



BCCM™

BCCM™ MUCL



Caractérisation des espèces de champignons et de mycotoxines contaminant des ensilages en Belgique



Projet de recherche C3/00/22 financé par la politique scientifique fédérale dans le cadre du programme scientifique « Action de stimulation de l'utilisation et de la collaboration avec les Collections Coordonnées Belges de Microorganismes (BCCM) »



La conservation des fourrages par les techniques d'ensilage est une pratique courante pour l'alimentation hivernale des animaux de ferme en Belgique. Cette méthode de stockage s'applique aussi bien au maïs qu'aux graminées fourragères, qu'éventuellement aux sous-produits de l'industrie agro-alimentaire comme la pulpe de betterave et les drèches de brasserie. Si les conditions idéales d'anaérobiose et d'acidité des ensilages permettent de conserver avec succès les fourrages, le développement de moisissures dans les ensilages est toutefois observé de manière récurrente. Ce développement dépend de nombreux facteurs (contamination par des fragments de sol, taux de sucre insuffisant, tassement insuffisant, etc.) et doit faire l'objet d'une attention toute particulière. En effet, bien que toutes les moisissures se développant dans les ensilages ne soient pas toxiques pour les ruminants, certaines d'entre elles produisent des mycotoxines qui pourront avoir des conséquences néfastes sur la santé de l'animal. En plus d'une diminution de la valeur nutritive et de l'appétence des aliments, les mycotoxines peuvent ainsi entraîner des troubles physiologiques majeurs (hémorragies, diarrhées, dermatoses,...) et/ou une diminution des performances zootechniques (diminution de la production de lait et/ou de viande, troubles de la reproduction) . Ces effets biologiques des mycotoxines dépendent des doses ingérées et de la durée d'exposition de l'animal aux mycotