :

- La première partie, bibliographique, présente les données générales *sur* la plante, sa morphologie et son mode de reproduction ; situe la place de l'arachide dans l'économie sénégalaise ; analyse les problèmes posés **par** la présence des aflatoxines dans les produits et **dérivés** et passe en revue les méthodes de lutte mises en œuvre à diverses échelles.
- La seconde partie, analytique, décrit les expérimentations menées en vue d'une caractérisation du comportement de 20 variétés d'arachide vis-à-vis de la contamination

par *A. flavus*. Cette caractérisation est réalisée au moyen de tests de contamination naturelle et de tests de contamination artificielle mettant en œuvre une souche banale et une souche mutante du champignon aflatoxinogène. Des corrélations sont calculées entre ces divers tests en vue de mieux préciser les relations qu'ils entretiennent. Les performances agronomiques et les caractéristiques technologiques des diverses variétés sont également déterminées car elles constituent, en plus du comportement vis-à-vis de *A. flavus*, des critères déterminants dans l'option de vulgarisation.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. DESCRIPTION DE LA PLANTE.

1. Généralités

Le genre *Arachis* appartient à la Famille des Légumineuses, à la Sous-famille des Papilionacées, à la Tribu des *Hédysarées* et, selon A. Chevalier, à la sous-tribu des *Arachidinées* (Gillier.P. et Silvestre.P., 1969). Le genre *Arachis* comporte plusieurs espèces dont la seule cultivée est *Arachis hypogaea*, décrite par Linné en 1763. De nombreux autres auteurs l'ont étudié aux points de vue botanique et morphologique.

L'arachide cultivée est une plante annuelle herbacée à fructification souterraine. Originaires des régions tropicales d'Amérique du Sud, elle a été introduite dans la plupart des pays tropicaux à partir du XVI^e siècle (Pattee H. E. et Thomas S. H., 1995). La plante est extrêmement plastique ; les températures optimales pour son développement se situent entre 20° et 35°C ; mais sa croissance est inhibée en-deçà de 10° et au-delà 45°C. La température agit en fait sur la durée du cycle qui peut varier de 85 jours pour les variétés hâtives en climat tropical à 180 jours dans les régions froides (Bockelee-Morvan A., 1988).

2. Morphologie

Sa tige primaire, toujours dressée, est le plus souvent ramifiée dès la base. Selon les variétés, les rameaux sont "rampants", largement étalés sur le sol ou "érigés" jusqu'à une hauteur de 60 centimètres environ. Le port de la plante représente un des critères essentiels du système de classification de l'arachide en sous-espèces (Pehaut. Y., 1979). C'est ainsi que Bunting (cité par Gillier.P. et Silvestre.P., 1969) distingue deux groupes au sein de l'espèce selon que la ramification est séquentielle ou alternée (Fig. 1).

Dans le type séquentiel, les inflorescences apparaissent à plusieurs nœuds successifs des ramifications et, en général, les rameaux végétatifs ne se forment plus lorsqu'apparaissent les rameaux reproducteurs. Aussi, les arachides de ce type présentent-elles un axe central, quatre à six ramifications d'ordre $n+1$, rarement plus, et très peu de rameaux d'ordre supérieur. Ces arachides toujours érigées sont généralement peu ramifiées et de cycle court (80 à 100 jours). C'est le groupe des Valencia et Spanish.

Dans le type alterné, les ramifications d'ordre $n + 1$ sont également au nombre de quatre à six, mais quelquefois en nombre plus important. Elles donnent successivement deux rameaux

végétatifs et deux rameaux reproducteurs. Les rameaux suivants atteignent un ordre élevé et reproduisent tous la même alternance. Les arachides de ce type peuvent être rampantes ou érigées ; dans ce dernier cas, leur port est différent de celui du type séquentiel du fait d'une ramification plus abondante qui leur donne une allure buissonnante, C'est le groupe des Virginia, caractérisé par un cycle plus long (120 à 150 jours) (Gillier. P. et Silvestre .P., 1969).

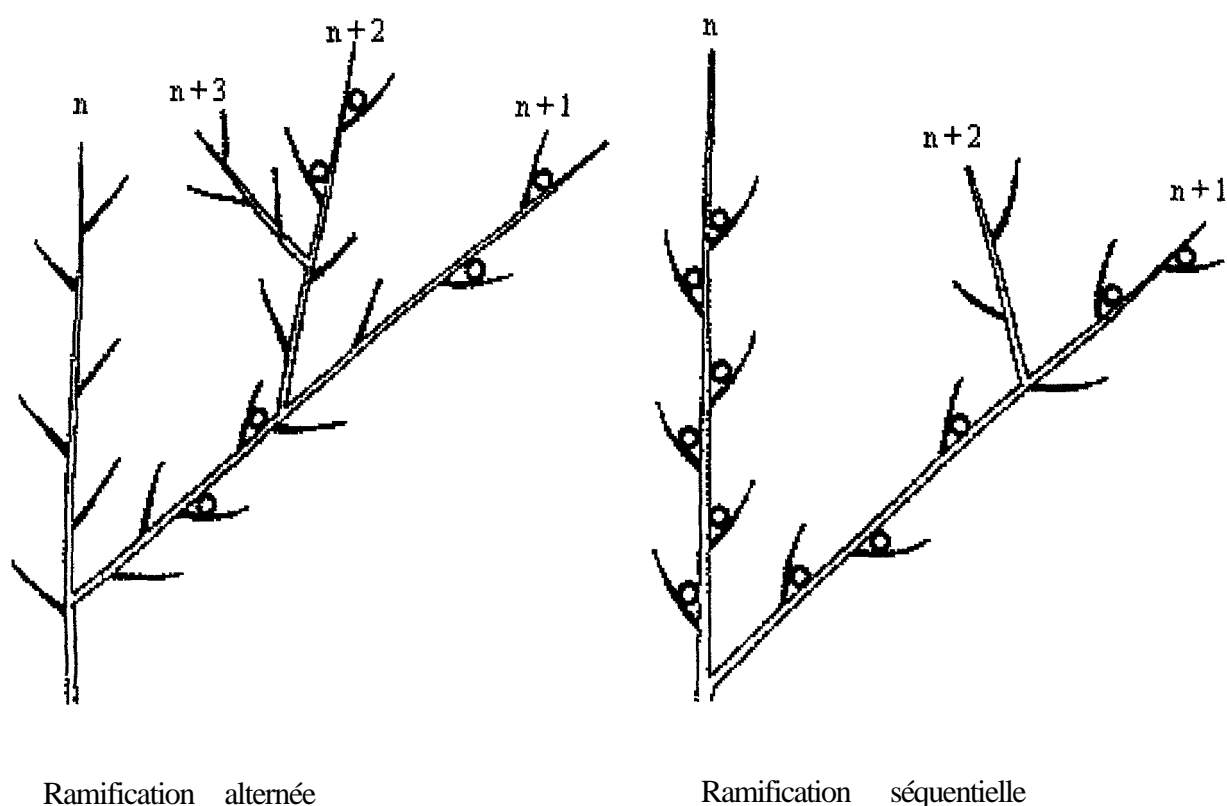


Figure 1 : Types de ramification chez l'arachide : Source : Pattee N.E. and Stalker H. T., 1995

Le pivot du système racinaire peut s'enfoncer jusqu'à plus d'un mètre de la surface du sol. Il présente des formations ligneuses contrairement à la partie aérienne. Les nodules à croissance indéterminée (*Bradyrhizobium*), caractéristiques des légumineuses, apparaissent à l'aisselle des racines latérales une quinzaine de jours après la levée et se rencontrent surtout dans les 15 premiers centimètres du sol. La tige prolonge le pivot au-delà du collet.

Les rameaux portent des feuilles alternées à deux paires de folioles opposées, de couleur vert-foncée chez les variétés tardives et, en général, verte plus claire, pour les variétés hâtives. Les feuilles se forment à chaque nœud de la tige. Elles jouent un rôle de première importance dans la photosynthèse et s'étiolent lorsqu'elles sont placées dans une obscurité prolongée.

Les inflorescences, très compactes, se situent à l'aisselle des feuilles et comportent 3 à 4 fleurs entourées de bractées. Les fleurs sessiles sont généralement jaunes, parfois oranges. Elles se composent d'un calice à 5 sépales soudés en un tube calical portant une corolle papilionacée typique. Les 8 étamines, dont 4 (courtes) ont une anthère sphérique et 4 (longues) une anthère à déhiscence longitudinale, composent l'androcée. En plus de ces 8 étamines, il existe 2 filets soudés, ne possédant pas d'anthère ; le plus souvent l'un est plus grand que l'autre. Le pistil comprend un seul ovaire renfermant 2 à 5 ovules et un seul style très long terminé par un **stérigmate** renfle surplombant les anthères.

Du fait de l'enterrement de la base des rameaux cotylédonaire, les fleurs produites à ce niveau sont souterraines. Les fleurs qui apparaissent sur le reste de la plante sont aériennes (Cattan P., 1996).

La date d'apparition des premières fleurs varie selon les variétés et les conditions agroclimatiques de culture. Dans les régions tropicales, les variétés hâtives qui appartiennent généralement aux groupes Spanish et Valencia peuvent fleurir dès le 20^e jour après le semis ; alors que les variétés tardives du groupe Virginia ne fleurissent qu'à partir du 25^e jour. Dans les régions tempérées ou d'altitude, la période du semis à la floraison s'allonge pour atteindre une cinquantaine de jours. En conditions favorables, comme en Afrique de l'Ouest, le nombre de fleurs émises est maximal entre le 40^e et le 60^e jour après semis, puis il décroît lentement sans s'annuler (Clavel. D. et Gautreau. J., 1997).

3. Mode de reproduction

L'autogamie est le mode normal de reproduction de cette plante à fleurs cléistogames. mais le taux: d'allogamie de l'arachide n'est pas pour autant nul et peut varier entre 0.2 et 6.6 % selon les types botaniques, les variétés, les localités et les insectes pollinisateurs présents. Après fécondation, la base de l'ovaire s'allonge à travers les pièces florales pour donner naissance à un prolongement à structure de tige, le gynophore, qui pointe vers le sol et contient les ovules fécondés à son extrémité. Le gynophore s'enterre verticalement tandis que la gousse en formation prend une position horizontale entre 2 et 7 centimètres sous la surface du sol.

Une plante émet entre 400 et 1000 fleurs (Spanish : 600 à 700 fleurs, Virginia jusqu'à 1000 fleurs) dont 10 à 20 % donneront des gousses qui, cependant, ne parviendront pas toutes à maturité ; seules les premières gousses formées, correspondant à la floraison "utile", pourront

s'enterrer et mûrir (Schilling R., 1996). Les variétés qui donnent les rendements les plus élevés, sont celles qui produisent le plus de fleurs durant les premières phases de la floraison.

Les gousses contiennent 1 à 5 graines selon les types botaniques. Leurs caractéristiques ainsi que celles des graines : réseau, forme, taille, couleur, constituent des critères importants de classification variétale (Ramanatha Rao V. et Murty U.R., 1994). Les graines dormantes (*Virginia*) ou non (*Spanish*, *Valencia*) sont recouvertes d'un tégument séminal ou cuticule, de couleur rose ou saumon ou rouge foncée, rarement blanche, marbrée ou violette, prenant une teinte plus foncée en vieillissant. Elles se composent de deux cotylédons et d'un embryon dont l'axe est droit. Cet embryon est une proplantule avec un épicotyle à 3 bourgeons contenant les ébauches des 6 à 8 premières feuilles et une **radicule** robuste.

La figure 2 reprend la morphologie globale de la plante.

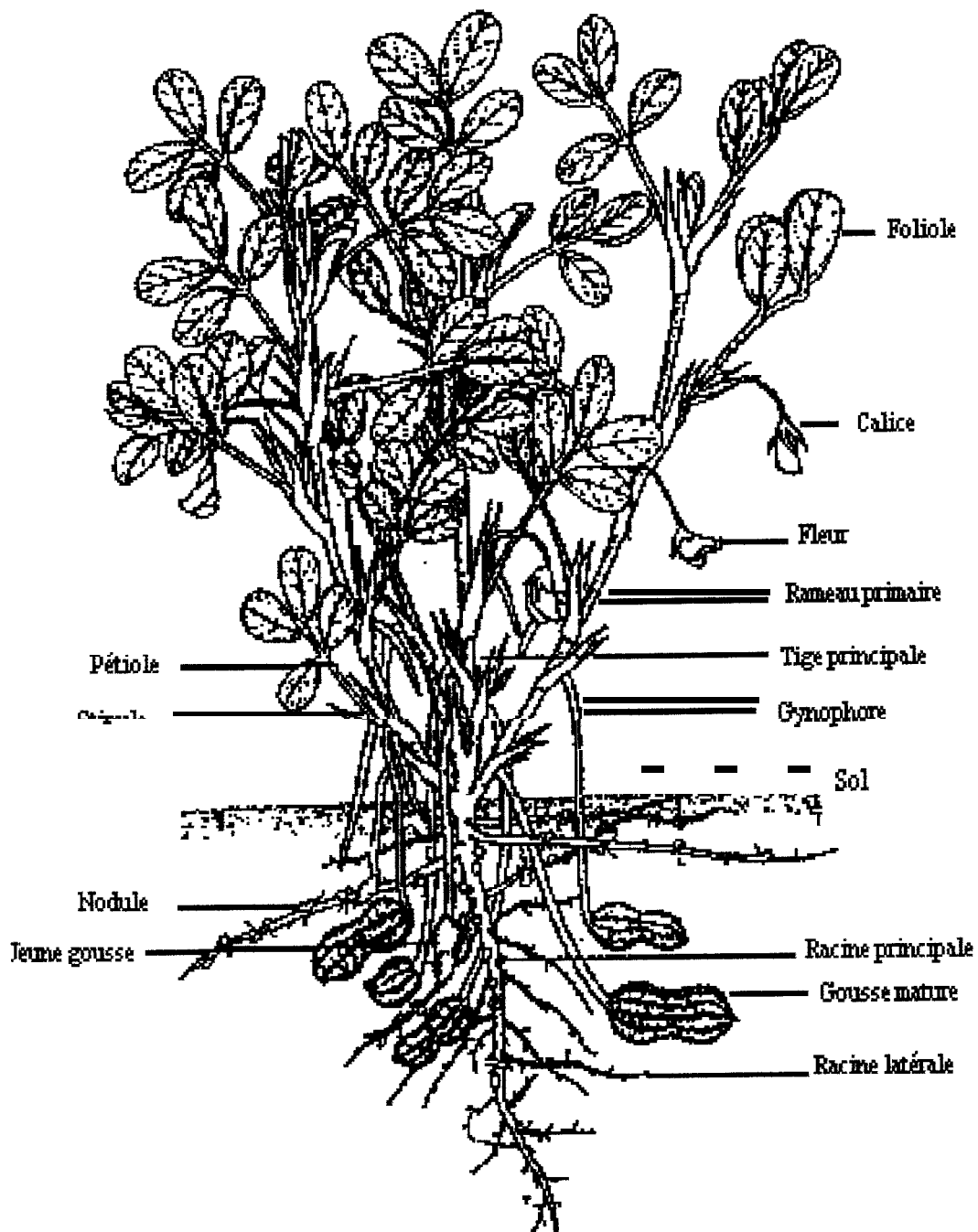


Figure 2 : Plant d'arachide : *Source : Pattee N. E. and Stalker H. T., 1995*

II. PLACE DE L'ARACHIDE DANS L'ECONOMIE SENEGALAISE

1. Importance de la culture

Le succès de la culture de l'arachide tient principalement à sa capacité de fixation de l'azote atmosphérique qui lui permet d'assurer un rendement même modéré sur des sols pauvres et avec un minimum d'interventions. Sa rusticité lui permet de s'adapter à des climats relativement secs et le développement souterrain de ses fruits la rend moins vulnérable que les céréales aux attaques extérieures (Annerose D., 1990).

Du point de vue alimentaire, l'arachide est un protéagineux possédant une valeur énergétique et nutritionnelle importante qui lui permet de jouer un rôle essentiel dans l'alimentation des populations productrices et également un rôle industriel, donc économique majeur au niveau national, par son débouché sur le marché agro-alimentaire international (Khalfaoui. J. L., 1988). Selon Schilling. R. (1996), la teneur de l'huile d'arachide en certains acides gras est très proche des recommandations actuelles de la FAO (Tabl. 1).

Tableau I : Teneur en acides gras de l'arachide et recommandations de la FAO.

Acides gras	Recommandations	Huile d'arachide
Acides gras saturés	25 %	21 % (Palmitique)
Acides gras mono-insaturés	50 %	58 % (Oléique)
Acides gras poly-insaturés	25 %	21 % (linoléique)

Source : FAO/OIL World (1996).

Le rapport **linoléique/oléique** peut toutefois varier dans de plus grandes limites, en fonction de divers facteurs, notamment la variété (Gillier. P. et Silvestre. P., 1969).

L'arachide occupe 50 % des superficies cultivées et, tient de ce fait, une place importante dans l'économie agricole du Sénégal. La production nationale avoisinait un million de tonnes (base coques) au lendemain de l'indépendance. Progressivement, elle a connu une croissance vertigineuse (1.400.000 tonnes en **1975**) puis un déclin progressif à partir des années 80. De nos jours, elle se situe entre 500.000 et 700.000 tonnes (Freud. C. et *al*, 1997). Cette baisse résulte de la conjugaison de multiples facteurs.

2. Contraintes à la production

L'une des contraintes majeures de la culture de l'arachide au Sénégal réside dans l'instabilité climatique qui se traduit par l'occurrence fréquente de cycles de sécheresse à partir des années 70. Ce phénomène, associé à la dégradation progressive de la fertilité des sols, explique dans une large mesure, la faible productivité des cultures et la mauvaise qualité sanitaire des produits. Il s'y ajoute d'autres facteurs liés, pour l'essentiel, aux fluctuations des cours mondiaux des oléagineux, à l'insuffisance du capital semencier aggravé par la qualité douteuse des réserves personnelles de semences et au désengagement de l'état des circuits d'approvisionnement en intrants (semences, engrais et matériel d'équipement). Il est bon de rappeler, à ce propos, que l'arachide bénéficiait de la part de l'Etat d'un important programme de soutien matérialisé par la mise en place d'un système de crédit à l'équipement et aux intrants : c'est le programme agricole. La parfaite intégration dont avait bénéficié sa filière, depuis la fourniture d'intrants jusqu'à la valorisation et commercialisation des produits avait fait du Sénégal, l'un des plus grands producteurs en Afrique de l'Ouest, après le Nigeria et le Soudan.

Mais face à l'endettement croissant du monde rural du fait de la baisse des productions **consécutives** aux sécheresses récurrentes, ce programme fut supprimé en 1980. En 1984-85, la Nouvelle Politique agricole fut mise en place consacrant ainsi le désengagement de l'Etat de ses missions **traditionnelles** d'encadrement du monde rural et le transfert au secteur privé des fonctions de gestion de sa filière. Cette politique fut renforcée par des politiques **d'Ajustement Structurel (PASI, PASII)** et par le Programme **d'Ajustement** du Secteur Agricole (**PASA**) dont les objectifs visaient entre autres, l'accroissement de la productivité par le biais de l'intensification des cultures. Cependant, des enquêtes réalisées en 1996-97 indiquent que l'engrais n'était plus apporté directement à la culture de l'arachide depuis l'avènement de la NPA.

De nos jours, la filière arachidière donne des signes d'essoufflement. Il en résulte une péjoration du cadre global de la production et de l'exploitation industrielle de ce produit. Ainsi, la part de l'arachide dans les exportations sénégalaises ne représente plus que 10 % en 1995 ; alors qu'elle en constituait 50 % en 1975, année de production-record. L'outil industriel dont la capacité de trituration est estimée à 900.000 tonnes se trouve ainsi sous-utilisé en

raison de la modicité des quantités d'arachide collectées (200.000 – 250.000 tonnes/an) (Freud C. *et al.*, 1997).

Parallèlement, on assiste à un développement important de la filière de transformation artisanale de l'arachide. Celle-ci conduit à l'obtention d'une huile très prisée en milieu rural et d'un tourteau utilisé aussi bien en alimentation humaine que par le bétail. Ces produits font l'objet d'un important commerce au détail dans les marchés ruraux. Cependant les exigences de rentabilité de cette activité, largement pratiquée par les femmes, font que seuls les lots de graines de qualité moyenne à mauvaise peuvent y être destinés ; les bonnes graines étant réservées à la vente en l'état ou utilisées comme semences. Ce phénomène qui prend de plus en plus d'ampleur en milieu rural pose un problème de santé publique dans la mesure où la matière première mise en œuvre ainsi que les produits qui en dérivent sont suspectés de contamination par *A. flavus* et de pollution par l'aflatoxine (Gaye M., 1997 ; Routière A. *et al.*, 1997).

Et pourtant, la dévaluation intervenue en 1994 semblaient donner de nouvelles opportunités à la relance de la production arachidière. C'est ainsi que les exportations de produits arachidières qui s'élevaient à 9,3 milliards en 1992 ; 8,7 milliards en 1993 avaient atteint 30 milliards en 1994. C'est dire que la production et l'exportation industrielle de l'arachide bénéficient encore de réels atouts sur les marchés extérieurs.

La production d'arachide de bouche, jadis développée en culture pluviale, présente aujourd'hui de réelles perspectives de relance en tant que culture de diversification dans la région du fleuve. Sa culture sous irrigation est de plus en plus maîtrisée offrant ainsi de nouvelles opportunités de production de semences de haute qualité et d'arachide de bouche et de confiserie (Dimanche P., 1997).

Compte tenu de la place potentielle de l'arachide dans l'économie agricole sénégalaise, de nouvelles mesures ont été mises en œuvre en vue de la relance de sa culture. Cependant celle-ci ne pourra porter ses fruits qu'à la condition que des avancées significatives soient enregistrées dans certains secteurs-clefs de la filière.

3. Les points vulnérables de la filière

Le raccourcissement de la saison pluvieuse en zone Nord et l'apparition fréquente de poches de **sécheresse** au centre et au sud du Sénégal posent le problème fondamental de l'adaptation des variétés actuellement vulgarisées. D'importantes recherches ont été menées au Sénégal en vue de la création de variétés précoces. Elles ont abouti à la création de **GC-8-35** (85 jours) et **Fleur 11** (90 jours). La mise en culture de ces variétés, en plus de la variété de cycle court traditionnellement cultivée (55-437 : 90 jours), contribue à élargir la gamme de choix des producteurs et constitue même une alternative à l'utilisation de la variété 55-437, singulièrement dans les zones à pluviométrie déficitaire (Fig. 3).

D'autres travaux de recherche visant la mise au point de variétés physiologiquement adaptées à des sécheresses sévissant en cours de cycle ont fourni des résultats prometteurs ; les premières générations issues des croisements étant en phase de tests multilocaux (Clavel D., 1998)

La recherche de variétés de plus en plus adaptées aux conditions changeantes du milieu et présentant de bonnes performances agronomiques constitue donc un préalable essentiel à l'amélioration durable de la production arachidière au Sénégal.

La problématique de la qualité hygiénique et sanitaire de l'arachide a pendant longtemps constitué un point d'achoppement à la transformation industrielle et à la valorisation alimentaire des produits arachidières. Et si, au niveau industriel, la SONACOS a réussi à mettre au point un procédé **efficace** de détoxification du tourteau d'arachide contaminé par l'aflatoxine, la présence de cette toxine dans les denrées de consommation courante (arachide de bouche et de confiserie, farine d'arachide entrant dans la composition d'aliments composés) se pose encore avec acuité et obère considérablement les perspectives de commercialisation de l'arachide de bouche sur les marchés extérieurs régis par une réglementation relativement sévère en la matière. Il importe, par conséquent, qu'un effort soutenu soit consenti en vue de la **résolution** de cette contrainte ; faute de quoi l'économie sénégalaise ne pourra pas tirer le meilleur parti des opportunités qu'offre l'arachide de bouche, produit à haute valeur ajoutée. Il s'y ajoute les implications de la consommation des denrées contaminées par les aflatoxines sur la santé des populations.

Enfin, il faut rappeler qu'après l'arrêt du programme agricole en 1980, la production arachidière est réalisée en grande partie à partir des semences issues de l'écrouissage des graines

destinées à l'huilerie. L'hétérogénéité de ce matériel et sa faible valeur semencière ont vite fait de convaincre les décideurs de la nécessité de définir une politique semencière plus réaliste. De nos jours, l'on s'accorde à reconnaître que la politique de relance de la culture de l'arachide n'aura de chance de réussir qu'à la condition de mettre à la disposition des producteurs, des semences de bonne qualité et en quantités suffisantes. La production et le renouvellement de ces semences doivent obéir à des schémas de multiplication rigoureux en vue *d'une* bonne préservation de leurs potentiels génétiques intrinsèques.

La mise en œuvre de ces mesures dans un nouveau cadre institutionnel marqué par la création du Comité National Inter-professionnel de l'Arachide (CNIA) devrait permettre de réaliser des progrès significatifs dans l'effort de relance de la culture arachidière.

Ce comité regroupe l'ensemble des acteurs de la filière arachide qui, avec le désengagement de l'Etat, ont désormais la charge de conduire la destinée de ce produit.

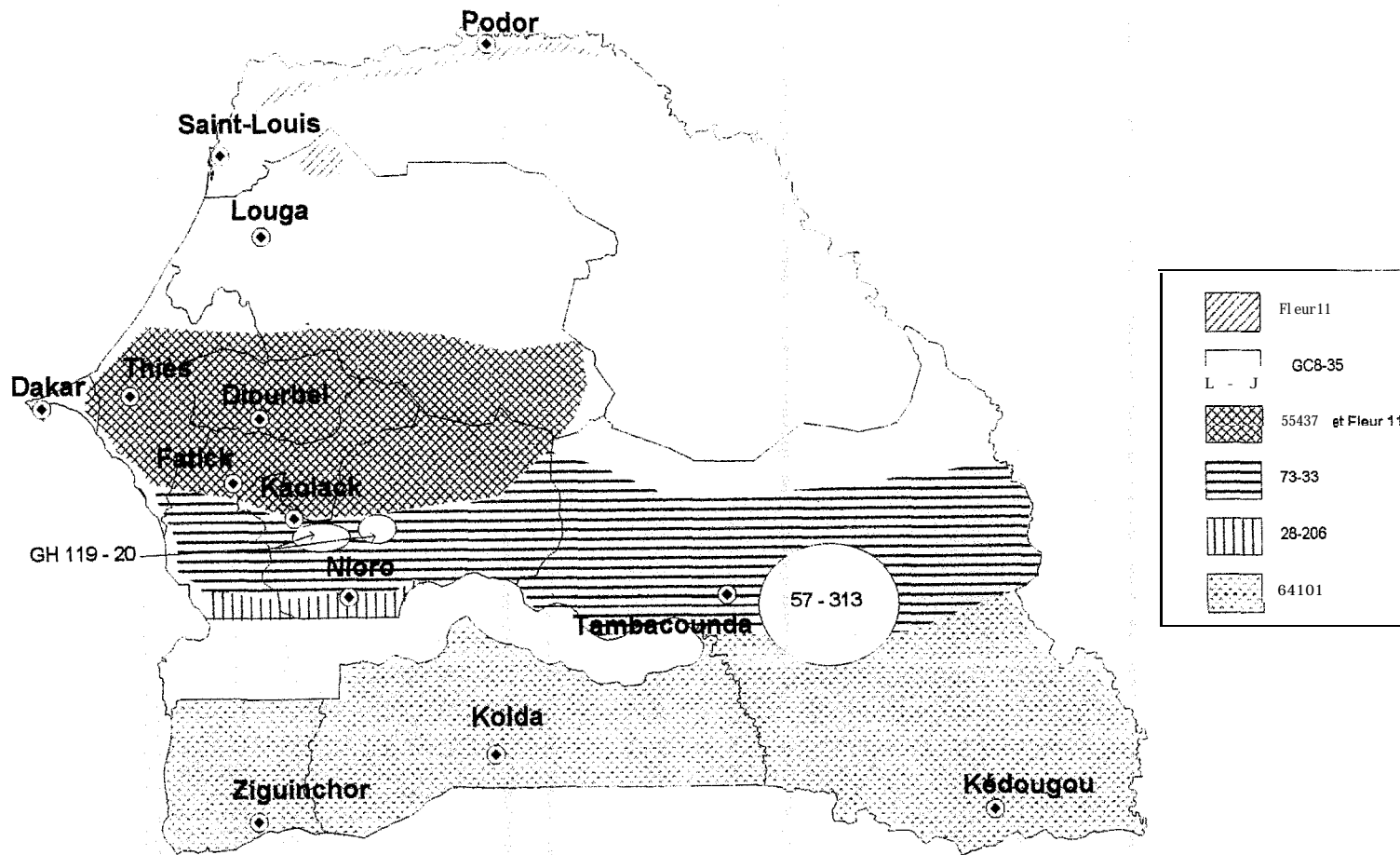


Figure 3. Carte variétale de l'arachide 1996

Laboratoire d'Aflatoxine - ISRA-CNRA - Centre National de la Recherche Agronomique- B.P. 53
 (221) 973 60 50/51/54 Fax (221) 973 60 52 -E-mail Isracnra@telecomplus.sn - Code NINEA : 0120 212

III. GENERALITES SUR LES AFLATOXINES

Les aflatoxines sont des mycotoxines excrétées par des champignons appartenant au genre *Aspergillus*. Les deux principales espèces productrices de ces toxines sont *Aspergillus flavus*, Link ex Fries et *Aspergillus parasiticus* – Speare.

Le problème des aflatoxines fût posé pour la première fois au Royaume Uni, en 1960, suite à une hétacombe observée dans un élevage de dindes dont la ration alimentaire incluait de l'arachide en provenance du Brésil. Des recherches ultérieures ont montré que cette pathologie, alors appelée "maladie X des dindes" (Blount W.P., 1961) était causée par des toxines produites par *Aspergillus flavus* (Sargeant.K. et al, 1961) d'où le nom qui en dérive (Aflatoxines : Afla = *A. flavus*, toxines = toxines).

Les aflatoxines constituent une grande famille de composés de structures chimiques voisines (Tabl. II). On en dénombre une vingtaine à ce jour ; mais l'attention est généralement portée sur les aflatoxines B₁, B₂, G₁, G₂ et M₁ car ce sont elles que l'on retrouve le plus fréquemment dans les denrées de consommation courante et qui, par conséquent, font l'objet d'une réglementation stricte dont la sévérité constitue un obstacle majeur à l'effort d'utilisation alimentaire et de commercialisation des produits arachidières sur les marchés internationaux (Swindale L. D., 1987).

Tableau II : Formules brutes des aflatoxines B₁, B₂, G₁, G₂, M₁.

Aflatoxine	Formules brutes
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇

Source : OMS, 1979

Les autres molécules d'aflatoxines sont, pour la plupart, des dérivés de transformation par les animaux ou les bactéries de celles ci-avant mentionnées. Parmi toutes les aflatoxines, l'aflatoxine **B1** est la plus importante, parce que la plus fréquemment rencontrée et la plus toxique.

Les aflatoxines du groupe B se distinguent de celles du groupe G par au moins trois caractéristiques essentielles : (i) la couleur de leurs spots sous lumière ultraviolette (365 nm), (ii) leurs distances de migration sur plaque chromatographique dans un système solvant donné et, enfin, (iii) la conformation de leurs molécules (Keenan J. I et Savage G. P., 1994)

- Les aflatoxines B ont une couleur bleue, une distance de migration plus courte et le dernier noyau de leurs molécules est un cyclopentenone
- Les aflatoxines G présentent une couleur verte ; leur distance de migration est supérieure à celles des aflatoxines B et leur dernier noyau est un hétérocycle incluant une fonction lactone.

Les aflatoxines du groupe 1 (**B₁**, **G₁**, **M₁**) ont la particularité de posséder un groupement bifuranique comportant une double liaison 2-3 vinyl-ether sur le premier noyau cyclopentanique. Cette double liaison est le site d'interactions spécifiques avec certains constituants cellulaires. Elle peut, en particulier, être epoxydée par des mono-oxygénases microsomiques pour former l'Aflatoxine **B₁2, 3 epoxyde**, métabolite très actif, susceptible d'interférer dans le métabolisme de l'ARN et de l'ADN et de conférer ainsi à cette toxine un pouvoir à la fois **cancérogène** et **mutagène** (Frayssimet. C, 1982).

Les aflatoxines du groupe 2 (**B₂**, **G₂**, **M₂**) se caractérisent par l'absence de la double liaison sur le noyau bifuranique.

1. Toxicité des aflatoxines

Les aflatoxines, singulièrement l'aflatoxine **B₁**, se classent parmi les substances **cancérogènes** les plus puissantes connues à ce jour. Cependant, la sensibilité à ces composés varie selon l'espèce, l'âge et l'état nutritionnel.

Parmi les animaux, la truite et les volailles s'avèrent être les plus sensibles avec des **DL₅₀** inférieures à 1 mg/kg (Frayssinet. C., 1982; Pier A. C., 1986). De même, les monogastriques

dont on sait que la DL_{50} est comprise entre 1 et 10 mg/kg sont réputés être plus sensibles que les polygastriques qui, eux, ont la possibilité d'induire des modifications moléculaires grâce à leur flore bactérienne, ôtant ainsi à ces substances tout leur potentiel initial de toxicité. Les vaches laitières transforment dans leurs mamelles, l'aflatoxine B_1 en aflatoxine M_1 tout aussi toxique. On parle alors de "toxicité de relais".

La *toxicité* des aflatoxines se manifeste chez les animaux par une symptomatologie relativement variée : phénomènes **nécrotiques** et hémorragiques chez les oiseaux, proliférations cellulaires au niveau des canalicules biliaires, augmentation du volume des hémacies, hémorragies intestinales chez les mammifères. (Pohland A. C. et Wood G. E., **1987**).

Chez l'homme, des études épidémiologiques conduites en Afrique, en Asie et aux Etats-Unis ont montré que l'ingestion d'aflatoxines a une incidence certaine sur l'étiologie du cancer du foie. Cet effet **cancérogène** a été mis en évidence chez des espèces animales soumises à des **expérimentations** de longue durée. De plus, les études réalisées par Clifford J. 1. et *al.* (1967) chez le rat et par Zucherman A. J. et *al.* (1967) sur les cellules de foie humain en culture ont montré que les aflatoxines sont des inhibiteurs de synthèse extrêmement actifs. En fait, elles induisent le blocage de la synthèse de l'ARN, de l'ADN et des protéines.

L'ingestion de doses d'aflatoxines relativement importantes provoque une intoxication aiguë. L'ingestion de faibles doses sur une période relativement longue induit une intoxication chronique.

L'aflatoxine n'est pas une toxine spécifique à l'arachide, même si celle-ci en constitue le substrat de prédilection. On la retrouve, entre autres, sur le riz, le manioc, le maïs (Pohland A. C. et Wood G. E., 1987). Le tableau III récapitule les cas d'aflatoxicoses aiguës et sub-aiguës ainsi que leurs manifestations pathologiques observées dans certains pays.

Tableau III : Manifestations pathologiques causées par la consommation de denrées contaminées par l'aflatoxine B₁.

Pays	Nombre de cas étudiés	Aliment		Manifestations pathologiques
		Nature	Contamination par l'aflatoxine B ₁ (mg/kg)	
Taiwan	26	riz	0.2	hépatite, 3 décès
Ouganda	3	manioc	1.7	hépatite, 3 décès
Inde	20	arachide	0.3	hépatite chez 3 indiv. puis cirrhose
Inde	Plusieurs centaines	maïs	0,25 - 15	hépatite, plus de 100 décès

Source : *Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés (Tome II) 1982*

D'une manière générale, les sujets jeunes sont plus sensibles à ces toxines que les sujets âgés; un état nutritionnel peu satisfaisant constitue un terrain favorable à l'expression des effets délétères de ces toxines (Lafont. P. et Lafont. J., 1982)

2. Les champignons aflatoxinogènes

On connaît actuellement deux champignons capables de produire des aflatoxines : *A. flavus* et *A. parasiticus*. Ces champignons appartiennent à la Classe des Deuteromycètes ou "*Fungi Imperfecti*", à l'ordre des Hyphales et au Genre *Aspergillus*. Au sein de ce genre, on dénombre une vingtaine d'espèces dont les plus courantes en dehors de celles précitées sont : *A. niger*, *A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. versicolor* (Richard-Molard. D., 1982)

Aspergillus flavus et *A. parasiticus* sont des champignons saprophytes. A l'inverse des champignons parasites, ils ne sont pas capables de bien se développer sur des tissus de plantes d'arachide en état de fonctionnement végétatif normal. En revanche, leur croissance se déroule normalement sur des organes morts ou sur des tissus en quiescence, sans activité métabolique importante. Toutefois, ces champignons peuvent parfois se comporter en parasites facultatifs (Pettit R. E., 1990). En effet des cas de parasitisme ont été signalés lorsqu'ils envahissent les

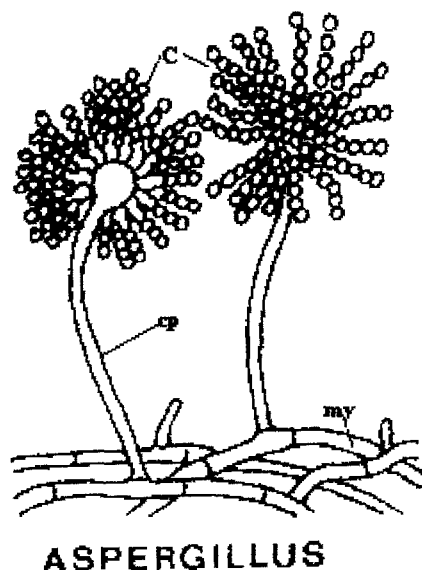
plants d'arachide directement ou lorsqu'ils attaquent des tissus rendus sensibles par le stress environnemental (déficit en eau; attaques d'insectes, de nématodes....). L'exemple le plus connu est l'"aflaroot" dont les symptômes se manifestent d'abord par des tâches sur les cotylédons, suivies du développement d'une moisissure vert-jaune. Il s'ensuit une pourriture rapide des plantules, 4 à 8 jours après germination de la graine. Si l'attaque est plus tardive, on observe une pourriture sèche des feuilles cotylédonnaires, mais celle-ci n'entrave pas le développement ultérieur de la plante. Le champignon reste alors localisé à l'état latent dans les cotylédons jusqu'à complète disparition de ceux-ci. Toutefois, le développement racinaire s'en trouve quelque peu affecté. Les plantes ainsi attaquées présentent un nanisme accusé, mais peuvent parfois se rétablir rapidement si les conditions deviennent favorables (Subrahmayam. P. et *al.*, 1992).

2-1. Morphologie et biologie.

Les moisissures du genre *Aspergillus* sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif, le thalle, est formé d'un long filament ramifié et souvent cloisonné, appelé hyphe. En début de croissance, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu. Celui-ci se présente comme une sorte de feutrage à la surface des graines colonisées. Ces champignons ne sont pas dotés d'une capacité photosynthétique. La structure filamenteuse du thalle le rend particulièrement apte à coloniser les substrats solides. En raison de leur ubiquité et de leurs possibilités d'adaptation physiologique à diverses conditions écologiques, ces moisissures sont des organismes très redoutables sur les grains et graines, notamment au cours du stockage.

Aspergillus flavus et *A. parasiticus* se reproduisent par voie végétative en formant des spores (conidies) qui prennent naissance au niveau des hyphes spécialisés appelés conidiophores dont la longueur varie entre 300 et 500 μm (Middleton k. J. et *al.*, 1994). Une vésicule prend naissance à la terminaison de chaque conidiophore. Sur cette vésicule apparaissent des cellules conidiogènes, les phialides au niveau desquelles se différencient les conidies qui, à maturité, se présentent en longues chaînes de couleur jaune-verdâtre, dans l'axe des phialides (Pettit R. E., 1990) (Fig 4).

Ces deux champignons producteurs d'aflatoxines se différencient par leurs caractères morphologiques et par la nature de leurs métabolites (Tabl. IV).



Légende

C : conidies
 Cp : Conidiophore
 My : Mycélium

Figure 4 : Morphologie d'un Aspergillus

Source : Richard M. D., 1982.

Tableau IV: Caractéristiques essentielles des 2 champignons producteurs d'aflatoxines, *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*

Caractéristiques	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>
Structure du conidiophore	Régulièrement bisériée	Le plus souvent unisériée, parfois mixte
Conidie	De presque lisse à légèrement rugueuse	Nettement verruqueuse
Couleur de la colonie	jaune-Verdâtre	vert foncé
Surface de la colonie	Irrégulière, présence de quelques hyphes aériens	compacte, veloutée
Métabolites	AFB1 + AFB2 et acide cyclopiazonique (protéolytique)	AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2 (lipolytique)

Source : Diener U. L., 1986.

Protégées par une paroi cellulaire résistante et disposant de substances nutritives de réserve accumulées au moment de la conidiogénèse, les spores constituent, dans une certaine mesure, une forme de conservation du champignon lui permettant, en conditions adverses (sécheresse, températures sub-optimales) de survivre au mycélium qui lui a donné naissance. Lorsque les conditions environnementales deviennent extrêmes, ces champignons produisent des sclérotés, formes de survivance encore plus durables (Diener U. L et David N. D, 1986).

Un thalle peut produire une dizaine de millions de spores sur une graine. Lorsque les conditions hygrothermiques sont favorables, la spore produit un premier filament **mycélien** qui, en se ramifiant au fur et à mesure, donne naissance à une colonie présentant un amas **mycélien** de forme circulaire à partir duquel se différencient progressivement les conidiophores et les conidies de la nouvelle génération.

En conditions optimales, ce cycle s'accomplit en 48 heures ; mais en règle générale, il s'étale sur 5 à 10 jours (Richard M. D., 1982) (Fig. 5).

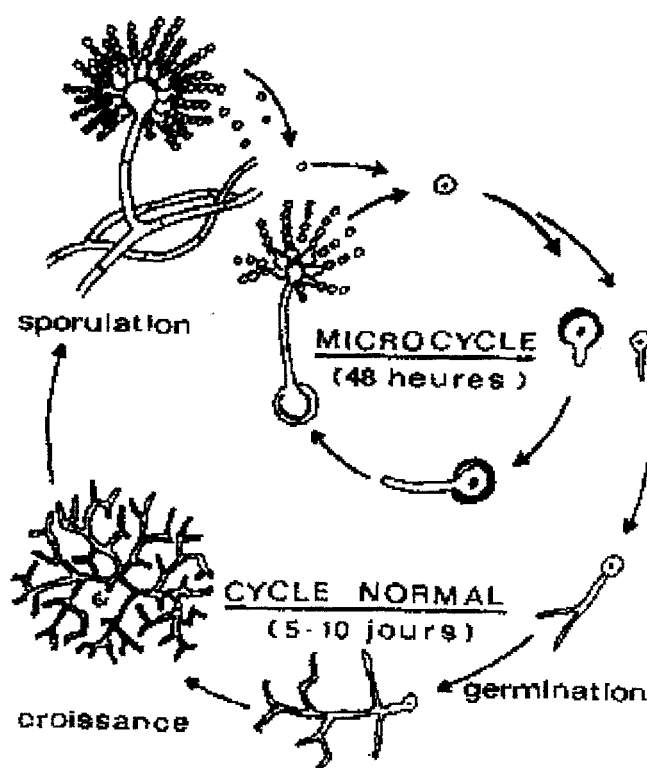


Figure 5 : Cycle de développement de *Aspergillus* spp.

Source : Richard M.D., 1982

2-2. Conditions de toxinogénèse

La présence d'*A. flavus* et *A. parasiticus* dans les denrées végétales n'induit pas forcément la production d'aflatoxines. La synthèse de celles-ci est fonction des conditions environnementales (température et humidité relative), de la nature du substrat, du stade de développement des champignons et de leur aptitude à produire ou non des aflatoxines. Ainsi, si ces champignons sont capables de se développer à des températures comprises entre 10 et 45°C (Diener U. L et David N. D, 1986), la synthèse des aflatoxines, elle, n'intervient qu'à des températures situées entre 20 et 35°C ; lorsque l'humidité relative est comprise entre 80 et

85%. Ces conditions atmosphériques sont très fréquemment rencontrées en Afrique tropicale sèche ou humide, singulièrement en période de récolte. Dès lors, l'on comprend aisément que les produits végétaux, notamment l'arachide, constituent dans ces zones, les substrats de **prédilection** des champignons **afktoxinogènes**, surtout au moment de la récolte, lorsque les gousses renferment 30 à 35% d'eau.

De plus, la température conditionne le niveau de toxicité (Tabl V) : plus elle est élevée, plus la proportion d'afktoxines hautement toxiques excrétée (afktoxines **B₁**, **G₁**) est grande.

Tableau V: Excrétion d'afktoxines ($\mu\text{g}/100\text{g}$) en fonction de la température sur des graines inoculées par une suspension de spores d'*A. flavus*

Température d'incubation	Afktoxine B₁	Afktoxine G₁	Afktoxine B₁/G₁	Afktoxines B₁+G₁
20 °C	460	4.000	0.11	4.460
30 °C	5750	10.000	0.57	15.750

Source : Diener U. L et David N. D, 1986

La libération des toxines n'intervient généralement qu'au terme du développement du champignon, ce qui nécessite au moins trois jours, en conditions optimales.

3. Méthodes de lutte

La lutte contre la contamination de l'arachide par l'afktoxine a fait appel à diverses méthodes dont. l'intérêt spécifique et l'applicabilité se sont avérés variables.

3-1. Prévention de la contamination au champ

La contamination de l'arachide est un processus qui commence au champ dès lors que l'agent causal (*A. flavus*) est un champignon présent dans presque tous les types de sol rencontrés en Afrique.

3-1-1. Techniques culturales

Les mesures préventives visant à minimiser le risque d'infestation des arachides au champ ont concerné plus particulièrement l'arachide de bouche, produit à haute valeur ajoutée dont la qualité est déterminante pour l'exportation sur les marchés extérieurs. Ces mesures s'insèrent dans un paquet technologique cohérent et s'appliquent à diverses phases de conduite de la culture :

- Au moment du semis, il est indiqué d'utiliser des semences de bonne qualité, préalablement soumises à un traitement fongicide et insecticide pour les prémunir contre les attaques d'insectes et d'arthropodes d'une part et des microorganismes du sol responsables des maladies à la levée (fonte des semis), d'autre part (Pettit R. E. et *al*, 1994.);
- La culture de variétés dont le cycle coïncide avec la durée de la saison pluvieuse permet d'éviter le risque de stress hydrique et thermique en fin de cycle ; les sécheresses de fin de cycle ayant généralement pour effet d'accroître le risque de contamination de l'arachide avant récolte (Mehan V. K. et *al*, 1984).
- Le déficit hydrique du sol entraîne une baisse de l'absorption du calcium et d'autres éléments minéraux dont les plantes ont besoin pour maintenir leur vigueur et assurer leur croissance. En conséquence, les pratiques culturales favorisant le maintien de l'humidité dans le sol sont vivement recommandées : une technique relativement simple consiste, par exemple, à effectuer un sarclage et à entasser les mauvaises herbes entre les lignes de semis en vue de limiter le phénomène de l'évaporation de l'eau. Une autre technique tout aussi efficace de conservation de l'eau dans le sol consiste à effectuer le "radou" qui par rupture de la capillarité limite la remontée de l'eau en surface (Bâ A., 1990).
- Au cours du développement végétatif des plantes, on observe dans certaines régions, des attaques d'iules (myriapodes diplopodes). Les perforations pratiquées sur les gousses par ces "mille-pattes" favorisent l'invasion massive de celles-ci par les champignons aflatoxinogènes. L'application de techniques de lutte éprouvées contre ces iules (appâts empoisonnés) permet de limiter considérablement ces dégâts.
- L'élimination des pieds flétris, niches de contamination par *A. flavus*, permet de limiter la prolifération des spores au sein de la culture.

- La réalisation de la récolte au moment opportun (et pas trois semaines après en pensant donner ainsi aux dernières générations de gousses, une chance supplémentaire de parvenir à maturité) et l'application de techniques visant à raccourcir au maximum la phase critique de séchage de la graine dont l'humidité doit être ramenée de 40 % à la récolte à moins de 9 % après séchage, permettent d'obtenir un bon rendement en arachide de bonne qualité, y compris sur le plan sanitaire (Rouzière A., 1996).
- Une précaution supplémentaire consiste à empêcher la réactivation des champignons aflatoxinogènes en cas de pluies tardives survenant lorsque les plantes récoltées sont mises en andains ou en meules. Elle consiste à ouvrir immédiatement les meules et à remettre les plants en andains, gousses au soleil, pour ramener aussi rapidement que possible l'humidité de celles-ci à un niveau incompatible avec le développement de ces champignons (Ba A., 1983).
- Une solution élégante mais chère pour résoudre à la fois le problème de la récolte et du séchage consiste à recourir à la technique de l'égoussage en vert. Les gousses sont séparées des plantes soit à la main, soit au moyen de petites machines puis mises à sécher rapidement au soleil, en couche mince. Il convient de noter que l'égoussage en vert constitue une excellente technique pour garantir l'intégrité de la coque et des graines ; le battage manuel favorisant leur cassure et leur invasion subséquente par *A. flavus*.

3-1-2. La résistance génétique

De nombreux espoirs ont été placés dans l'amélioration génétique en tant que moyen de venir à bout de la contamination de l'arachide par *A. flavus* et de sa pollution par l'aflatoxine. En effet, la recherche de génotypes faiblement infestés par le champignon a représenté la stratégie longtemps privilégiée par les sélectionneurs pour enrayer le risque de contamination par l'aflatoxine. Ainsi divers paramètres physiques (Porter D. M., 1986 ; Mixon A. C., 1980 ; Pettit R. E. et *al*, 1976) : résistance mécanique différentielle de la coque des génotypes faisant intervenir le rapport **sclerenchyme/plectenchyme**, épaisseur du tégument séminal des graines, présence ou non d'une couche cireuse sur la surface des graines ou biochimiques (Szerszen J. B. et Pettit R. E., 1992 ; Mixon A. C., 1980) : composition en acides aminés, teneur en tannins et en polyphénols du tégument; ou physico-chimiques : perméabilité tégumentaire des graines appréciée par mesure de la conductivité ionique des eaux de trempage des graines ont été évalués pour servir d'indicateurs de sélection de variétés tolérantes à *A. flavus* (Ba A., et

al., 1986)); mais ils se sont avérés inconsistants parce que n'ayant pas permis d'opérer une classification hiérarchique des variétés eu égard à leurs comportements en cas d'infestation par *A. flavus*.

D'autres travaux de sélection ont tenté de mettre à profit les résultats de tests de criblage fondés sur la résistance à la colonisation par *A. flavus* de graines réhydratées et artificiellement infestées par une suspension de spores du champignon aflatoxinogène (Mehan V. K. et *al.*, 1989). Mc Donald et *al.* (1981) ont démontré que certaines variétés présentaient une résistance variétale **significative** à l'invasion par *A. flavus* des graines mures, réhumidifiées et stockées. Cependant les génotypes sélectionnés suivant cette méthode ont montré au champ une résistance relativement **insuffisante**

En définitive, les travaux réalisés sur la sensibilité de différents cultivars à la contamination par les **aflatoxines** semblent indiquer qu'en réalité il n'existe pas chez l'arachide une réelle résistance à l'infestation par *A. spp* ; mais plutôt différents niveaux de sensibilité. **Présentement**, on dispose de variétés connues pour leurs bons niveaux de tolérance à *A. flavus* au laboratoire et, dans une certaine mesure, au champ : il s'agit de 55-437 (Sénégal), J11 (ICRJSAT), PI 337 394 F et PI 337 409 (USA) (Pettit R. E. et *al.*, 1976; Waliyar F. et *al.*, 1994; Mixon A. C. et Roger K. M., 1973).

Des recherches récentes en cours aux Etats-Unis, en Grande Bretagne font entrevoir de nouvelles perspectives de progrès dans la voie de la résistance génétique. En effet, elles ont permis d'émettre l'hypothèse selon laquelle des plantes d'arachide contaminées par *A. flavus* auraient la possibilité de produire des substances antifongiques (phytoalexines) leur permettant ainsi de se défendre contre l'infestation par le champignon et la contamination par l'aflatoxine (Mohanty. B. et *al.*, 1991; Strange R.N. et Subba Rao P.V., 1994). D'autres travaux mettent à profit l'aptitude de souches mutantes obtenues par irradiation aux rayons ultraviolets de souches banales d'*A. flavus*, à produire un précurseur coloré de l'aflatoxine : l'acide norsolorinique (Bennett J.W., 1978) pour tenter de mettre au point une méthode de criblage fiable des génotypes d'arachide ; la présence et l'extension de ce pigment à la surface ou à l'intérieur des cotylédons traduisant l'aptitude du matériel végétal à être infesté par *A. flavus* et à supporter la production d'aflatoxine (Lopez. Y., 1994). Des travaux antérieurs utilisant ces souches mutantes pour le criblage du maïs pour la tolérance à l'infestation par *A. flavus* (Keller N.P. et *al.*, 1994) ont permis d'aboutir à des résultats satisfaisants.

Selon Clavel D. et Ba A. (1998), il existe probablement une relation entre la contamination naturelle des variétés d'arachides par *A. flavus* et leur ratio O/L (acide oléique/acide linoléique). Ce ratio pourrait présenter un intérêt en tant qu'indicateur de la tolérance variétale de l'arachide à *A. flavus* en pré-récolte.

3-2. Méthodes curatives

Elles font généralement appel à des procédés physiques, chimiques ou physico-chimiques et consistent dans l'élimination de la toxine par écart des lots contaminés, ou par extraction au moyen de solvants, ou par destruction "in situ".

3-2-1. Méthodes physiques

a) Le tri

Il est exclusivement mis en œuvre pour améliorer la qualité de l'arachide de bouche en graines ou en coques :

- *Le tri manuel* consiste à éliminer à la main les graines ou gousses présentant des défauts de présentation décelables à l'œil nu ;
- *La méthode de Dickens* consiste en un examen au stéréomicroscope des arachides tout venant livrées par les cultivateurs et permet d'éliminer les graines endommagées, les graines cassées, les coques vides et de déceler la présence d'*A. flavus*, à condition d'opérer dans des conditions rigoureuses d'échantillonnage. Cette méthode qui entraîne le rejet de 70 % des lots, lors de très mauvaises récoltes, n'a pas eu d'application pratique.
- *Le tri au décortilage* consiste en un procédé de décortilage pneumatique à deux niveaux de pression, conçu pour séparer les graines très polluées de celles dont le niveau de contamination est acceptable. Dans une première phase de mise sous pression, la perméabilité des coques permet l'égalisation des pressions de part et d'autre de la gousse. Puis, lors de la brusque détente ultérieure, seules les coques saines sont brisées, alors que les coques trouées restent en l'état et peuvent par conséquent être éliminées. Cette méthode qui conduit également à l'élimination d'une

fraction importante des graines n'a, à ce jour, pas trouvé d'application pratique, probablement en raison de l'investissement en matériel coûteux qu'elle requiert.

- *Le tri après décorticage* exploite le principe de trieurs mécaniques comme le séparateur zig-zag. Il repose sur la différence de densité des graines polluées, généralement plus légères qui sont aspirées par un courant d'air ascendant à travers un séparateur à chicanes. Plusieurs recyclages sont nécessaires. L'efficacité de la séparation qui doit tenir compte de différences très faibles de densité apparente conduit à l'élimination d'une fraction importante des graines, rendant ainsi peu pratique ce procédé.

- *Le tri électronique* est basé sur la fluorescence émise par les graines contaminées lorsqu'elles sont observées en lumière ultraviolette. Le procédé testé au Sénégal est difficile à mettre en œuvre : il nécessite des réglages différents d'une récolte à l'autre et conduit à des écarts de triage importants surtout lorsque les lots sont constitués d'un mélange de variétés différentes. Il ne semble pas permettre l'élimination des graines dont la contamination est inférieure à 200 ppb d'aflatoxine (Viroben G., 1982)

Devant l'efficacité douteuse et la faible rentabilité économique de la plupart des méthodes de tri du fait des rejets importants qu'elles entraînent, d'autres voies visant à éliminer la toxine au sein des produits contaminés par dénaturation ou extraction de celle-ci ont été envisagées.

b) Le traitement thermique

L'aflatoxine B₁ résiste à des températures supérieures à 100°C sans subir une modification de sa structure moléculaire. Aussi, les essais de détoxification basés uniquement sur un traitement thermique se sont-ils révélés inefficaces. Toutefois certaines expériences menées sur du tourteau de coton contenant 15 à 20 % d'eau et soumis à un traitement thermique à 100°C pendant 2h ont abouti à un taux de destruction de la toxine de l'ordre de 80 % mais la qualité du produit s'en est ressentie car il s'en est suivi une dénaturation des protéines (Mann G.E. et *al.*, 1967). En conséquence le traitement thermique, à lui seul, ne constitue pas une méthode efficace de lutte contre l'aflatoxine.

Selon Kane A. (1995), l'utilisation du rayonnement solaire constitue une voie possible d'élimination de l'aflatoxine de l'huile artisanale, mais il reste à s'assurer de l'irréversibilité de la réaction de modification de la molécule toxique.

3-2-2. Méthodes chimiques

Compte tenu de la solubilité des aflatoxines dans les solvants, son extraction au moyen de ceux-ci a été proposée comme moyen de décontamination. C'est ainsi que l'acétone **acqueuse**, le méthanol, les mélanges azéotropiques "acétone-hexane-eau" ou "isopropanol-eau" ont fait l'objet de nombreux essais (Dollar, 1969 cité par Viroben G., 1982) qui se sont avérés concluants.

Par ailleurs, il a été démontré que l'addition d'eau favorise l'extraction comparativement à l'utilisation exclusive des solvants.

La détoxification au moyen de solvants paraît à priori séduisante car elle présente peu de risques de formation d'autres produits ayant des effets physiologiquement néfastes. L'extraction peut être faite et le solvant, récupéré sans danger majeur de dénaturation des **protéines**. Mais la mise en œuvre de cette technique nécessite une installation spéciale. De plus, certains solvants (l'acétone par exemple) laissent souvent subsister dans le produit une odeur préjudiciable à son acceptabilité en alimentation animale.

L'utilisation efficace de solvants à des **fin**s de détoxification doit nécessairement satisfaire à un certain nombre de préalables qui peuvent se résumer comme suit :

- Inactiver les aflatoxines par destruction ou transformation de celles-ci en métabolites dont la toxicité est reconnue comme négligeable ;
- Ne pas laisser subsister de résidus dus au traitement et qui seraient toxiques ou incompatibles avec la santé de l'animal ;
- Préserver au mieux la valeur nutritionnelle du tourteau ;
- Être facile à mettre en œuvre et d'un prix de revient compatible avec celui des autres matières premières concurrentes.

L'utilisation d'acides, d'anhydrides et d'agents oxydants ne permet pas de réaliser une détoxification suffisante. Les aldéhydes, à l'exception du formol (Codifier L. P. Jr. et *al.*, 1976)

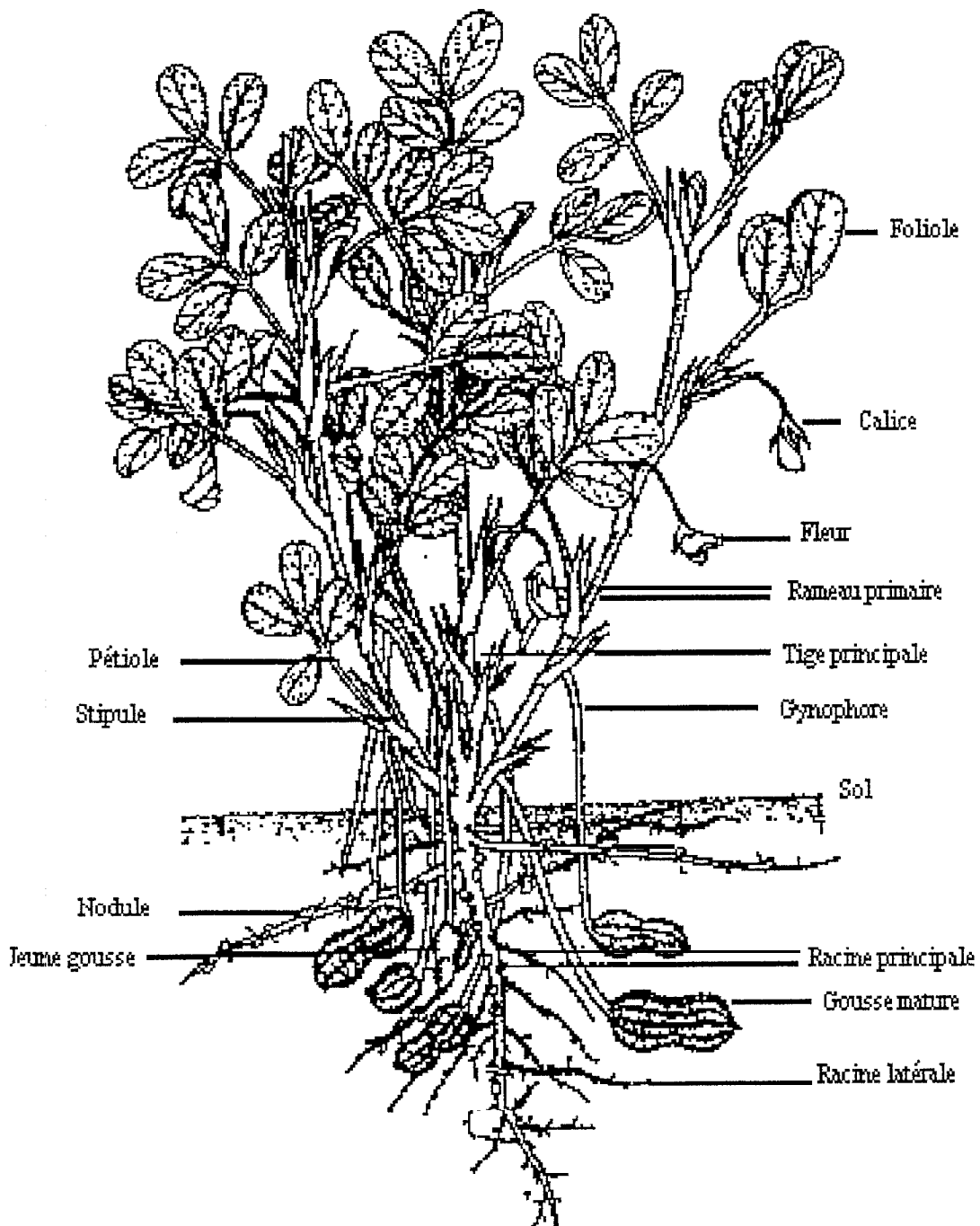


Figure 2 : Plant d'arachide : *Source : Pattee N. E. and Stalker H. T., 1995*

sont d'un prix de revient trop élevé malgré leur **efficacité**. En revanche, les agents alcalins apparaissent comme étant les réactifs les plus intéressants : chaux, carbonate de soude, soude et surtout les bases volatiles : ammoniac, méthylamine.

L'ammoniac a suscité beaucoup d'intérêt en tant qu'agent alcalin de détoxification des tourteaux d'arachide contaminés par les aflatoxines (Ba A. et *al.*, 1982) en raison de son état gazeux et donc de son pouvoir de diffusion rapide dans le produit à traiter. Un schéma type a été proposé (Goldblatt L. A, 1977) concernant le mode d'action de l'ammoniac sur l'aflatoxine (Fig. 6).

L'ammoniac bénéficie d'un préjugé favorable compte tenu de son action sur certains produits celluloseux (pailles, balles de riz) utilisés dans l'alimentation des ruminants. Contrairement aux agents alcalins liquides, il ne nécessite pas de neutralisation préjudiciable à l'équilibre en minéraux du produit fini, l'ammoniac en excès pouvant être facilement éliminé (Ba A., 1983).

A la SONACOS (Société Nationale de Commercialisation des Oléagineux du Sénégal), où une unité de détoxification des tourteaux d'arachide d'une capacité de production d'environ 6 tonnes/heure a été mise en place, une solution astucieuse a été trouvée. Il s'agit d'associer l'action de l'ammoniac et du formol sous pression réduite, dans un procédé "voie humide" où les tourteaux sont réhumidifiés avec 10 % d'eau. L'ammoniac est ajusté à la quantité nécessaire à la détoxification, ce qui évite les grandes difficultés technologiques posées par la récupération du réactif en excès.

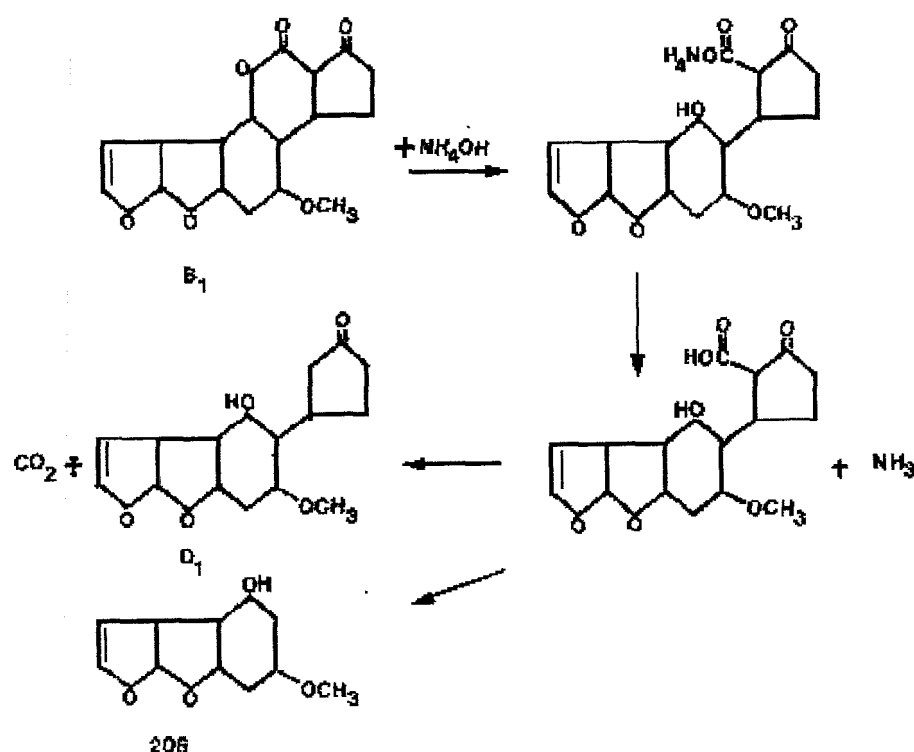


Figure 6 : Schéma de détoxication de l'aflatoxine B 1 par traitement à l'ammoniac.

La mise en œuvre de ce procédé, unique en son genre en Afrique permet aujourd'hui à cette société d'exporter le tourteau d'arachide détoxiqué sur les marchés les plus exigeants.

3-2-3. La lutte intégrée

Elle consiste à associer l'utilisation de variétés tolérantes à *A. flavus* avec l'application stricte des techniques culturales préventives et des techniques de tri manuel, mécanique ou électronique. Sa mise en œuvre offre de réelles chances d'obtention d'une production d'arachide de bouche ou de confiserie dont la qualité satisfait, dans une mesure appréciable, aux normes hygiéniques et sanitaires édictées par le commerce international. En ce qui concerne le marché européen avec lequel le Sénégal entretient des relations commerciales privilégiées, l'Union Européenne a élaboré une nouvelle réglementation en matière de tolérance des aflatoxines dans les graines d'arachide destinées à l'alimentation humaine. La sévérité de ces normes donne une idée de l'importance et de la complexité de la problématique de l'aflatoxine dans les pays africains et au Sénégal en particulier (Tabl VI).

Tableau VI : Teneurs maximales en aflatoxines autorisées par le règlement CE n°1 525/98 dans les arachides

Produit	Aflatoxines : teneurs maximales admises ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			Mode de prélèvement d'échantillons Méthode d'analyse de référence	
	B ₁	B ₁ + B ₂ + G ₁ + G ₂	M1		
Arachides, fruits à coque et fruits séchés					
1. Arachides, fruits à coque et fruits séchés et les produits dérivés de leur transformation, destinés à la consommation humaine directe ou comme ingrédient de denrées alimentaires	2	4	-	Directive 98/53/CE	Directive 98/53/CE
2. Arachides, destinées à être soumises à un traitement de triage ou à d'autres méthodes physiques avant leur consommation humaine ou leur utilisation comme ingrédient de denrées alimentaires.	8	15	-	Directive 98/53/CE	Directive 98/53/CE

Source : Dimanche P., 1998.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. PRÉSENTATION DE L'ESSAI

La réalisation de cette étude a nécessité la mise en place d'un essai au champ.

1. Objectifs de l'essai

Le but de cette expérimentation est d'étudier le comportement des variétés d'arachide vis-à-vis de la contamination naturelle par *A. flavus* au champ et de rechercher les relations possibles entre, d'une part ce paramètre et d'autre part, la contamination par l'aflatoxine, la contamination artificielle par une souche banale d'*A. flavus* et par une souche mutante d'*A. flavus* productrice de l'acide norsolorinique.

L'objectif spécifique de cette étude est d'apprécier l'intérêt de l'utilisation de la souche mutante à des fins de caractérisation du comportement des variétés vis-à-vis d'*A. flavus*, comparativement à la souche banale d'*A. flavus* dont les résultats ne sont pas souvent en accord avec les niveaux de contamination observés au champ.

2. Conduite de l'expérimentation

L'expérimentation a été réalisée sur un sol sablonneux de type "dior" caractérisé par un pH < à 5.6 et une teneur en matière organique relativement faible (0.3 à 0.6 %).

Le précédent cultural est une jachère. Le sol a subi un labour superficiel suivi d'un épandage d'engrais (6-20-10) à raison de 150 Kg/ha et d'un hersage. Le semis a été réalisé après une pluie de 58 mm. Les graines préalablement traitées par un mélange fongicide-insecticide ont été semées à raison d'une graine par poquet. L'écartement entre les lignes est de 50 cm et la distance entre les poquets sur la ligne est de 15 cm.

Au cours du développement végétatif, deux binages ont été réalisés. Les variétés ont été récoltées à des dates correspondant à leurs maturités physiologiques respectives, appréciées par **vérification** après décorticage de l'apparition d'une couche brune sur la face intérieure des coques.

Après récolte, les plants sont mis à sécher sur de petites claies en prenant soin de disposer les gousses vers le haut, de manière à favoriser leur séchage rapide.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

1-1. Matériel végétal

L'essai compte 20 variétés dont (5) vulgarisées au Sénégal et (15) introduites de l'ICRISAT. Ce matériel inclut deux témoins locaux de sensibilité (GH 119-20) et de résistance (55-437) à l'infestation par *A. flavus*. La liste des variétés ainsi que leurs cycles et origines est indiquée dans le tableau VII.

Tableau VII : Liste de variétés mises en test.

Variété	Code	Origine	Cycle (jours)
55-437	V1	Sénégal	90
ICGV 87084	v2	ICRISAT/Inde	90
ICGV 87110	v3	ICRISAT/Inde	90
ICGV 87779	v4	ICRISAT/Inde	105
ICGV 878 15	V5	ICRISAT/Inde	105
ICGV 87821	V6	ICRISAT/Inde	105
ICGV 87836	v7	ICRISAT/Inde	105
ICGV 87845	V8	ICRISAT/Inde	90
ICGV 88262	v9	ICRISAT/Inde	105
ICGV 88274	V10	ICRISAT/Inde	105
ICGV 89063	V11	ICRISAT/Inde	105
ICGV 89065	v12	ICRISAT/Inde	90
ICGV 89112	v13	ICRISAT/Inde	90
ICGV 91283	v14	ICRISAT/Inde	90
J11	v15	ICRISAT/Inde	90
GH 119-20	V16	Sénégal	120
Fleur 11	V17	Sénégal	90
GC 8-35	V18	Sénégal	85
73-33	v19	Sénégal	105
Var 27	V20	ICRISAT/Inde	90

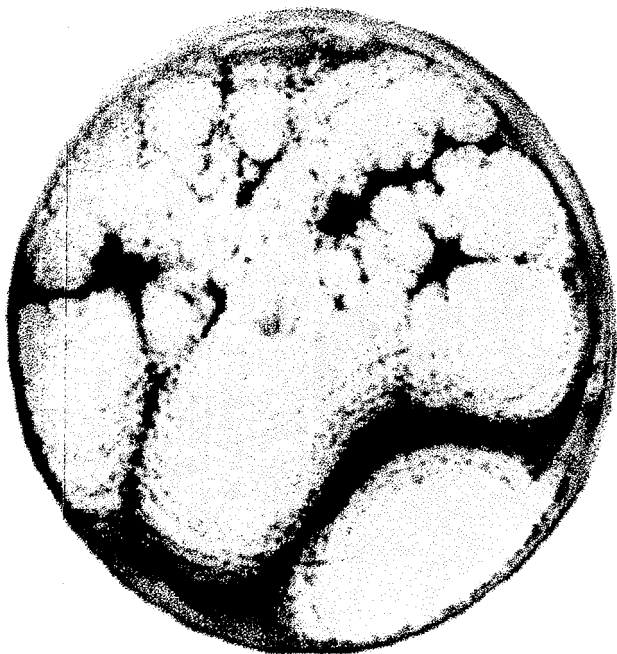
1-2. Matériel biologique

Le matériel biologique mis en œuvre dans cette étude comporte :

- une souche indigène d'*A. flavus* isolée à partir du sol de la parcelle expérimentale (photo 1) et
- une souche mutante d'*A. flavus* obtenue de College Station-Université du Texas (Etats-Unis) (photo 2)



**Photo 1 : *Aspergillus flavus*,
souche banale**



**Photo 2 : *Aspergillus flavus*,
Souche mutante :**

1-3. Matériel de laboratoire

- Etuve
- Balance de précision Mettler
- Hotte à flux laminaire
- Agitateur va-et-vient
- Autoclave
- Agitateur Vortex
- Microscope
- Loupe binoculaire
- Chambre de lecture à U.V
- Evaporateur rotatif
- Broyeur (Waring-blendor)
- Extracteur Soxhlet
- Verrerie : boîtes de Pétri, Erlenmeyers, fioles jaugées, béchers, ballons, tubes à essais, pipettes, ampoules à décanter, colonne à verre frité, microseringues Hamilton, plaques chromatographiques prêtes à l'emploi, cuve d'élution

2. Méthodes

2.1. Dispositif expérimental

Le dispositif adopté dans le cadre de cet essai est un lattice rectangulaire (5 x 4) constitué de 3 répétitions, avec 20 traitements (variétés). La randomisation a été faite grâce au logiciel GENSTAT

La surface de l'essai est de 780 m²; la surface utile est constituée de 60 microparcelles de (4 x 2)m² (cf. plan de l'essai dans l'Annexe 1)

2.2. Détermination du taux de contamination naturelle des graines par *A. flavus*

Le test de contamination naturelle des graines permet de déterminer le niveau potentiel de contamination de celles-ci au champ si elles étaient placées dans des conditions optimales de

croissance des champignons présents à leur surface. Ce test est mis en œuvre dans deux conditions différentes :

- a) la non stérilisation préalable des graines permet le développement de l'ensemble de la mycoflore présente à leur surface ;
- b) la stérilisation superficielle des graines, elle, n'autorise que la croissance des champignons (dont *A. flavus* et *A. parasiticus*) capables de s'implanter solidement dans le tégument séminal à travers leurs hyphes ; éliminant du coup les champignons occasionnellement associés à ceux-ci.

- cas des graines non stérilisées

Quatre lots de 10 graines provenant d'échantillons de gousses prélevés au hasard dans chaque sous-parcelle (chaque sous-parcelle correspond à une répétition d'un génotype) sont trempées (1 mm) dans de l'eau distillée stérile puis mises à ressuyer sur une feuille de papier buvard. Ce traitement a pour but de leur conférer une humidité favorable au développement des champignons présents à leur surface, en même temps qu'il permet de se rapprocher le plus possible des conditions opératoires mises en œuvre lors de la contamination artificielle des graines. Après élimination de l'excès d'eau par ce procédé, elles sont placées une par une dans des boîtes de Pétri (à raison de 10 graines par boîte) contenant le milieu Agar-Rose bengale. (cf. Annexe 2a) et mises à incuber pendant une semaine. Les graines colonisées par *A. flavus/A. parasiticus* sont dénombrées à travers une observation minutieuse des caractéristiques morphologiques des champignons présents à leur surface au moyen d'une loupe binoculaire et, au besoin, d'un microscope.

- cas des graines stérilisées

La stérilisation superficielle des graines a consisté en un trempage de celles-ci (2 min) dans une solution alcool éthylique/eau (70/30^{V/V}) suivi de 2 rinçages successifs (1 min) à l'eau distillée stérile. Après ressuyage, les graines sont placées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Agar-Rose bengale et mises à incuber pendant une semaine dans les mêmes conditions que précédemment. Le comptage des graines colonisées a été réalisé selon la même technique.

2.3. Détermination du taux de contamination artificielle des graines par une souche banale d'*A. flavus*

Le test de contamination artificielle permet de soumettre les graines préalablement stérilisées à une forte pression d'une souche banale d'*A. flavus*. Ce faisant, le champignon qui se trouve ainsi à l'abri de toute compétition de la part des autres champignons initialement présents sur le tégument séminal, se développe dans des conditions environnementales optimales. Ce test permet donc d'apprécier le comportement intrinsèque des génotypes sous la pression prépondérante de *A. flavus*.

La technique consiste à tremper les graines dans une solution alcool éthylique-eau (70/30^{v/v}) pendant 2 minutes en vue de les stériliser en surface, puis après rinçage à l'eau distillée stérile et ressuyage, à les tremper dans une suspension de spores d'*A. flavus*. Cette suspension provient d'une culture d'*A. flavus* réalisée sur milieu Agar-Rose Bengale dans 10 boîtes de Pétri. Après une semaine d'incubation les spores sont récoltées par raclage et lessivage de la surface des cultures au moyen d'eau distillée (500 ml) contenant du Tween 80 à la concentration de 0,05 %^{v/v}. La présence du Tween permet d'abaisser la tension superficielle de la solution et d'améliorer ainsi la dispersion des spores au sein de la solution et leur adhésion à la surface des graines mises à y tremper.

Pour chaque génotype, quatre lots de 10 graines provenant d'échantillons de gousses prélevés au hasard dans les sous-parcelles correspondantes sont soumis à ce traitement. Les graines ainsi infestées artificiellement sont placées une à une dans des boîtes de Pétri (à raison de 10 graines par boîte) puis mises à incuber pendant une semaine. Les graines effectivement colonisées par le champignon aflatoxinogène sont dénombrées, après examen à la loupe binoculaire.

2.4. Détermination de la sensibilité des graines à l'infestation par une souche mutante d'*A. flavus*

La technique de contamination artificielle des graines par le mutant sur milieu PDA (annexe 2b) est la même que celle mise en œuvre pour la souche banale d'*A. flavus*. Par contre la lecture des boîtes se fait quatre (4) jours après incubation par une coupe transversale des graines et par une observation de l'extension de la coloration orange symptomatique de la présence de l'acide norsolorinique suivant l'échelle décrite ci-dessous. En effet le mutant présente la particularité de produire de l'acide norsolorinique, composé précurseur de

l'aflatoxine B1, à la différence de la souche banale d'*A. flavus* dont le métabolisme conduit à terme à la production d'aflatoxines. La quantité d'acide norsolorinique excrétée sur une graine par le mutant est supposée être fonction de la sensibilité de celle-ci à l'infestation par *A. flavus* et à la production subséquente d'aflatoxines. Si l'on accepte cette hypothèse, en conditions d'infestation artificielle, les variétés résistantes ne devraient autoriser qu'un faible niveau d'accumulation de ce composé ; alors que les variétés sensibles devraient en concentrer des quantités plus importantes.

- Forte coloration :** couleur orange couvrant plus de 50 % de la section transversale de la graine.
- Coloration moyenne :** couleur orange couvrant entre 25 et 50 % de la graine.
- Coloration faible :** couleur orange couvrant moins de 25 % de la graine.
- Coloration nulle :** absence de couleur orange.

Le nombre graines de chaque classe est multiplié par 1; 0,50; 0,25 et 0,01 respectivement pour les colorations forte, moyenne, faible et nulle.

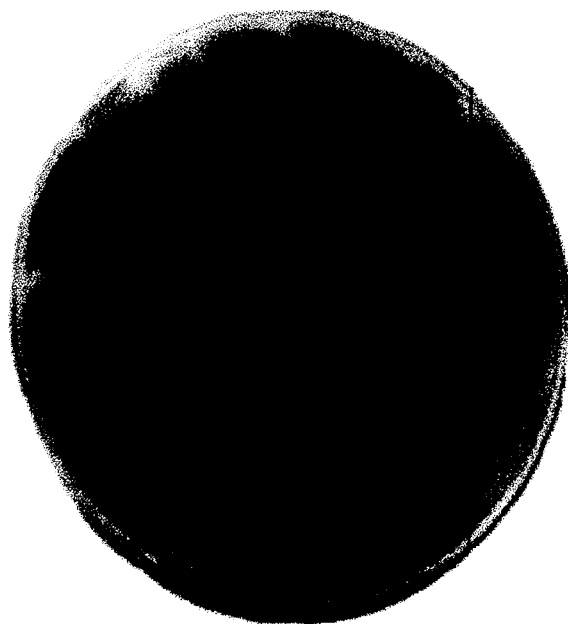


Photo 3 : Coloration orange caractéristique de l'acide Norsolorinique (revers de la boîte photo 2)

2.5. Détermination de l'humidité des graines à la récolte

L'humidité des graines à la récolte a été déterminée par calcul de la perte de poids d'échantillons fraîchement récoltés et soumis à un séchage à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant. La formule utilisée est la suivante

$$\text{Humidité (\%)} = \frac{(\text{Poids frais} - \text{Poids sec}) \times 100}{\text{Poids frais}}$$

2.6. Détermination du niveau de contamination du sol par *A. flavus*

La détermination de la population d'*A. flavus* dans le sol a été effectuée au moyen de la technique des dilutions successives. Quatre échantillons de sol sont prélevés à la tarière, au niveau de chaque sous-parcelle, à une profondeur de 20 cm. Après assemblage et homogénéisation un échantillon moyen de 10 g est prélevé. Celui-ci est mis en suspension dans un tube à essai contenant de l'eau distillée stérile additionnée de Tween 80 à 0,05% v/v et le volume final est porté à 50 ml au moyen de la même solution. Après agitation (agitateur Vortex) 5 ml de cette suspension sont prélevés et transférés dans un second tube à essai dont le volume final est porté à 50 ml par ajout de la solution eau-Tween 80 (dilution 1). Il en a été ainsi jusqu'à la dilution 4. Puis 1 ml de chaque dilution est transféré et uniformément réparti dans une boîte de Pétri contenant un milieu Agar-Rose.

Le comptage des colonies d'*A. flavus* est réalisé au moyen d'une loupe binoculaire après 7 jours d'incubation dans l'atmosphère du laboratoire. Le niveau de contamination du sol est exprimé en nombre de propagules d'*A. flavus*/gramme de sol (Annexe 3).

2.7. Détermination de la teneur en huile des génotypes

La teneur en huile des génotypes a été déterminée par extraction de celle-ci à partir d'une mouture fraîche de graines à l'aide de l'hexane, dans un extracteur Soxhlet. Après élimination de l'hexane par passage au rotavapor, l'extrait est porté à sec par étuvage jusqu'à poids constant pour éliminer toute trace du solvant, puis pesé. La formule utilisée est la suivante :

$$\text{Teneur en huile \% (base mouture fraîche)} = \frac{\text{Poids échantillon d'huile porté à sec} \times 100}{\text{Poids frais mouture}}$$

2.8. Détermination de la teneur en aflatoxine des géotypes

La teneur en aflatoxine a été déterminée sur des échantillons moyens de 25 g de mouture d'arachide deshuilée (Soxhlet) obtenus à partir des graines de chaque géotype. L'aflatoxine a été extraite par un mélange de chloroforme (250 ml) et d'eau distillée (25 ml) après 30 min d'agitation en présence d'hyflopercel. 50 ml de cet extrait sont versés à travers une colonne munie de verre fritté constituée de bas en haut de 2 g de sulfate de sodium **anhydre**, de 5 g de gel de silice et 3 g de sulfate de sodium **anhydre**.

L'extrait a été purifié par passage successif de 100 ml d'éther et 100 ml d'hexane, ce qui permet respectivement d'éliminer les pigments et les traces d'huile. L'aflatoxine est éluée par 100 ml d'un mélange chloroforme/méthanol (97/3^{v/v}). L'éluat est porté à sec (**Rotavapor**) et repris par 10 ml d'un mélange **benzène/acétonitrile (98/2)**. Une aliquote de cette solution est injectée dans un Chromatographe Phase Liquide Haute Performance (HPLC) préalablement étalonné à l'aide de solutions pures d'aflatoxine **B1** de concentrations croissantes dans le système solvant **benzène/acétonitrile (98/2)**.

L'absorbance maximale de l'aflatoxine **B1** est lue à la longueur d'onde de 360 nm.

2.9. Analyse des données

L'analyse statistique des données a été réalisée au moyen du logiciel MSTAT.

III. RESULTATS EXPERIMENTAUX

1. Conditions environnementales

a) Parasitisme

A la levée et tout au long du cycle végétatif des plantes, aucune attaque significative d'un quelconque déprédateur n'a été notée. Toutefois, quelques taches symptomatiques de cercosporioses précoce (*Cercospora arachidicola*) et tardive (*Phaeosariopsis personata*) ont été relevées çà et là sur les feuilles de quelques génotypes au cours des 2^e et 3^e décades de Septembre ; mais le niveau des attaques n'augure d'aucun effet dépressif sur les rendements.

b) Pluviométrie

La pluviométrie totale enregistrée durant l'expérimentation au niveau de la station est de : 582 mm. Ce cumul est supérieur à la moyenne enregistrée 8 ans sur 10 durant les périodes de sécheresse relative sur ce même site (520 mm) depuis 1966. Sa distribution est marquée par la manifestation de périodes relativement plus pluvieuses (3^e décade de Juillet : 90,3 mm, 2^e décade d'Août : 116,8 mm, 3^e décade d'Août : 86,5mm et 2^e décade de Septembre : 86,5 mm) (Fig. 7). Toutefois l'on notera que les besoins en eau des plantes ont été suffisamment couverts, singulièrement durant les phases les plus critiques correspondant à la floraison (Août) et à la formation des gousses (Septembre). De plus, durant le séchage des plants en andains puis en petites meules, aucune pluie n'a été enregistrée, ce qui réduit d'autant le risque de contamination des produits lorsqu'on sait que les pluies tardives sont un puissant facteur d'exacerbation de l'infestation de l'arachide par *A. flavus*, au champ.

c) Humidité relative

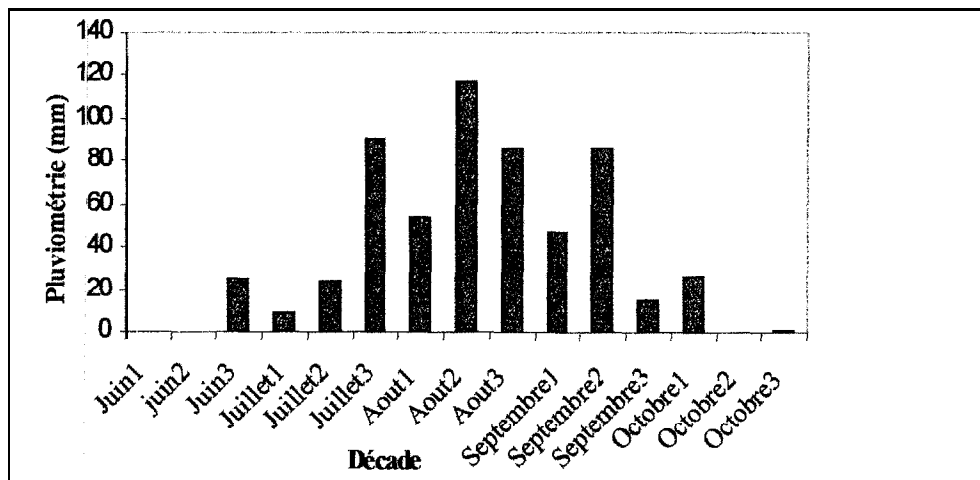
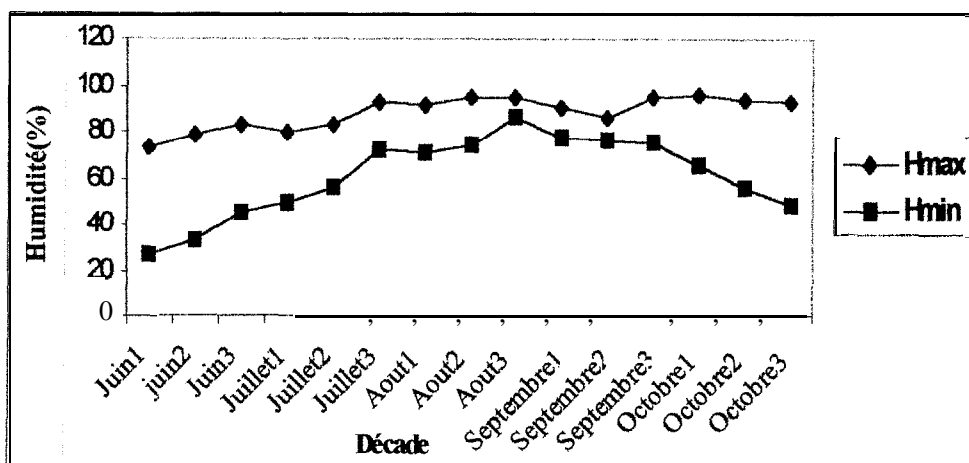
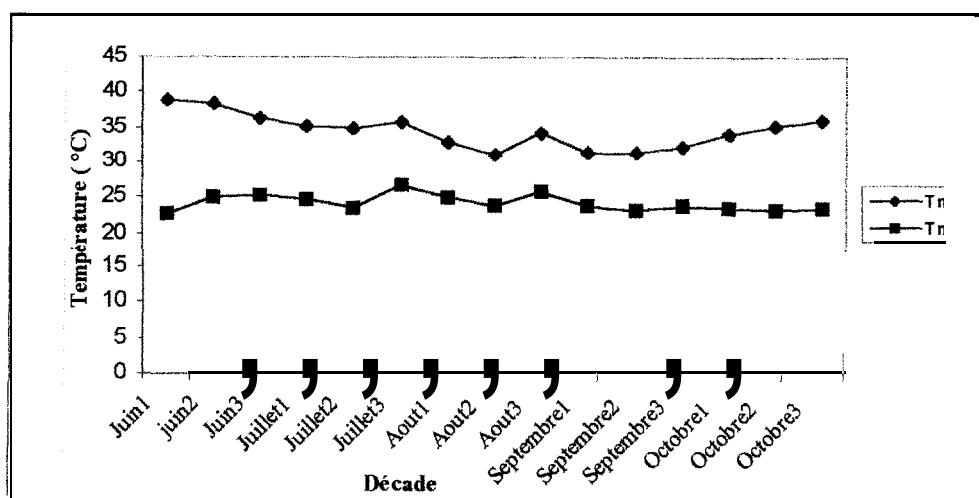
L'humidité relative minimum croît progressivement de Juin (27 %) à la 3^e décade d'Août où elle atteint 87 %, puis décroît jusqu'à 49 % à la 3^e décade d'octobre. L'humidité relative maximum, elle, varie de 73 % en Juin à 93 % durant la 3^e décade de Juillet puis se maintient pratiquement à cette valeur jusqu'à la récolte (Fig. 8).

d) Température

Les températures minima s'établissent entre 22 et 25°C et ne présentent que de faibles variations tout au long du cycle de développement des plantes. En revanche, les températures

maxima baissent progressivement de 39°C en Juin à 31°C à la mi-Août. Elles se stabilisent maintenir autour de 34°C durant le mois d'octobre (Fig. 9).

Il convient de rappeler que l'humidité relative et la température sont des facteurs qui ont une incidence déterminante sur la croissance des champignons aflatoxinogènes. Les valeurs enregistrées au cours de cette expérimentation, singulièrement en période de récolte (HR max \cong 94 et T° max \cong 35°C) n'excluent point pour ces champignons la possibilité de se développer et de produire des aflatoxines ; lorsque de surcroît les techniques de récolte mises en œuvre n'autorisent pas un séchage rapide des plants.

Figure 7 : Répartition de la pluviométrie **décadaire** (Nioro)Figure 8 : Evolution de l'humidité relative **décadaire** (Nioro)Figure 9 : Evolution de la température **décadaire** (Nioro)

2. Performances agronomiques : rendement en gousses et poids de 100 graines

Les performances agronomiques des génotypes mis en tests sont indiquées dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : Rendements en gousses (kg/ha), et poids de 100 graines (g) des génotypes.

Variété	Rendement en gousses (Kg/ha)	Poids de 100 graines (g)
55-437	1860 abcd	33.73 cde
ICGV 87084	1474 abcd	38.33 cd
ICGV 87110	2160 ab	39.40 cd
ICGV 87779	1048 d	31.37 de
ICGV 87815	1547 abcd	49.73 ab
ICGV 87821	1343 abcd	28.97 e
ICGV 87836	1138 cd	28.77 e
ICGV 87845	1268 bc	42.30 c
ICGV 88262	1381 abcd	41.47 c
ICGV 88274	1903 abcd	32.67 de
ICGV 89063	1823 abcd	32.63 de
ICGV 89065	1767 abcd	47.67 b
ICGV 89112	1602 abcd	33.90 cde
ICGV 91283	1776 abcd	37.03 cde
J11	1869 abcd	33.47 cde
GH 119-20	2055 abc	38.17 cd
Fleur 11	2267 a	55.03 a
Gc 8-35	1984 abcd	34.60 cde
73-33	2262 a	50.53 ab
Var 27	2024 abc	42.30 c
MOY	1727,55	38,60
c v	17.77	8.13
Effet variétal	***	***

C.V : Coefficient de Variation

*** : Effet très hautement significatif

Les moyennes ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil 5% (Test de Newman-Keuls)

ppas @lus petite amplitude significative) gousses = 515,33 ; ppas graines = 5,19.

a) rendement en gousses

Les variétés présentent une différence hautement significative pour cette variable, avec un coefficient de variation de 17,77 %. Fleur 11 et 73-33 présentent des rendements respectifs

(2267 kg/ha, 2262 kg/ha) significativement différents de ceux de tous les autres génotypes. La première fortement demandée en milieu rural, enregistre une progression limitée de sa culture en raison de l'insuffisance des semences de base ; en revanche, la seconde est largement cultivée au Sénégal.

La comparaison multiple des moyennes (Test de Newman-Keuls) révèle que les génotypes ICGV 87 779 et ICGV 8'7 836 enregistrent les rendements respectifs les plus faibles (1138 kg/ha et 1048 kg/ha) ; ceux-ci diffèrent significativement des génotypes les plus productifs (Fleur 11 : 2267 kg/ha, 73-33 : 2262 kg/ha, ICGV 87 110 : 2160 kg/ha, GH 119-20 : 2055 kg/ha, Var 27 : 2024 kg/ha) mais pas des autres génotypes.

Les rendements des autres génotypes (CG 8-35, ICGV 88 274, J11, 55-437, ICGV 89 063, **ICGV 91 283**, ICGV 89 065, ICGV 89 112, ICGV 87 815, ICGV 87 084, ICGV 88 262, ICGV 87 821 et ICGV 87 845) bien que variant dans de larges proportions (1268 kg/ha à 1984 kg/ha) ne présentent aucune différence significative entre eux (Fig. 10)

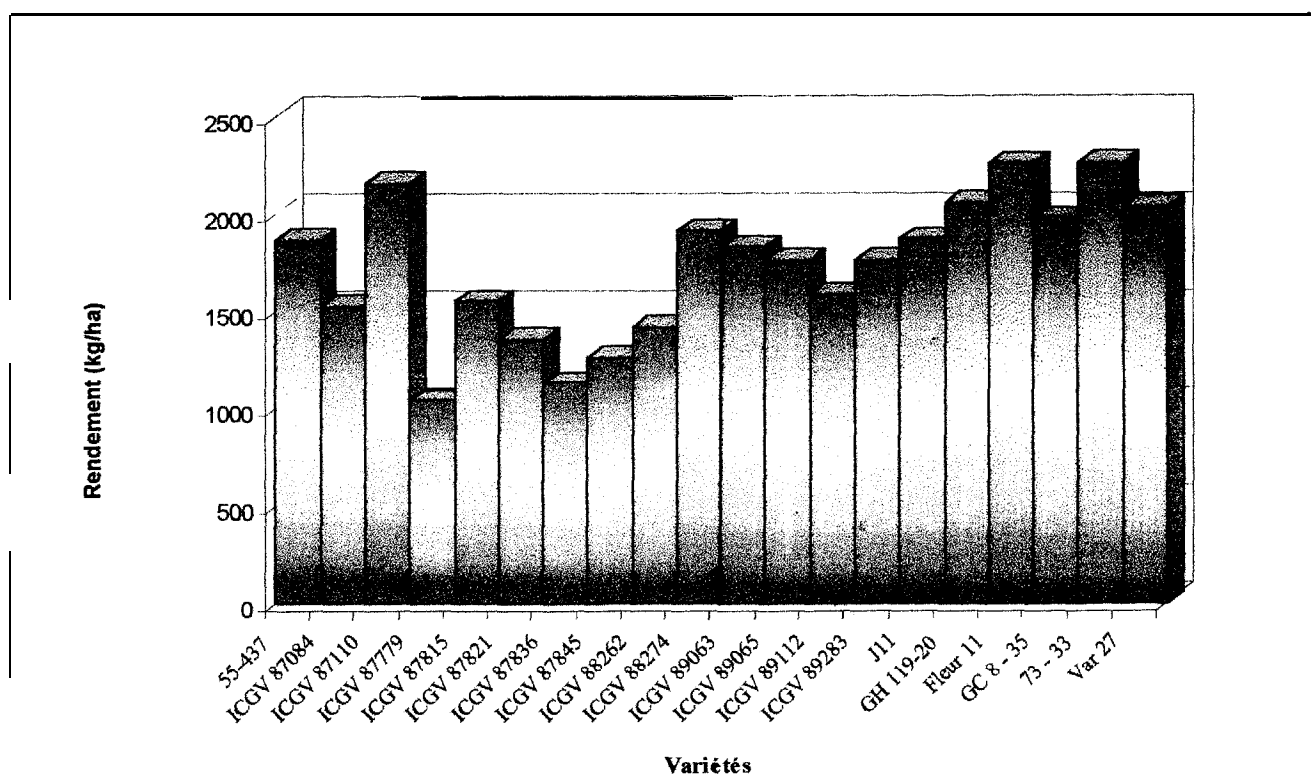


Figure 10 : Rendement en gousses (kg/ha) des variétés

b) poids de 100 graines

Le poids de 100 graines est une caractéristique technologique importante qui permet de définir le grade de l'arachide de bouche à l'exportation. Fleur 11, 73-33 et ICGV 87 815 dont les poids respectifs de 100 graines (55,03 g ; 50,53 g et 49,73 g) sont les plus élevés différent significativement de tous les autres génotypes à l'exception de ICGV 89 065 (47,6 g). Parmi ces derniers, ICGV 87 845, VAR 27 et ICGV 88 262 qui ont des poids de 100 graines variant entre 41 g et 42,30 g diffèrent significativement de ICGV 88 274, ICGV 89 063, ICGV 87 779, ICGV 87 821 et ICGV 87 836 dont les poids de 100 graines sont les plus faibles et varient entre 28,7 g et 32,6g. Tous les autres génotypes occupent une position intermédiaire par rapport à ce paramètre (fig. 11).

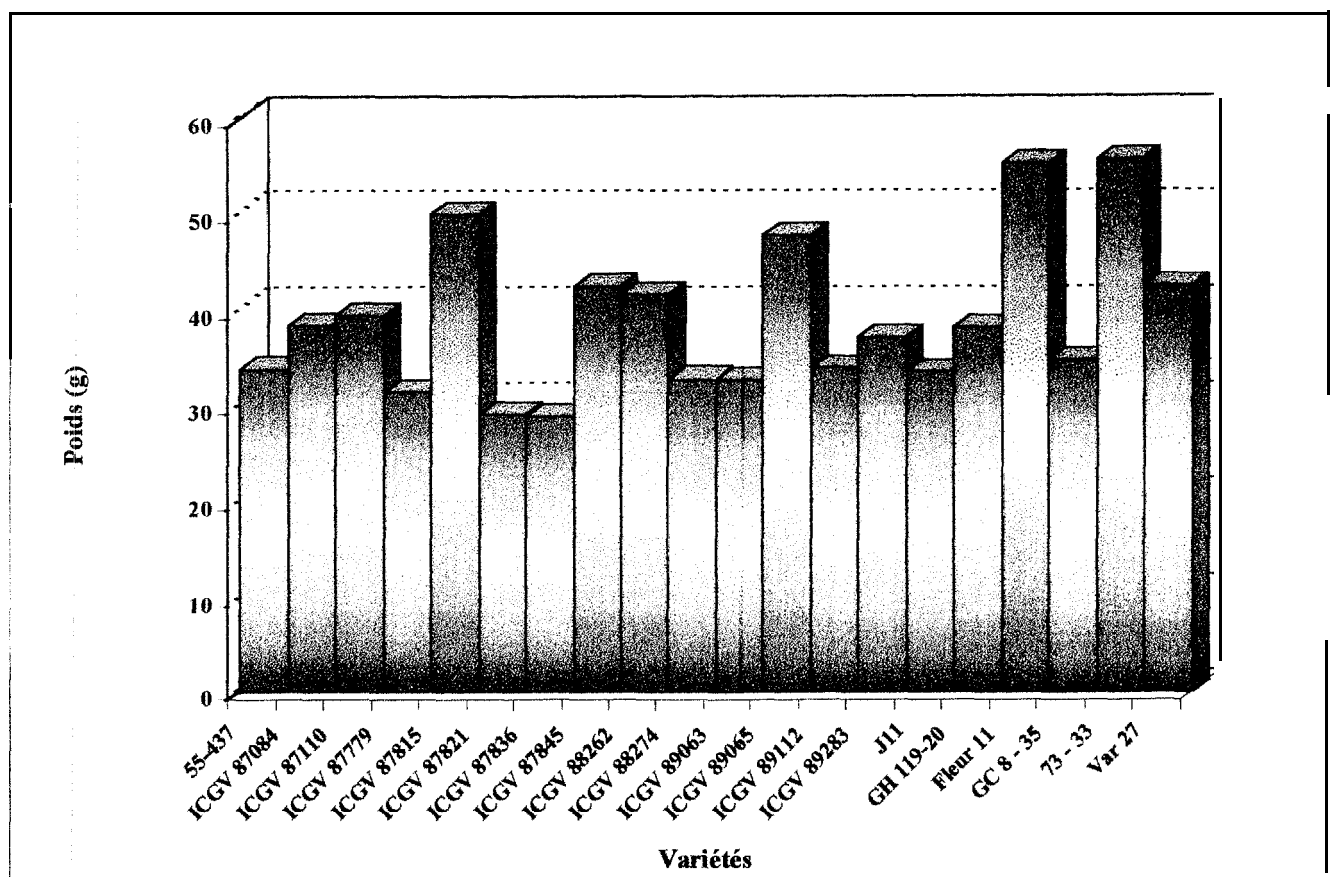


Figure 11 : Poids de 100 graines (g) des variétés

3. Comportement des variétés vis-à-vis de la contamination par *A. flavus*/ *A. parasiticus*

a) Contamination naturelle des arachides au champ

- Cas des graines non stérilisées

Les résultats de ce test sont présentés dans le tableau IX.

Tableau IX :Taux de contamination naturelle (au champ) des graines non stérilisées en surface.

Variété	Taux de contamination (%)	
ICGV 87779	94,2	(76.53) a
ICGV 87836	90,8	(72.52) ab
ICGV 87821	87,5	(69.52) abc
ICGV 88262	74,2	(59.50) abcd
ICGV 88274	65	(53.81) abcde
Fleur 11	54,2	(48.26) bcdef
ICGV 91283	53,3	(47.07) bcdef
ICGV 87845	51,7	(45.97) cdef
73-33	50	(45.01) cdef
GH 119-20	48,3	(44.03) cdef
ICGV 89063	43,3	(41.12) def
ICGV 87815	42,5	(40.55) def
ICGV 87110	39,2	(38.66) def
ICGV 89112	34,2	(34.69) def
J11	33,3	(34.26) def
ICGV 89065	25,8	(30.47) def
Var 27	25	(29.73) def
55-437	22,5	(27.99) ef
ICGV 87084	17,5	(24.09) ef
GC 8-35	15,8	(21.52) f
MOY.	44,77	
C.V. (%)	23.39	
Effet	***	

C.V. : Coefficient de variation

*** : Effet très hautement significatif.

Les moyennes ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil 5 % (Test de Newman-Keuls)

ppas (plus petite amplitude significative) = 17,11

Les valeurs entre parenthèses ont subi une transformation angulaire

Ils permettent de noter que GC-8-35 est le génotype le plus résistant à *A. flavus* (15,8 %) (groupe 2). Une différence significative est notée entre son taux de contamination et ceux de ICGV 87 779, ICGV 87 836, ICGV 87 821, ICGV 88 262 et ICGV 88 274 (65 à 94,2 %) qui constituent le groupe le plus sensible au champignon (groupe 1) et au sein duquel aucune différence significative de comportement vis-à-vis de *A. flavus* n'est relevée entre les variétés.

De même, aucune discrimination n'a pu être faite entre le lot des 13 variétés restantes sur la base de leurs taux de contamination respectifs. Toutefois, l'on peut tenter de classer celles-ci en 2 catégories : les moyennement résistantes (17,5 à 43,3 %) : ICGV 87 084, 55-437, VAR 27, ICGV 89 065, J11, ICGV 89 112, ICGV 87 110, ICGV 87 815, ICGV 89 063 (groupe 4) et les moyennement sensibles (48,3 à 65 %) : GH 119-20, 73-33, ICGV 87 845, ICGV 91 283, Fleur 11 (groupe 3) (Fig. 12).

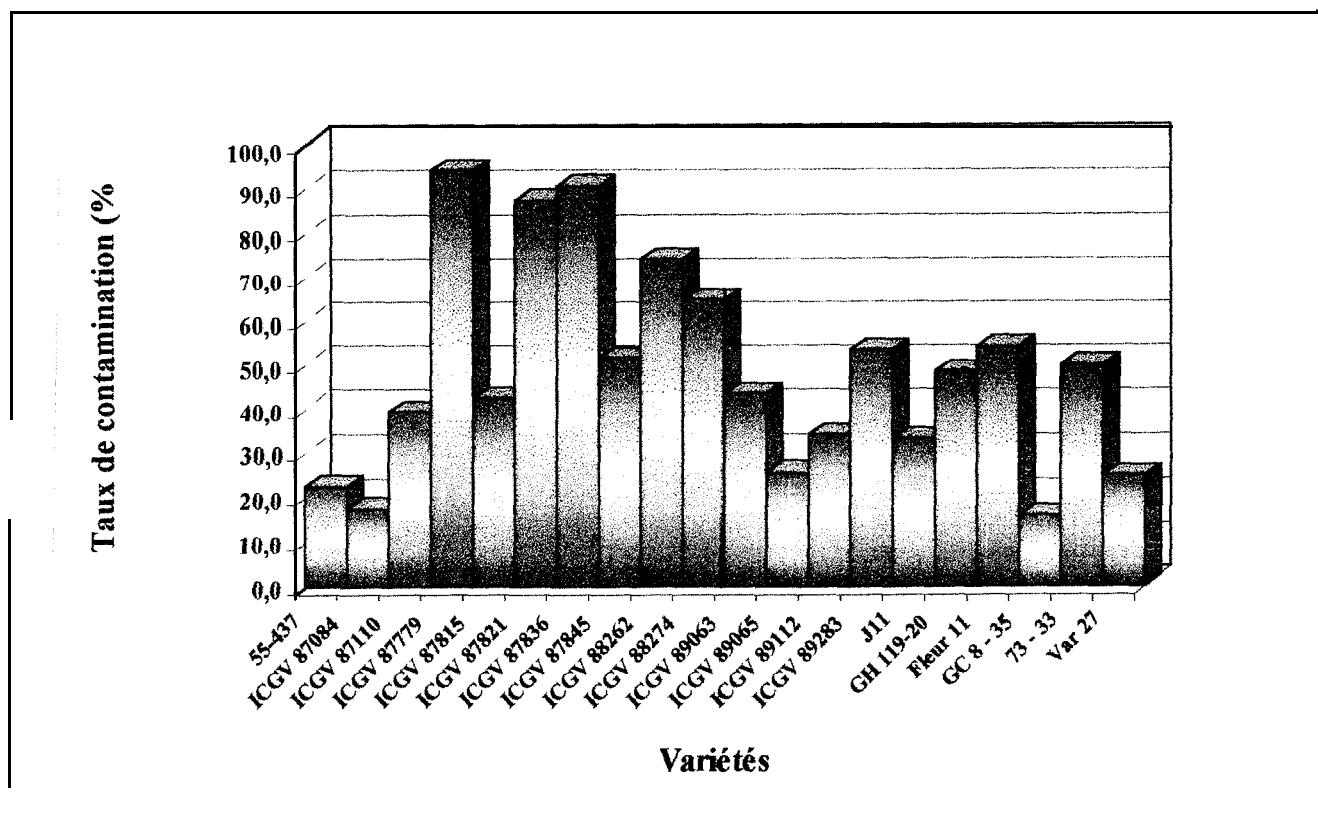


Figure 12 : Contamination naturelle des variétés au champ (graines non stérilisées)

- Cas des graines préalablement stérilisées en surface

Les résultats sont indiqués dans le tableau X.

Tableau X :Taux de contamination naturelle (au champ) des graines stérilisées en surface.

Variété	Taux de contamination (%)		
ICGV 87836	9,56	(80.80)	a
ICGV 87821	8,79	(70.15)	ab
Fleur 11	6,46	(60.59)	abc
ICGV 88262	7,07	(59.54)	abc
J11	6,35	(54.58)	abc
ICGV 87845	6,29	(53.62)	abc
ICGV 87084	5,81	(49.93)	abc
ICGV 91283	5,47	(46.44)	abc
ICGV 88274	4,58	(41.36)	abc
ICGV 89063	3,23	(34.54)	abc
ICGV 87815	3,03	(33.58)	abc
ICGV 87779	3,08	(33.46)	abc
ICGV 89112	3,70	(33.30)	abc
73-33	3,02	(33.05)	abc
GH 119-20	2,88	(30.18)	abc
ICGV 89065	1,47	(22.70)	bc
Var27	1,46	(22.21)	bc
ICGV 87110	1,15	(18.86)	bc
55-437	0,39	(9.347)	c
GC 8-35	0,45	(6.976)	c
MQY.	39,76		
c.v (%)	49.92		
Effet	***		

C.V. : Coefficient de variation

*** : Effet très hautement significatif

Les moyennes ayant la même lettre ne sont pas *significativement différentes* au seuil 5 % (Test de Newman-Keuls)

ppas @lus petite amplitude significative) = 28,64

Les valeurs entre parenthèses ont subi une transformation angulaire

Ils révèlent à l'évidence, que ce test est faiblement discriminant. Toutefois, il fait ressortir une **différence** significative entre d'une part : ICGV 87 836 et ICGV 87 821 apparaissant ici comme les variétés les plus sensibles (95,6 % et 87,9 % respectivement) (groupe 1) et d'autre

part, GC-8-35 et 57-437 qui se révèlent ici être les plus résistantes (4,5 % et 3,9 % respectivement) (groupe 2).

Les taux de contamination des 16 autres variétés ne présentent pas de variation significative selon le test statistique de comparaison des moyennes mis en œuvre. Toutefois, l'on peut retenir que, compte tenu de leurs taux relativement faibles, ICGV 87 110, VAR 27 et ICGV 89 065 (11,5 % ; 14,6 % et 14,7 % respectivement) sont moyennement résistantes (groupe 4) ; alors que GH 119-20, 73-33, ICGV 89 112, ICGV 87 779, ICGV 87 815, ICGV 89 063, ICGV 88 274, ICGV 91 283, ICGV 87 084, ICGV 87 845, J11, ICGV 88 262 et Fleur 11 (28.8 % à 64.6 %) sont moyennement sensibles (groupe 3) (Fig. 13).

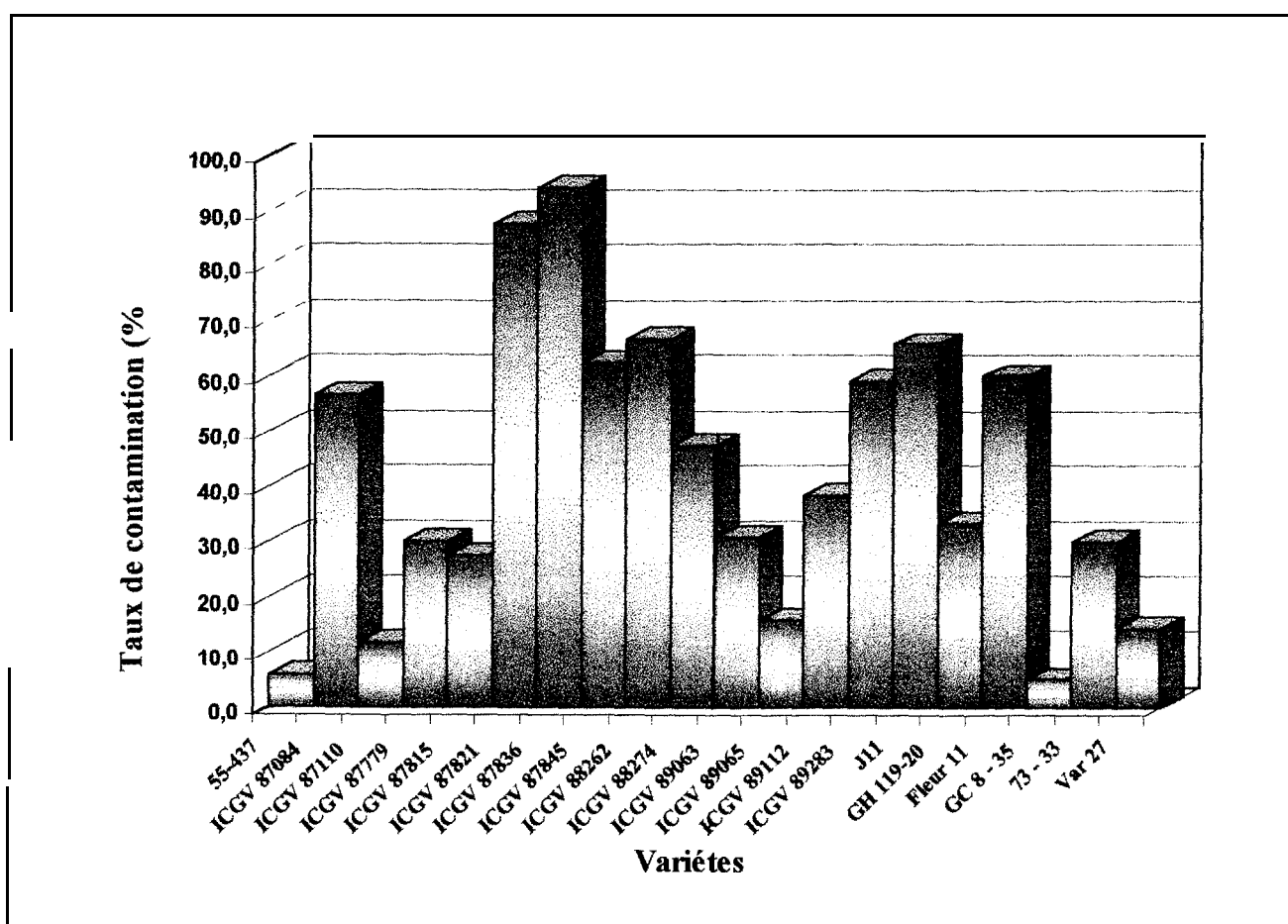


Figure 13 : Contamination naturelle des variétés au champ (graines préalablement stérilisées en surface)

b) Contamination artificielle des graines par *A. flavus*

- Cas de la souche banale d'*A. flavus*

La photo 4 montre la colonisation des graines d'arachides soumises à une contamination artificielle par la souche banale d'*A. flavus*

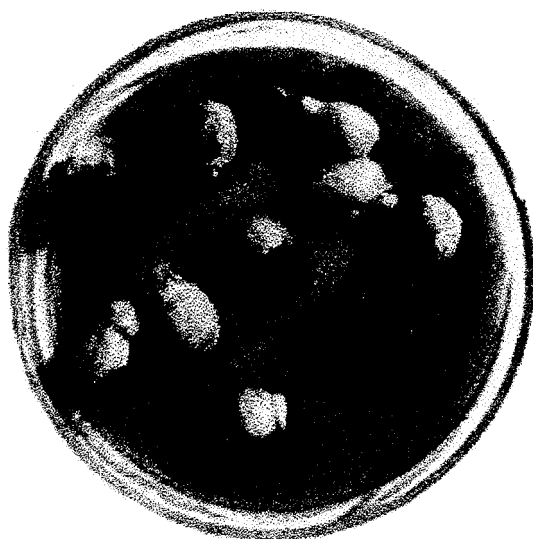


Photo 4 : Graines d'arachide colonisées par *A. flavus*, souche banale

Les résultats (Tableau XI) permettent de distinguer 3 groupes de variétés mais dans chacun desquels on ne note cependant, aucune différence significative entre les individus.

Le groupe 1 réunit les variétés les plus sensibles à *A. flavus* : (96 à 100 %) ICGV 87 821, ICGV 87 262, ICGV 87 779, ICGV 87 836, ICGV 87 815 et Fleur 11. La variété ICGV 89 065 (48,8 %) apparaît comme étant la plus résistante au champignon aflatoxinogène (Groupe 2). Le Groupe 4 rassemble les variétés moyennement résistantes à *A. flavus* (62,8 % à 75,7 %) : 73-33, GC-8-35, 55-437, JII, ICGV 87 084, ICGV 87 110, ICGV 87 845 et GH 119-20.

Le lot des variétés restantes (groupe 3) (80,6 à 90,96 %) comprend ICGV 91 283, ICGV 88 274, VAR 27, ICGV 89 063 et ICGV 89 112 que l'on peut qualifier de moyennement sensible à *A. flavus* (Fig. 14).

Tableau XI : Taux de contamination artificielle des graines par *A. flavus*

Variété	Taux de contamination (%)
ICGV 87821	100 (90.05) a
ICGV 88262	99,4 (87.01) ab
ICGV 87779	98,3 (83.98) abc
ICGV 87836	98,5 (83.98) abc
ICGV 87815	94,9 (80.11) abcd
Fleur 11	96,7 (79.67) abcd
ICGV 91283	90,9 (72.68) bcde
ICGV 88274	90,4 (71.99) bcde
Var 27	87,6 (69.39) cdef
ICGV 89063	83,5 (68.01) def
ICGV 89112	80,6 (65.18) ef
73-33	75,7 (61.23) ef
GC 8-35	74,3 (60.02) ef
55-437	74,5 (59.65) ef
J11	73,9 (59.56) ef
ICGV 87084	73,7 (59.01) ef
ICGV 87110	71,2 (57.61) ef
ICGV 87845	69,6 (56.91) ef
GH 119-20	62,8 (52.77) f
ICGV 89065	43,8 (41.63) g
MOY.	68,17
C.V.	8.05
Effet	***

C.V. : Coefficient de variation

*** : Effet très hautement significatif.

Les moyennes ayant la même lettre ne sont pas **significativement** différentes au seuil 5 % (Test de Newman-Keuls)

ppas (plus petite amplitude significative) = 10,08

Les valeurs entre parenthèses ont subi une transformation angulaire

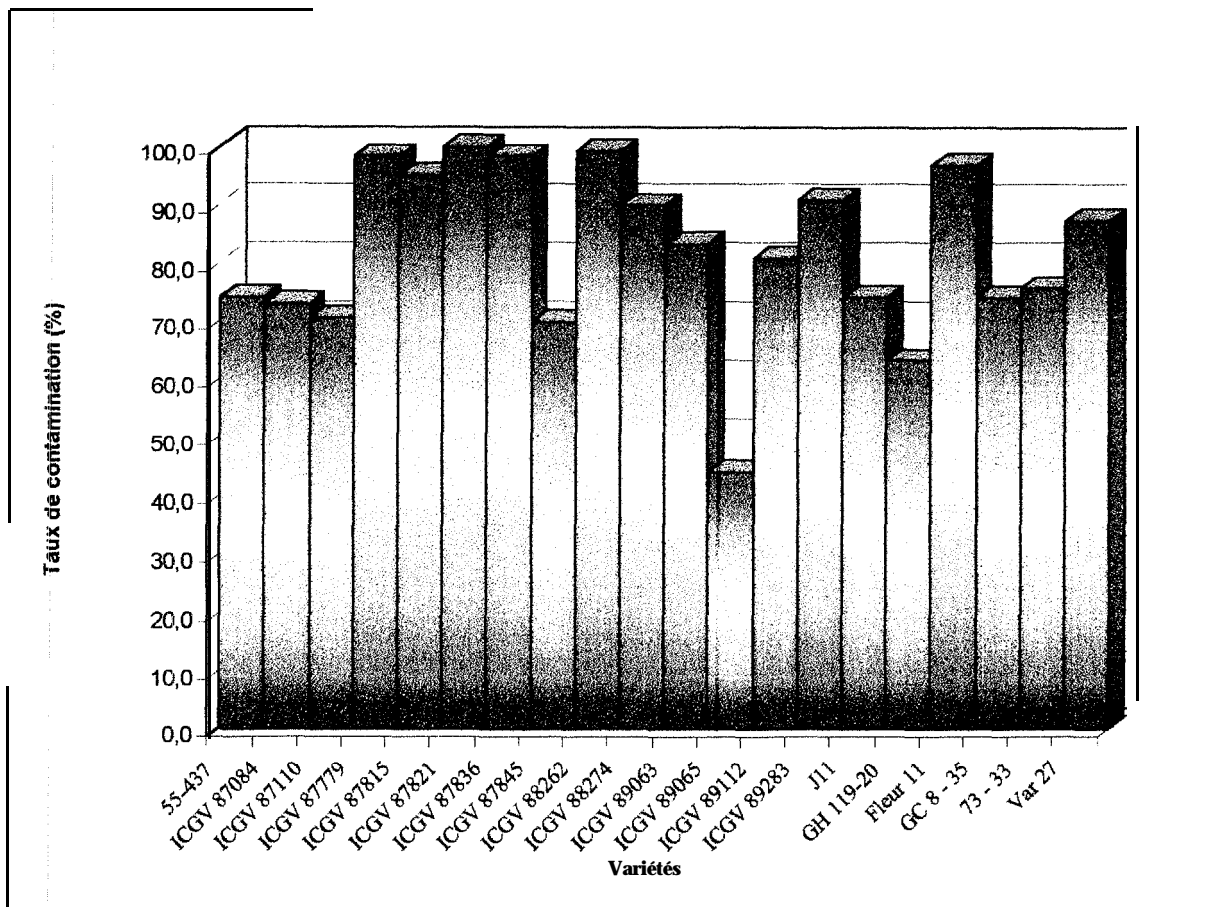


Figure 14 : Contamination artificielle des variétés avec la souche banale d'*Aspergillus flavus*

- cas de la souche mutante de *A. flavus*

La présence et l'extension de la couleur orange symptomatique de la production d'acide norsolorinique par le mutant à l'intérieur des graines constitue le principal critère de classification. Elle est appréciée par observation visuelle de la coupe transversale des graines infestées après 4 jours d'incubation (photo 5).

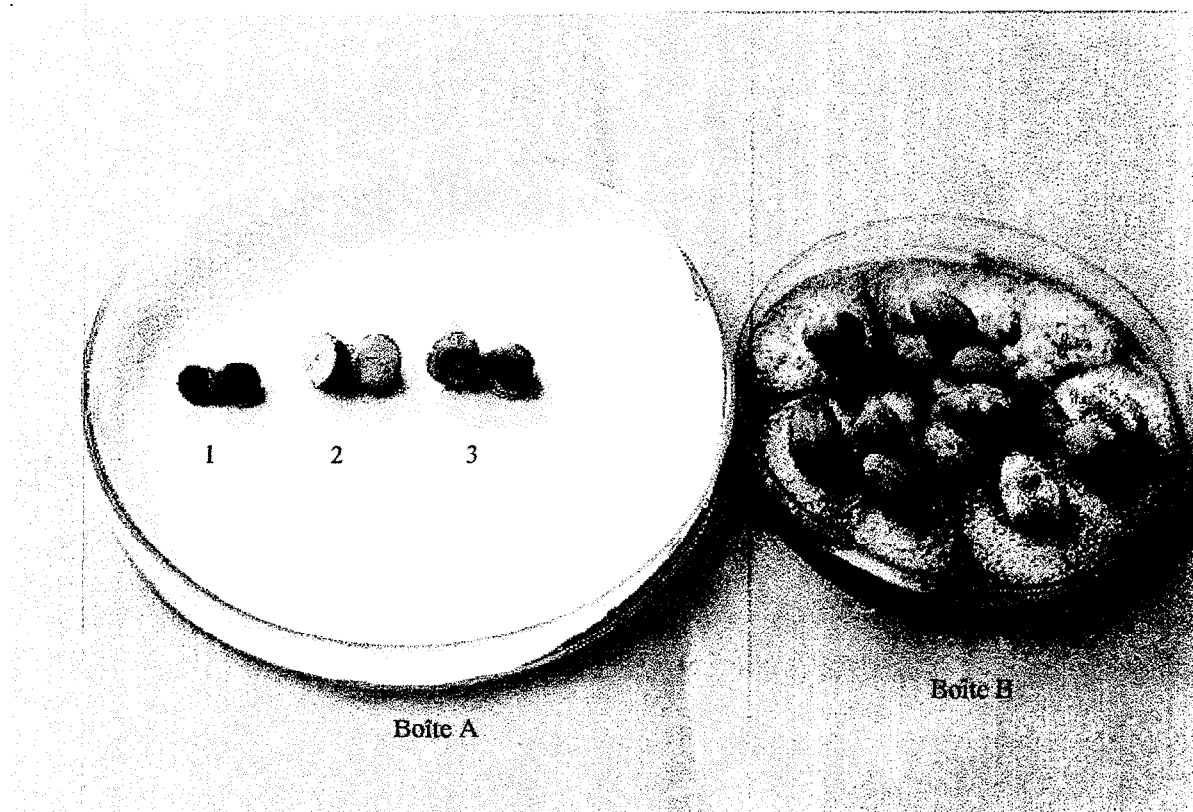


Photo 5 : Graines d'arachide contaminées par *A. flavus*, souche mutante

Boîte A : Coupe transversale des graines de la Boîte B.

1 : coloration orange supérieure à 50%

2 : coloration nulle

3 : coloration comprise entre 25 et 50 %/

Les résultats (tableau XII) indiquent que ICGV 87 821, ICGV 87 836 et ICGV 88 262 présentent les plus fortes extensions d'acide norsolorinique dans leurs graines. Elles apparaissent donc comme étant potentiellement les plus sensibles à l'infestation par *A. flavus* et à la contamination par l'aflatoxine (groupe 1) sur la base de l'hypothèse préalablement énoncée. Leurs notations relatives (0,6 1-0,64) sont significativement différentes de celles de tous les autres génotypes à l'exception de ICGV 87779, ICGV 87 815 et ICGV 88 274 qui peuvent être considérés comme moyennement sensibles (groupe 3) (0,41-0,53).

Les autres géotypes caractérisés par une faible extension d'acide norsolorinique dans leurs graines ne présentent pas de différence significative entre eux ; toutefois, on peut les distinguer en deux groupes : ceux qui sont caractérisés par un bon niveau de résistance (0,10-0,12) (groupe 2) : VAR 27, 55-437, ICGV 87 084, 73-33, J11, CG-8-35 et ceux qui présentent un niveau moyen de résistance (groupe 4) (0,15-0,27) ICGV 89 065, ICGV 87 845, ICGV 91 283, ICGV 89 112, ICGV 87 110, ICGV 89 063, GH 119-20, Fleur 11 (Fig. 15).

Tableau XII : Contamination artificielle des graines avec la souche mutante.

Variété	Notation visuelle ¹
ICGV 87821	0,64 a
ICGV 878'36	0,64 a
ICGV 88262	0,61 a
ICGV 87779	0,53 ab
ICGV 878 15	0,47 bc
ICGV 88274	0,41 abc
GH 119-20	0,27 de
Fleur 11	0,27 de
ICGV 89063	0,25 def
ICGV 87110	0,24 def
ICGV 89112	0,18 def
TCGV 91283	0,17 def
ICGV 87845	0,15 def
ICGV 89065	0,15 def
GC 8-35	0,12 ef
J11	0,11 f
73-33	0,11 f
55-437	0,10 f
ICGV 87084	0,10 f
Var 27	0,10 f
MOY.	0,28
C.V. (%)	18,05
Effet variétal	***

C.V. : Coefficient de variation

*** : Effet très hautement significatif.

Les moyennes ayant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil 5 % (Test de **Newman-Keuls**)

ppas : (plus petite amplitude significative) = 0,0879

Les valeurs entre parenthèses ont subi une transformation angulaire

¹ Moyenne de 3 répétitions par variété

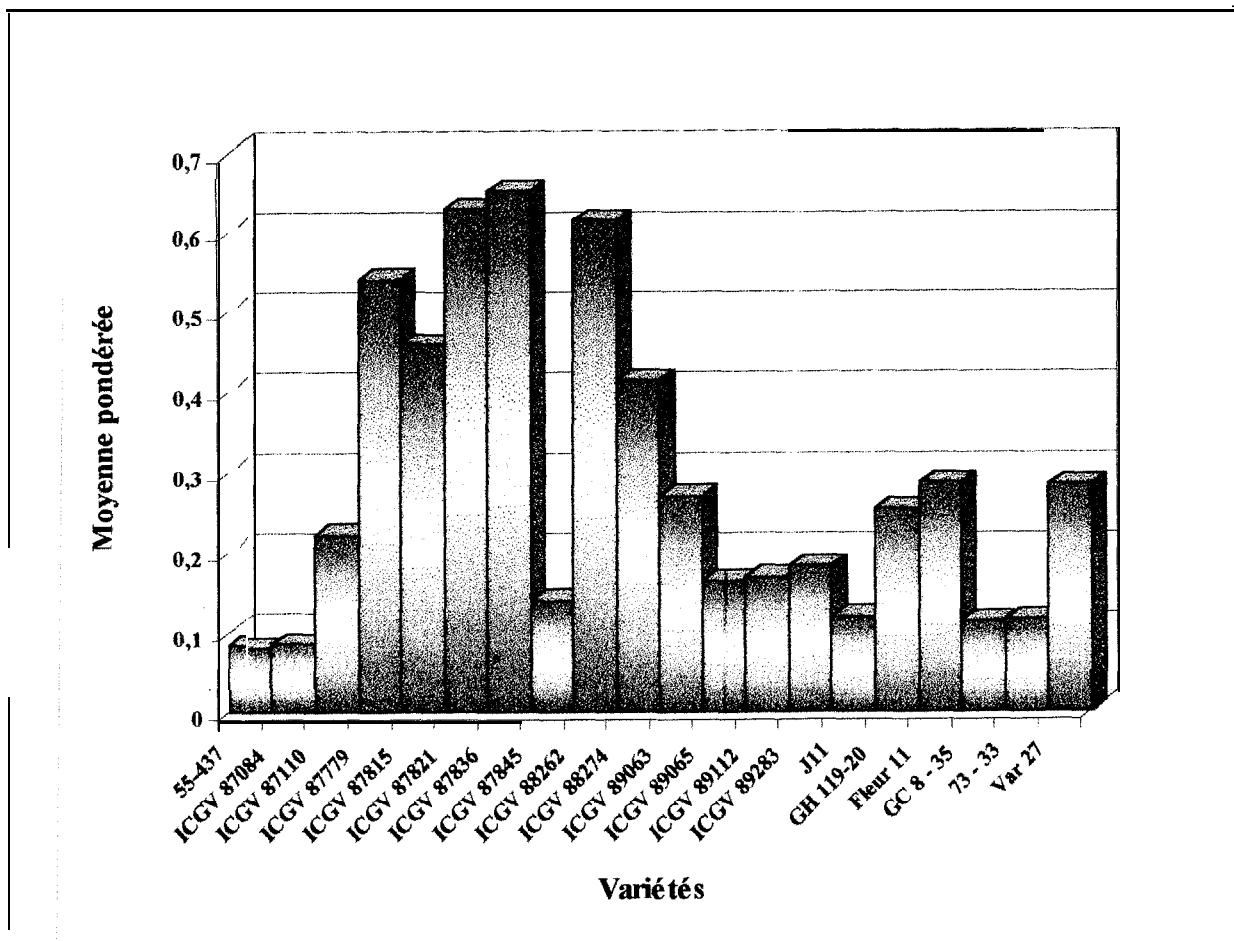


Figure 15 : Contamination artificielle des variétés avec la souche mutante d'*Aspergillus flavus*

Le tableau XIII donne une vue synoptique du classement des variétés selon les diverses échelles relatives spécifiques à chaque test. Il permet de mieux visualiser les points de convergence et de divergence entre les tests.

Tableau XIII : Classement des variétés par rapport aux paramètres de la contamination suivant diverses échelles relatives

Classe	CONTAMINATION NATURELLE AU CHAMP			CONTAMINATION ARTIFICIELLE				
	graines non stérilisées en surface	Echelle relative	graines stérilisées en surface	Echelle relative	Souche banale	Echelle relative	Souche mutante	Echelle relative
Groupe 1 : Sensibles	ICGV 87 779 ICGV 87 836 ICGV 87 821 ICGV 88 262 ICGV 88 274	65 à 94,2 %	ICGV 87 836 ICGV 87 821	87,9 à 95,6 %	ICGV 87 821 ICGV 88 262 ICGV 87 836 ICGV 87 779 Fleur 11 ICGV 87 815	96 à 100 %	ICGV 87 836 ICGV 87 821 ICGV 88 262	0,61-0,64
Groupe 2 : Résistantes	GC-8-35	15,8 %	55-437 X-8-3 5	3,9 à 4,5 %	ICGV 89 065	43,8 %	55-437 ICGV 87 084 73-33 J11 X-8-35	0,10-0,12
Groupe 3 : Moyennement sensibles	Fleur 11 ICGV 91283 ICGV 87 845 73-33 GH 119-20	48,3 à 65 %	ICGV 88 274 ICGV 91283 ICGV 87 084 ICGV 87 845 J11 Fleur 11 ICGV 88 262 GH 119-20 73-33 ICGV 87 815 ICGV 87 779 ICGV 89 063 ICGV 89 112	28,8 à 64,6 %	ICGV 91283 ICGV 88 274 VAR 27 ICGV 89 063 ICGV 89 112	80,6 à 90,9 %	ICGV 87 779 ICGV 87 815 ICGV 88 274	0,41-0,53
Groupe 4 Moyennement résistantes	ICGV 89 063 ICGV 87 815 ICGV 87 110 ICGV 89 112 J11 ICGV 87 084 55-437 VAR 27 ICGV 89 065	17,5 à 43,3 %	ICGV 87 110 VAR 27 ICGV 89 065	11,5 à 14,7 %	73-33 55-437 GC-8-35 J 11 ICGV 87 084 ICGV 87 110 ICGV 87 845 GH 119-20	62,8 à 75,7 %	ICGV 89 065 ICGV 87 845 ICGV 91283 ICGV 87 110 ICGV 89 112 ICGV 89 063 GH 119-20 Fleur 11 VAR 27	0,15-0,27

c) Corrélations entre les tests mis en œuvre

Les coefficients de corrélation entre les tests de contamination artificielle réalisés au moyen de la souche banale (SB) et de la souche mutante (SM), les tests de contamination naturelle effectués à partir de graines non stérilisées (NST) et stérilisées (ST) sont indiqués dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Corrélations entre les divers paramètres

	SB	SM	NST	ST
SB	1			
SM	0,649***	1		
NST	0,557***	0,716***	1	
ST	0,405**	0,384**	0,540***	1

** Significatif au seuil de 1 %

* * * significatif au seuil de 0.1%

Il ressort de l'analyse que les corrélations entre (SB) et (SM) d'une part (0,649) et (SB) et (NST) d'autre part (0,557) sont très hautement significatives ; celle entre (SB) et (ST) (0,405) est hautement significative.

La corrélation entre (NST) et (ST) (0,540) est très hautement significative.

La corrélation entre (SM) et (NST) est très hautement significative et, fait notable, elle présente la valeur la plus élevée (0,716). Celle entre (SM) et (ST) (0,384) se révèle hautement significative.

Les droites de régression (Fig. 16) déterminées à partir des valeurs obtenues de ces tests font apparaître que celle associant (SM) et (NST) accuse la plus forte croissance.

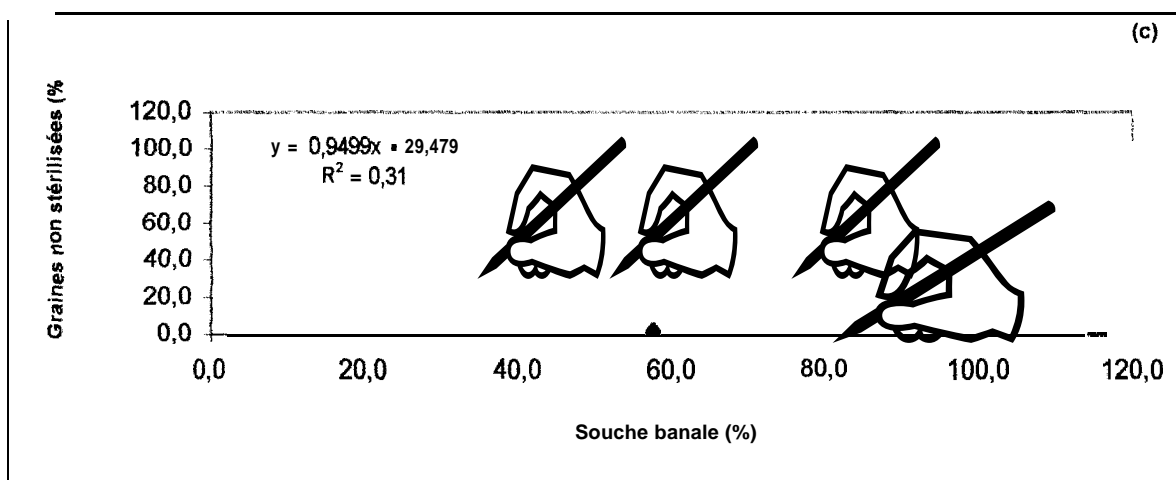
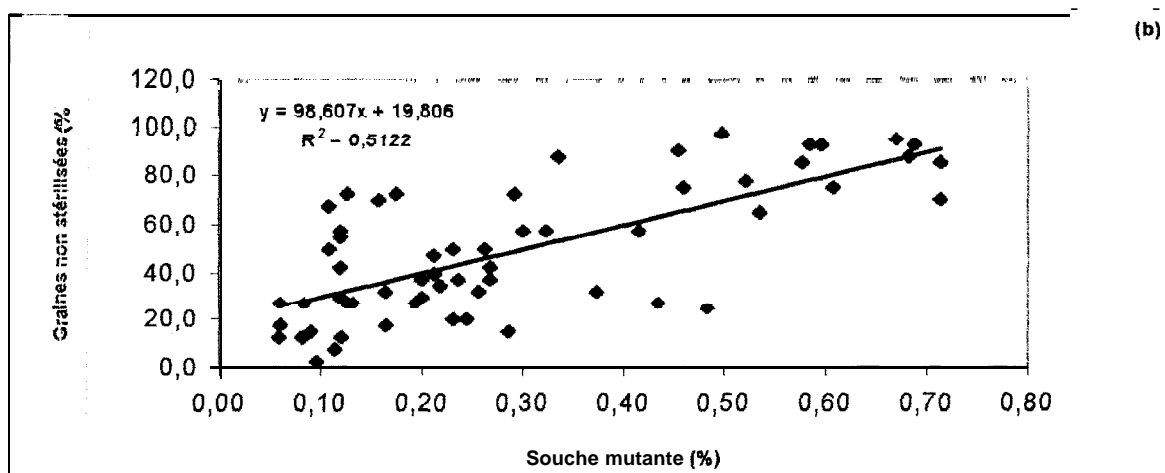
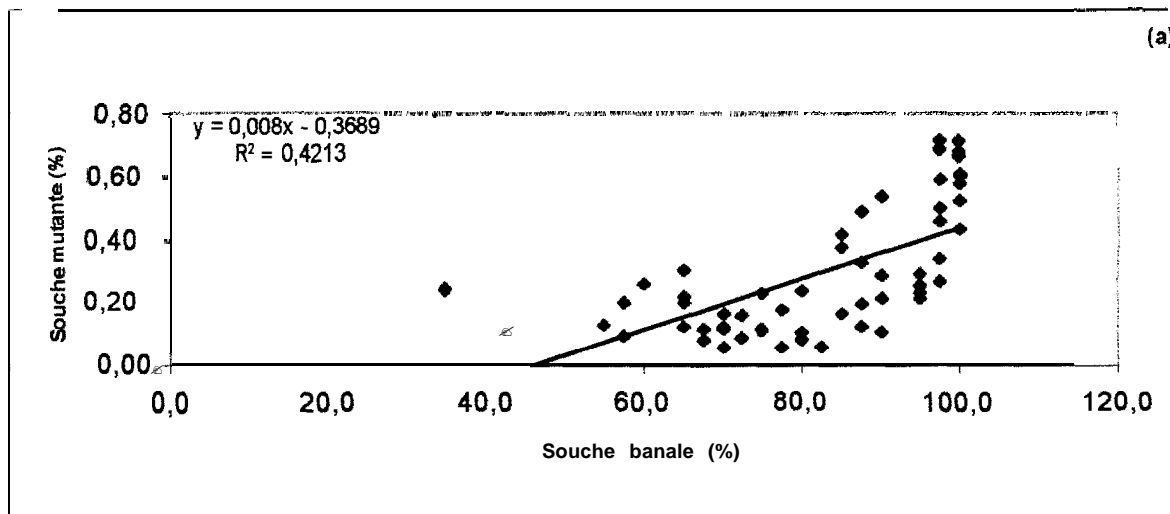
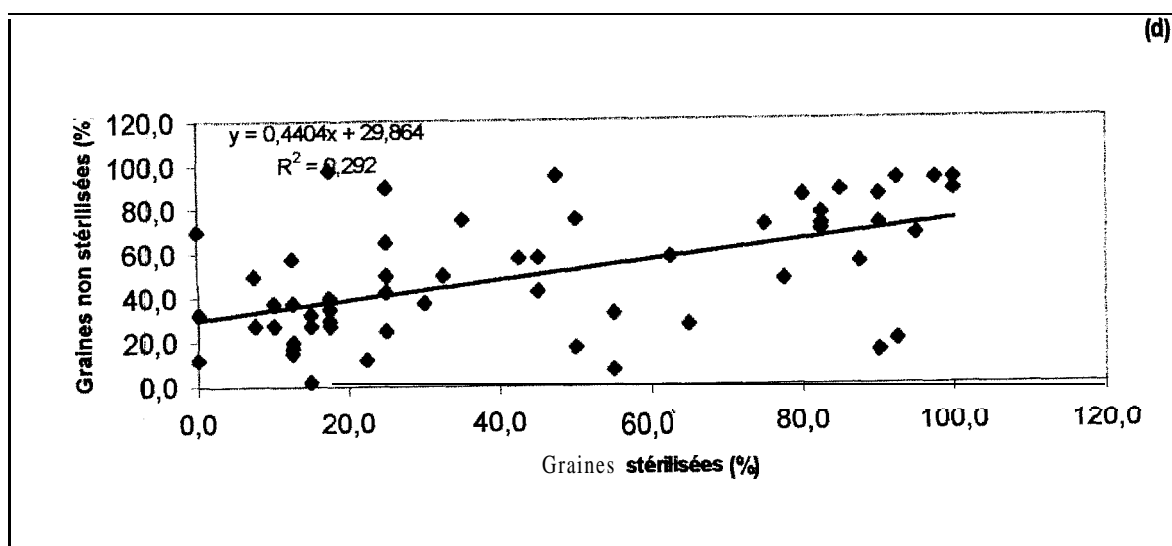
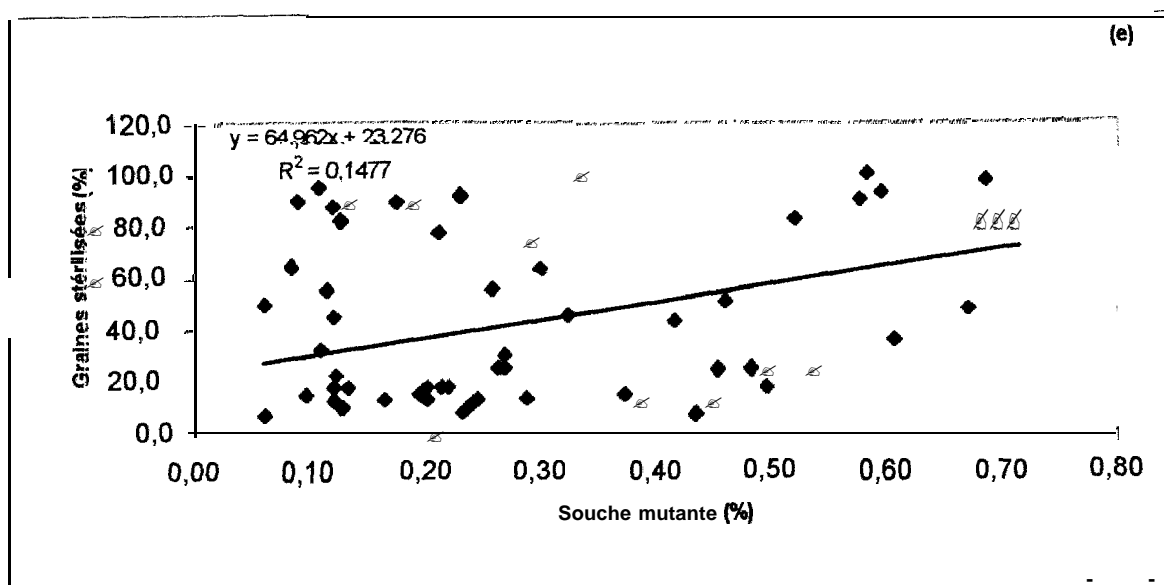


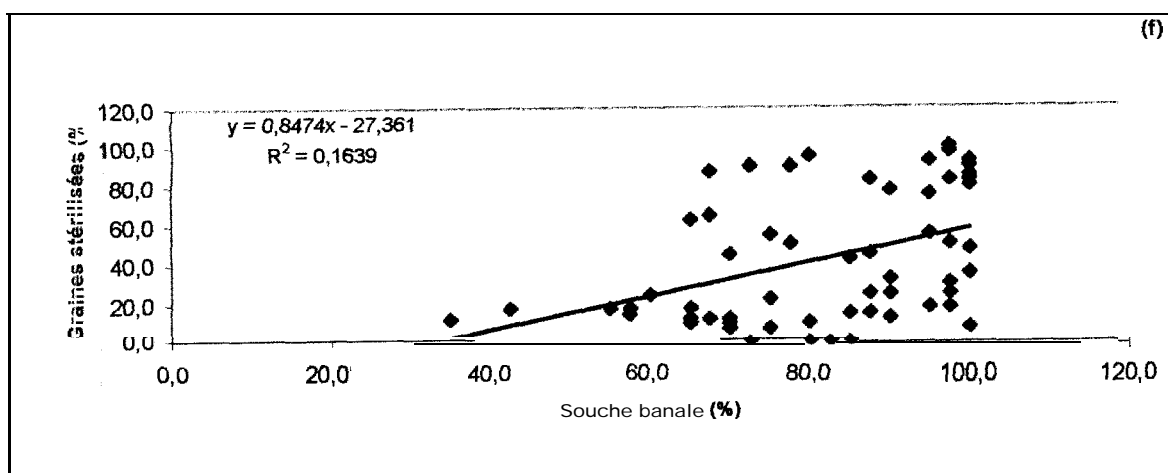
Figure 16 : Droites de régression entre divers tests de contamination



(d) : droite de régression entre la contamination naturelle des grains non stérilisés et celles des grains stérilisés



(e) : Droite de régression entre la contamination naturelle des grains stérilisés et la contamination avec la souche banale



(f) : droite de régression entre la contamination des grains non stérilisés et la contamination des grains avec la souche mutante

Figure 14 : Droites de régression entre les différents tests de contamination.

4. Relations entre le niveau de contamination du sol et le taux d'infestation des variétés par *A. flavus*

L'étude du taux de contamination du sol mis en culture pour chaque variété montre que la population tellurique des champignons a notablement évolué au cours du cycle végétatif. En effet, la densité de population de la mycoflore aspergillienne apparaît faible au semis et à la floraison puis se voit quasiment triplée en période de récolte (Tableau XV). Mais le fait le plus remarquable est qu'à densité de population d'*A. flavus* équivalentes ou presque, les variétés résistantes (55-437) ou moyennement résistante (VAR 27) se retrouvent, après récolte, moins infestées que les variétés moyennement sensibles ou sensibles (ICGV 87 779, ICGV 87 815, ICGV 87 836, ICGV 87 845, ICGV 88 262 et ICGV 91283) (Fig 16).

Tableau XV : Evolution de la population de spores par g de sol pour différentes dates de prélèvement allant du semis à la récolte

NOMBRE DE SPORES PAR G DE SOL POUR LES 3 DATES DE PRÉLÈVEMENTS EN FONCTION DES VARIETES			
Variétés	Semis	Floraison	Maturation des gousses
55-437	1805.83	18.75	4827.08
ICGV 87084	50.42	442.92	1097.50
ICGV 87110	608.75	460.00	1389.58
ICGV 87779	884.58	560.00	3912.50
ICGV 87815	417.08	1411.25	5194.17
ICGV 87121	92.08	1255.00	2014.17
ICGV 87836	1325.83	512.08	4176.25
ICGV 87845	934.58	462.92	4060.00
ICGV 88262	192.08	60.00	3436.25
ICGV 88274	1098.25	1813.75	959.17
ICGV 89063	1850.42	537.08	2759.58
ICGV 89065	512.50	935.00	2422.50
ICGV 89112	1804.17	981.67	3031.67
ICGV 9 1283	86.25	852.50	4483.33
J11	121.67	1315.42	967.92
GH 119-20	508.75	925.42	67.08
Fleur 11	546.25	965.42	2466.25
GC 8-35	8.33	704.17	1516.25
73-33	1017.50	925.00	1305.00
Var 27	1551.25	1194.58	6572.50
Moyenne	770.73	816.65	2832.94

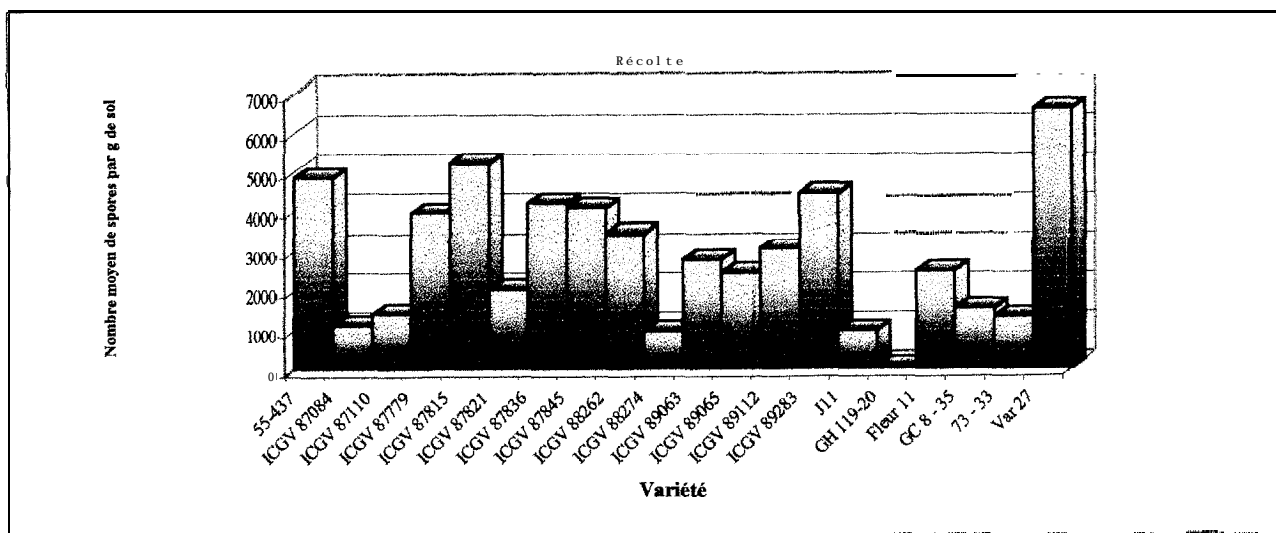
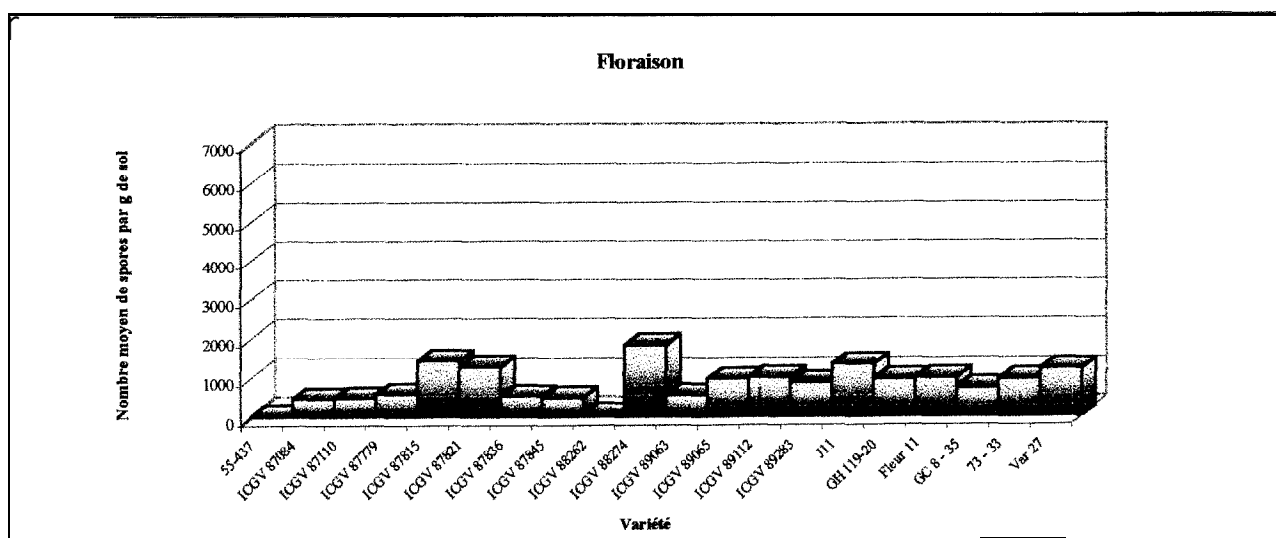
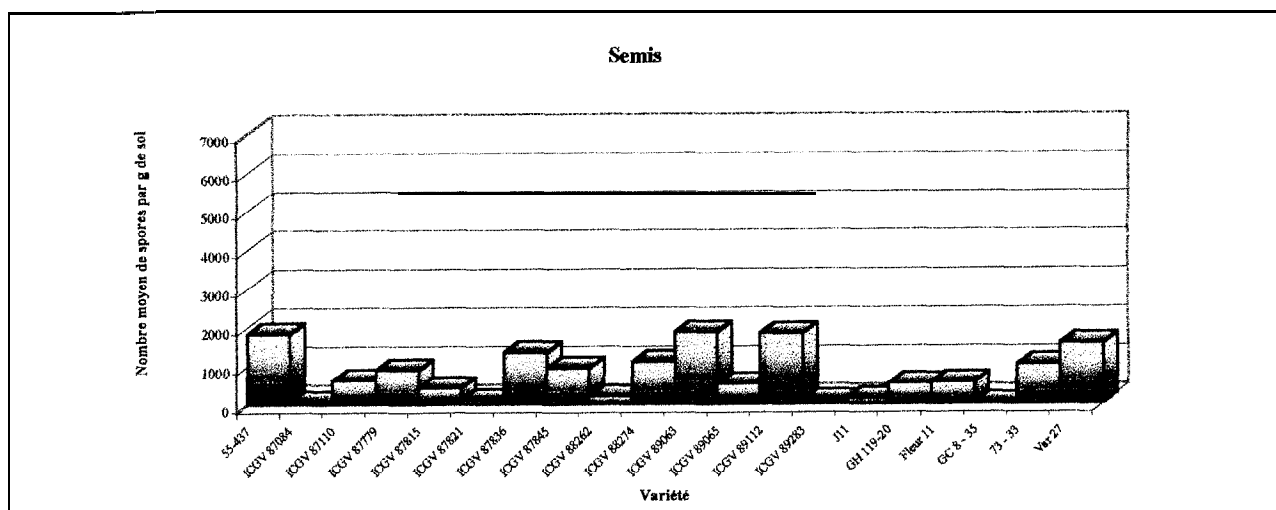


Figure 17 : Populations de spores d'*Aspergillus flavus* à différentes phases du cycle de la plante

5. Teneur en huile et niveaux de contamination des variétés par l'aflatoxine.

La teneur en huile des variétés a été déterminée sur un échantillon moyen de mouture des graines de chaque variété.

La détermination de la teneur en aflatoxine a été réalisée sur les moutures de graines déshuilées provenant de l'opération antérieure.

Les résultats relatifs à ces deux paramètres sont consignés dans le tableau XVI

Tableau XVI : Teneurs en huile et aflatoxine B₁

Variétés	Teneur en huile (%)	Teneur en aflatoxine B ₁ (ppb)
55-437	49	1.03
ICGV 87084	53	2.41
ICGV 87110	51	0
ICGV 87779	46	0
ICGV 87815	54	0
ICGV 87821	51	0
ICGV 87836	53	3.78
ICGV 87845	55	0
ICGV 88262	51	0
ICGV 88274	58	0
ICGV 89063	59	0
ICGV 89065	60	0
ICGV 89112	51	0
ICGV 91283	52	0.80
J11	55	0.18
GH 119-20	52	0
Fleur 11	57	0
GC 8 - 35	57	0
73 - 33	60	0
Var 27	54	0

A l'exception de ICGV 87779 (46 %) toutes les autres variétés ont des teneurs en huile avoisinant 50 %. Fleur 11, 73-33, et GC 8-35 qui sont des variétés vulgarisées ou en voie de l'être au Sénégal ont des teneurs en huile respectives de 57 %, par rapport aux variétés introduites de l'ICRISAT.

De toutes les variétés mises en test, seules 5 se sont révélées être contaminées par l'aflatoxine. 55-437 et J 11, connues pour leur résistance à *A. flavus* ont des teneurs en aflatoxines très

faibles (1.03 et 0.18 ppb*). ICGV 87084 variétés dotées d'une résistance variable à *A. flavus* concentre 2.41 ppb d'aflatoxines. ICGV 87779, ICGV 87836 et ICGV 91283 toutes, variétés sensibles ont des teneurs respectives de 1.03; 3.78 et 0.80 ppb.

Il faut rappeler que ces variétés ont été cultivées selon les normes recommandées par la recherche, en matière de prévention de la contamination par l'aflatoxine. Il n'est pas rare que dans les méthodes cultivées selon des méthodes traditionnelles en milieu paysan, on relève des teneurs en aflatoxines variant entre plusieurs centaines et plusieurs milliers de ppb. Les faibles teneurs d'aflatoxine B₁ enregistrées dans cet essai attestent bien de la possibilité de produire au Sénégal des arachides dont les niveaux de contamination sont conformes voire même en-deçà des normes édictées par le marché international.

* ppb : parties par milliard

DISCUSSION GÉNÉRALE

La résistance des graines des génotypes d'arachide présente un intérêt particulier pour réduire l'invasion par *A. flavus* et *A. parasiticus* ainsi que la production subséquente d'aflatoxines (Mehan V. K. et *al.* 1983).

Les résultats de ce travail montrent, suivant les différents tests de contamination, que chez certaines variétés les niveaux de colonisation par les champignons aflatoxinogènes sont significativement moins élevés que chez d'autres. Cependant les niveaux de colonisation des graines de tous les génotypes testés sont les plus élevés pour la contamination artificielle avec la souche banale d'*A. flavus* (43 % à 100 %). Dans ces conditions, la pression fongique est tellement forte qu'il devient difficile de discriminer les variétés. En effet, il devient relatif d'affirmer qu'une variété qui a un niveau de colonisation de 43 % est tolérante. Des travaux antérieurs (Mehan V. K. et *al.*, 1981) ont montré que les résultats obtenus suivant cette technique ne sont pas toujours corrélés avec la contamination naturelle des génotypes au champ.

Pour le test de contamination artificielle des graines avec la souche mutante, des essais préliminaires ont montré que la croissance fongique et la production subséquente d'acide norsolorinique étaient inhibées chez les graines mûres nouvellement récoltées. Il apparaît qu'à ce stade de développement les mécanismes de défense (sécrétion de phytoalexines) de la graine mûre, saine et fraîchement récoltée sont suffisants pour inhiber la croissance fongique.

Des résultats similaires ont été trouvés par Lopez Y. (1994). Dans le test de contamination artificielle mettant en œuvre la souche mutante des résultats positifs montrant une différence très hautement significative entre les variétés ($P < 1/\infty$) ne sont obtenus qu'après 15 jours de séchage et de stockage au champ des variétés. Il est fort probable que les taux d'humidité élevés des graines au moment de la récolte aient joué un rôle dans l'absence d'expression du mutant chez les graines nouvellement récoltées.

Sur les 20 génotypes mis à sécher pendant 15 jours et testés avec la souche mutante, cinq ont présente des réponses de résistance, il s'agit de :

- 55-437 (témoin local de résistance locale) ;
- ICGV 87 084 (introduction de l'ICRISAT) ;
- 73-33 (variété locale adaptée à la zone de Nioro) ;
- ≈ J 11 (témoin de résistance de l'ICRISAT) ;
- ≈ GC-8-35 (variété locale nouvellement sélectionnée pour le Nord du bassin arachidier en vue de remplacer la 55-437).

Tous ces génotypes se sont classés moyennement résistants avec le test de contamination des graines non stérilisées et le test de contamination artificielle par la souche banale. On peut donc considérer qu'ils gardent pratiquement leurs niveaux de résistance et pourraient donc être exploités pour minimiser la contamination par les aflatoxines (Tabl XIII).

Trois génotypes se sont révélées sensibles :

- . ICGV 87 836
- ≈ ICGV 87 821
- . ICGV 88 262

Ces résultats sont également en bonne concordance avec ceux obtenus avec les tests de contamination naturelle des graines non stérilisées et stérilisées et le test de contamination artificielle avec la souche banale.

La variété GH 119-20 connue pour sa sensibilité moyenne à *A. flavus* selon le test de contamination naturelle des graines non stérilisées se retrouve, hélas, parmi les variétés moyennement résistantes selon les tests de contamination artificielle avec la souche banale et la souche mutante.

L'intérêt de la souche mutante réside dans son fort pouvoir de discrimination des variétés .

L'évaluation des génotypes d'arachide pour la résistance à l'infestation (au champ) des graines préalablement stérilisées en surface peut présenter un intérêt dans la mesure où elle permet de mettre en évidence la résistance du tégument séminal. En effet avec la désinfection superficielle, on favorise l'expression de la contamination systémique laquelle est moins fréquente que l'invasion directe par le champignon (Diener et *al.*, 1986). Il ressort de ce test des génotypes dont les niveaux de résistance se sont déjà exprimés dans les autres tests de contamination : Il s'agit de 55-437 et GC-8-35. Cependant, des travaux ont mis en évidence le

caractère complexe de la désinfection superficielle des graines qui, si elle est très poussée donne des résultats très faibles. Par contre, si la désinfection superficielle est très légère, les spores qui se trouvent sur le tégument séminal ne sont pas détruits, ce qui peut biaiser les résultats obtenus.

Par ailleurs, il ne semble pas y avoir une relation directe entre la densité de population d'*A. flavus* dans le sol et le niveau de contamination des génotypes. Ce constat renforce l'hypothèse selon laquelle les différences de comportement des variétés vis-à-vis de la colonisation par *A. flavus* sont probablement d'origine génétique.

En définitive, la bonne corrélation entre les taux de contamination obtenus au moyen du test du mutant et ceux relevés au moyen du test de contamination naturelle des graines non stérilisées ($r = 0,71$) atteste de l'intérêt que pourrait représenter la souche mutante dans le processus de caractérisation **ex-ante** du comportement variétal au champ. Toutefois il faut relever que l'évaluation du degré d'extension de la couleur orange caractéristique de la **présence** d'acide norsolorinique dans les graines est une technique qualitative dont les **performances** pourraient être améliorées par la mise au point de techniques quantitatives et fiables de détermination de ce composé.

L'obtention d'une variété tolérante à *A. flavus* ne présente un intérêt pour le développeur et l'utilisateur que lorsque ses performances agronomiques et ses caractéristiques technologiques sont conformes aux "desiderata" des consommateurs et aux normes du marché. A cet égard, les variétés identifiées comme étant tolérantes ont des rendements en gousses et des poids de 100 g moyennement bons et parmi elles, 73-33 présente les meilleures performances pour ces caractères.

Les teneurs en huile et en aflatoxine des variétés apparaissent également comme des caractéristiques technologiques essentielles pour l'utilisation en huilerie ainsi que pour la consommation humaine.

Les variétés riches en huile sont destinées de préférence à l'huilerie ; l'industrie d'arachide bouche privilégiant celles dotées d'une teneur en huile faible à moyenne. En revanche, la présence d'aflatoxines constitue un réel handicap même si l'huilerie sénégalaise dispose d'une installation de détoxification des tourteaux d'arachides ; le coût du traitement étant non négligeable.

Parmi les variétés tolérantes identifiées dans cette étude, 73-33 présente la plus forte teneur en huile d'où son utilisation massive à cette fin au Sénégal.

Les teneurs en aflatoxines des variétés sont relativement faibles ; elles traduisent, en partie le bon respect des normes de production visant la prévention de la contamination au champ. Ces résultats indiquent qu'il est effectivement possible d'envisager la relance de la culture de l'arachide pour l'exportation dès lors que les taux de contamination observés sont parfois même inférieurs aux normes édictées par le marché international.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude a permis de contribuer à la mise au point d'une méthode originale de caractérisation des géotypes d'arachides vis à vis de la contamination par *A. flavus*, champignon générateur d'aflatoxines. Elle prolonge et enrichit les études antérieures dans ce domaine. L'utilisation combinée de cette méthode avec celle, plus classique, mettant en œuvre la souche banale d'*A. flavus* permet de se faire une idée plus nette de la sensibilité ou de la tolérance du matériel végétal mis en test.

Elle ouvre de réelles perspectives dans l'effort d'identification de variétés tolérantes à *A. flavus*, composante essentielle de la stratégie de la prévention contre la pollution des produits arachidières. Son utilisation exclusive pour le criblage des variétés singulièrement dans le domaine de la sélection variétale où le matériel végétal n'est généralement disponible qu'en faible quantité est envisageable moyennant quelques études complémentaires. Celles-ci devront notamment viser à substituer la méthode visuelle d'estimation de l'extension de la couleur orange caractéristique de l'acide norsolorinique par une technique quantitative et précise, basée sur l'extraction et le dosage de l'acide norsolorinique. Elles devront également déterminer la dynamique de synthèse de l'acide norsolorinique en fonction de l'âge du matériel végétal mis en test car il semble y avoir une variabilité liée à ce paramètre.

Aux fins d'une caractérisation plus complète des variétés vis-à-vis de la colonisation par *A. flavus* et de la production d'aflatoxine, il apparaît essentiel, à partir d'un matériel végétal homogène, d'envisager une étude mettant en œuvre d'une part, le test de contamination artificielle par une souche banale aflatoxinogène et la détermination de la quantité d'aflatoxines produites et, d'autre part, le test de contamination artificielle par une souche mutante et la détermination de la quantité d'acide norsolorinique synthétisée. Le rapprochement entre ces 2 tests permettrait ainsi d'établir une relation directe entre ces 2 composés et de mieux renseigner sur leur degré d'interchangeabilité.

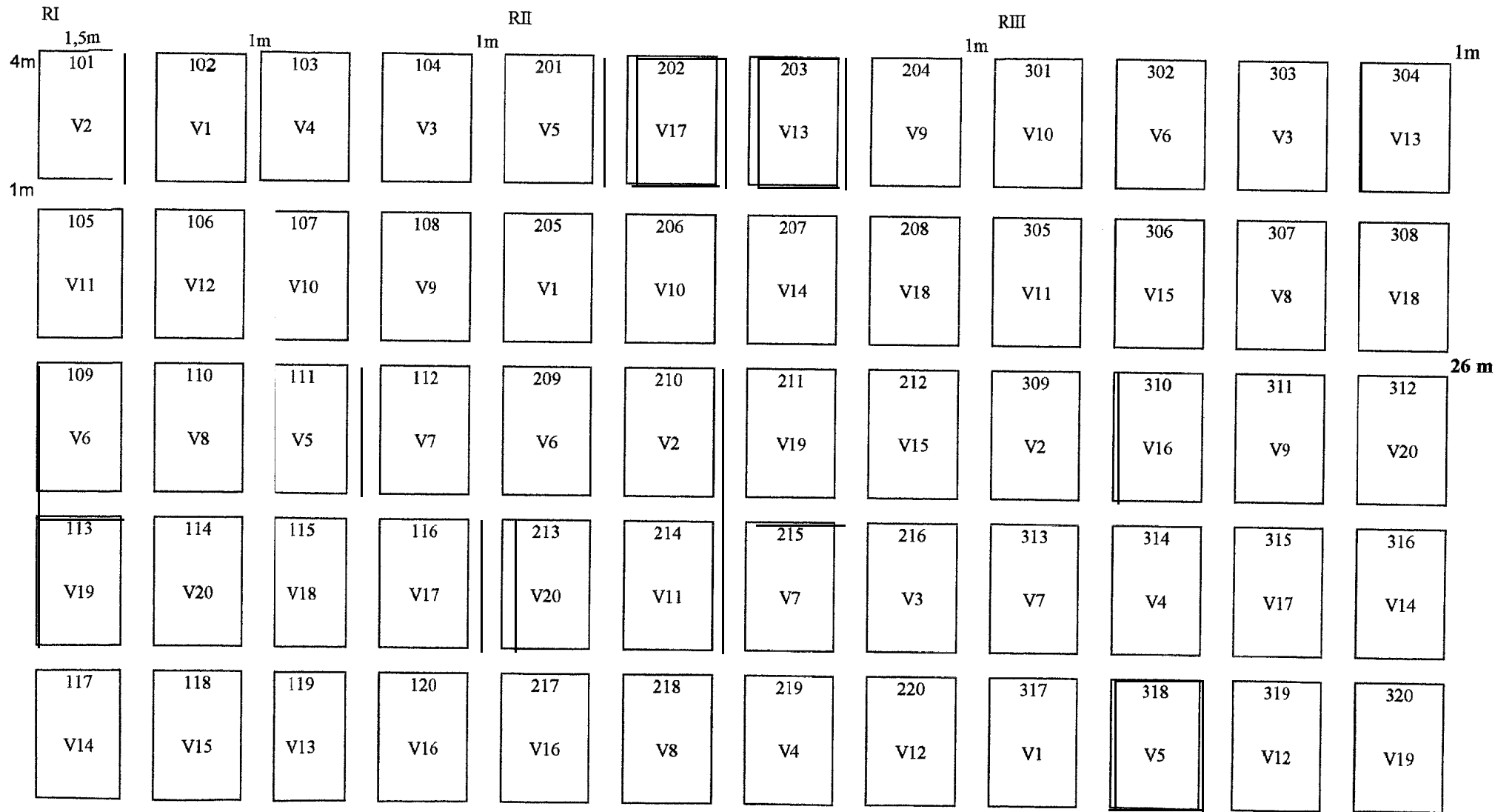
Les résultats obtenus de ces études devront ensuite être mis en rapport avec les données obtenues en milieu réel pour tenir compte des interactions génotype x environnement.

En définitive, l'amélioration de la technique d'utilisation de la souche mutante pourrait fournir un outil d'évaluation précieux aux sélectionneurs désireux d'analyser, dans un délai

relativement court et à moindre coût, les niveaux de tolérance des descendance de croisements vis-à-vis de la contamination par *A. flavus*.

Il reste à espérer que les résultats obtenus dans cette étude pourront aider à orienter les travaux futurs dans l'effort de recherche de variétés résistantes à *A. flavus*.

Annexe 1 : Plan de l'essai



Annexe 2 : Milieux de culture

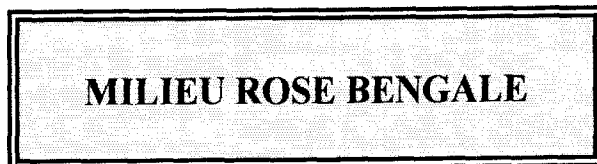


Annexe 2a

200 g Pomme de terre
1.5 g Dextrose (D. Glucose)
200 g Agar.

Dissoudre dans de l'eau distillée et porter le volume final à 1 l.

Stériliser à l'autoclave pendant 20 à 30 mn.



Annexe 2b

Préparer une solution de sulfate de streptomycine à la concentration de 1 % (P/V) dans de l'eau distillée stérile.

Peser successivement :

0,5 g de $Mg SO_4 \cdot 7 H_2O$

0,5 g de peptone

0,5 g Yeast extract

0,5 g KH_2PO_4

0,5 g K_2HPO_4

0,02 g rose bengale

10,0 g Dextrose (D-glucose)

17,0 g Agar

Dissoudre l'ensemble de ces composants dans de l'eau distillée porter le volume final à 1 l.

Stériliser à l'autoclave pendant 20 à 30 mn.

NB : La solution de streptomycine est ajoutée à raison de 3 ml/litre de milieu après autoclavage.

Annexe 3 : Détermination du niveau d'infestation d'un sol par *A. flavus*

Détermination du niveau d'infestation d'un sol par *Aspergillus flavus*

- Préparer un échantillon de 10 g de sol finement moulu et préalablement tamisé (ϕ des mailles)
- Introduire l'échantillon dans un tube à essai contenant 25 ml d'une solution d'eau distillée et de Tween 80 à 0,05 % V/V (0,5 ml de Tween dans 1 litre d'eau distillée).
- Homogénéiser la suspension ainsi obtenue (suspension-mère) par agitation au moyen d'un agitateur Vortex.
- Porter le volume de la suspension à 50 ml par ajout de la même solution.
- Homogénéiser à nouveau la suspension par agitation, prélever 5 ml (de la suspension-mère) et les transférer dans un deuxième tube à essai contenant 25 ml de solution eau-Tween. Compléter le volume à 50 ml à l'aide de la même solution. (Dilution $1/10^e$).
- Procéder de la même manière pour la préparation des dilutions $1/100^e$ et $1/1\ 000^e$.
- Prélever, à partir de chaque tube, après homogénéisation du mélange, 1 ml de suspension et l'introduire dans une boîte de Pétri contenant le milieu Agar-Rose bengale. Ce transfert doit se faire à côté d'un bec bunsen ou sous hotte en vue d'éviter la contamination du milieu par les spores aériennes. Après fermeture de la boîte, remuer doucement celle-ci par un léger mouvement giratoire pour obtenir un étalement uniforme de la suspension dans la boîte.
- Après une semaine d'incubation, dénombrer les colonies de *A. flavus* dans chaque boîte.
- Le calcul du nombre de colonies $d'A$, *flavus* par gramme de sol s'effectue ainsi qu'il suit pour chaque dilution.

▪ Suspension-mère :

$$\text{Nombre de colonies par gramme de sol} = \frac{A \cdot 10^1}{2}$$

- **Dilution 1/10^e**

$$\text{Nombre de colonies par gramme de sol} = \frac{X \cdot 10^2}{2}$$

- **Dilution 1/100^e**

$$\text{Nombre de colonies par gramme de sol} = \frac{Y \cdot 10^3}{2}$$

- **Dilution 1/1000^e**

$$\text{Nombre de colonies par gramme de sol} = \frac{Z \cdot 10^4}{2}$$

$$\text{Nombre de spores par gramme de sol} = \frac{A \cdot 10^1 + X \cdot 10^2 + Y \cdot 10^3 + Z \cdot 10^4}{2}$$

A, X, Y, Z représentent le nombre de colonies d'*A. flavus* dénombrées pour les dilutions correspondantes.

Annexe 4 : Humidité des graines à la récolte des plants

JAR	HUMIDITÉ %
i5-437	34,4
CGV 87084	38
CGV 87110	35,7
:CGV 87779	38,8
CGV 878 15	34
CGV 87821	38,1
CGV 87836	38,8
CGV 87845	45,1
CGV 88262	37,7
CGV 88274	32,4
CGV 89063	33,4
CGV89065	43,7
CGV 89112	42,2
CGV 89283	43,3
J11	41,6
GH 119-20	31,3
Fleur 11	35,2
GC 8 - 35	32,9
73 - 33	29,9
Moyenne	35,32

BIBLIOGRAPHIE

- Annerose D. J. M., (1990) : Recherche sur les mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse. Application au cas de l'arachide (*Arachis hypogea*) cultivée au Sénégal. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Université Paris VII, p 11.,
- Anonyme., (1979) : Environmental Health Criteria 11 : Mycotoxins. OMS, Genève., 127 p.
- Ba A., (1983) : Les sous-produits du traitement industriel de l'arachide : utilisations actuelles et perspectives de valorisation. Rapport de stage de titularisation à l'ISRA. pp 40-49.
- Ba A., Galzy P., Graille J., Pina M. et Frater C., (1982) : Détoxification des tourteaux d'arachide contaminés par l'aflatoxine. Revue Française des Corps Gras. **4.**, pp 177-179.
- Ba A. (1986) : Rapport de Synthèse. Service de technologie de l'arachide – section aflatoxine. ISRA – Secteur Centre Sud., 7p.
- Ba A., (1990) : la problématique de l'Aflatoxine au Sénégal. *Arachide-Infos*, **3.**, pp 8-11.
- Bennett J.W. (1979) : Aflatoxins and Anthraquinones from diploids of *Aspergillus parasiticus*. *Journal of General Microbiology*, **113.**, pp 127-136.
- Blount W. P., (1961) : Turkzy "X" Disease and the Labelling of Poultry Foods. In : The Groundnut Aflatoxin Problem. Mehan V. K., McDonald D., Haravu L.J., and Jayanthi S. (eds), ICRISAT (1991)., p 14.
- Bockelee-Movan A., (1988). Recherche agronomique sur l'arachide en Afrique. Défense des cultures et technologie. In : Légumineuses à graines. Communication présentée au séminaire organisé par la FIS, Madagascar , 22-27 février 1988. Demarly Y. (ed)., pp 65-76.
- Cattan P., (1996) : Contribution à la connaissance du fonctionnement d'un peuplement d'arachide (*Arachis hypogea* L.) : proposition d'un schéma d'élaboration du rendement. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon (France)., p11
- Clavel D., (1998) : Amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse de l'arachide. Quatrième rapport scientifique (période de mai 1997-Avril 1998). ISRA-CNRA Bambe., pp 54-57.
- Clavel D. et Ba A., (1998) : Effet de la sécheresse sur la contamination par *A. flavus* et le ratio O/L des graines d'arachides. Communication présentée au 6^e Atelier Régional sur l'Arachide., Bamako-05-06 octobre 1998., ISRA-CNRA-Bambe., 21 p
- Clifford J. I. and Rees K. R., (1967) : The Action of Aflatoxin B₁ on the Rat Liver. In The Groundnut Aflatoxin Problem., Mehan V. K., McDonald D, Haravu L.J. ed, and Jayanthi S. (eds), ICRISAT (1991)., p 43.

- Codifer L. P. Jr, Mann G. E. and Dollear F. G., (1976) : Aflatoxin Inactivation : Treatment of Peanut Meal With Formoldehyde and Calcium Hydroxide. *In* The Groundnut Aflatoxin Problem., Mehan V. K., McDonald D., Haravu L.J., and Jayanthi S. (eds), ICRISAT (1991), p 345.
- Diener U. L. and Davis N.D. (1986). Biology of *A. flavus* and *A. parasiticus*. *In* : Aflatoxin in Maize., A proceedings of the workshop, El Batan (Mexico), pp 33-50.
- Dimanche P., Schilling R. , Sy O., Lancon F., (1998) : Etude du développement de la filière arachide de bouche au Sénégal, Volume 1/2 (CIRAD), pp 22-26.
- Dimanche P., (1998) : L'aflatoxine de l'arachide : Evolution récente et tendance de la réglementation européenne. Les conséquences pour la production africaine. Communication présentée au 6^e Atelier Régional sur l'Arachide. Bamako-05-08-octobre 1998., 7 p.
- Frank Z. R., (1994) : Preharvest Kernel Invasion in Groundnut Genotype by *A. flavus* and its Relation to the Pod Surface Area. *Euphytica* 75., pp 207-213.
- Frayssinet C., (1982) : Classement et caractéristiques chimiques de toxines fongiques susceptibles d'être produites dans les graines. *In* : Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés. Multon J.L. (ed), Tome II, pp 3 19-321.
- Freud C., Freud E. H., Richard J., Thevenin P., (1997) : La crise de l'arachide au Sénégal : un bilan-diagnostic (CIRAD), pp 1-4.
- Gaye M., (1997) : Le phénomène du marché informel de l'arachide : le cas du Sénégal. *Arachide-Infos* 7., pp 2-8.
- Gillier P. et Silvestre P., (1969) : L'arachide., Collection : Techniques agricoles et productions tropicales., pp 16-22.
- Golblatt L. A., (1977) : Mycotoxins – Past, Present and Future. J.A.O.C.S., 54., pp. 302-308
- Harold E. Pattee and H. Thomas Stalker (1995). *Advances in Peanut Science.*, pp 2-10.
- Kane A., (1995) : L'aflatoxine dans l'huile d'arachide non raffinée : possibilité d'élimination. *Arachide-Infos*, 8., pp 18-20.
- Khalfaoui J. L. B. (1988) : Approche de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées en zones semi-arides. Application au cas de l'arachide (*Arachis hypogea* L.) destinée à la région sèche du Sénégal. Thèse de Doctorat, Université Paris-Sud., pp 67-68.
- Lafont P. et Lafont J., (1982) : Risque de mycotoxicose chez l'homme et l'animal. *In* : Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés. Multon J.L. (ed). Tome II., pp 948-963.
- Lopez Y., (1994). A comparison of tampion 90 peanut component lines for aflatoxin production. Master of science, Texas A&M University., 72 p

- Mann G.E., Codifer L. P. Jr and Dollear F. G. (1967) : The Effect of Heat for Decreasead Toxicity. In : The Groundnut Aflatoxin Problem., Mehan V. K., McDonald D., Haravu L.J. and Jayanthi S.(eds), ICRISAT (1991)., p 364.
- Mehan V. K., Mac Donald D. et Lalitha B., (1983) : Effect of Season Location and Field Drying Treatment in vitro Seed Colonization of Groundnut Genotypes by *Aspergillus flavus*., *Oleagineux* **38**., pp 553-558.
- Mehan V. K., Ba A., Renard J. L. (1989) : Evaluation of Groundnut Genotypes for field Resistance to Seed Infection by *Aspergillus flavus* and to Aflatoxin Contamination : report of work done during May 1988 - April 1989. Paris, France : Institut de Recherche pour les Huiles et Oléagineux., 40 p
- Miiddleton K. J., Pande B., Sharma S.B. and Smith D. H., (1994). Diseases. In : The Groundnut Crop. pp 337-394.,
- Mixon A.C. and Rogers K. M., (1973) : Peanuts Resistant to seed Invasion by *Aspergillus flavus*. *Oleaginaux*, **28**., pp 83-84p
- Mixon A. C., (1980) : Comparaison of Pod and Seed Screening methods on A. ssp infection of peanut genotype. *Peanut Science* , **7** : 1-3.
- Mixon A.C., (1980) : Potential for Aflatoxin Contamination in Peanuts (*Arachis hypogea L.*) before and soon after harvest - A Review., *Journal of environment quality*., **9**., pp 344-349.
- Pettit R.E., (1990) : Yellow Mold and Aflatoxin. In : Compendium of Peanut Diseases., Porter M.D., Smith D.H. and Rodriguez-Kabana R. (eds)., pp 35-36.
- Pettit R. E., Ba A., Kane A. et Sarr B. (1994) : Moisissures de l'arachide et contamination par l'aflatoxine. Texas A&M University., 9 p.
- Pier A. C., (1986) : Aflatoxicosis and Immunosuppression in Mensuration Animals. In : Aflatoxin in Maize. A proceedings of the workshop, El Batan (Mexico)., pp 58-63.
- Pohland A. E. and Wood G. E., (1987) : Occurrence of mycotoxins. In : Mycotoxins in food.,pp 37-49
- Porter D. M., Wright F. S., Steel J. L. (1986) : Rapport entre les détériorations microscopiques de la coque et la colonisation des graines d'arachides par *A. flavus*. *Oléagineux*. **41**., pp 23-30.
- Ramanatha Rao V. and Murty U.R, (1994) : Botany-morphology and Anatomy. In : The groundnut Crop., pp 43-89.
- Richard-Moland D., (1982). Caractères généraux de la microflore des grains et graines et principales altérations qui en résultent. In : Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés. Multon J.L. (ed). Tome I, pp 254-290.
- Rouzière A., Sarr E. et Ba A., (1997) : Extraction artisanale d'huile d'arachide au Sénégal : visite d'un atelier de fabrication, *Arachide-Infos* **7**., pp 2-8.

- Sargeant K., Sheridan A., O. Kelly J, and Carnaghan R. B. A., (1961). Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts. In : The Groundnut Aflatoxin Problem. Mehan V. K., McDonald D., Haravu L.J., and Jayanthi S.(eds), ICRISAT (1991).p 3,387 p.
- Schilling Robert (1996) : L'arachide en Afrique tropicale., Collection : Le Technicien d'Agriculture Tropicale., p 32.
- Strong R. N. et Subba Rao P. V. (1994) : La production de phytoalexines chez l'arachide et son rôle dans la résistance aux maladies. *Oléagineux*, **49**., pp 227 - 233.
- Subrahmanyam P., Wonkaew S., Reddy D.V.R., Desnoki J.W., Mc Donald D., Sharma S.B. et Smith D. U., (1992) : Diagnostic au champ des maladies de l'arachide. Bulletin d'information de l'ICRISAT., **36**., p32.
- Viroben G. (1982) : la détoxification des stocks destinés à l'alimentation animale. In : Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés., Technique et Documentation (Lavoisier). Tome II, pp 842-853.
- Waliyar F., Ba A., Hassan H., Bonkougou S. and Bosc J. P., (1994) : Sources of **Resistance** to *Aspergillus flavus* and Aflatoxin Contamination in G-roundnut Genotypes in West Africa. Plant Disease., **78**., pp 704-708
- Zucherman A. J., Rees K. R., Inman D. and Petts V., (1967) : Site of Action of Aflatoxin on Human Liver Cells in Culture. In : the Groundnut Aflatoxin Problem Mehan V. K., McDonald D., Haravu L.J. and Jayanthi S.(eds), ICRISAT (1991)., p 56.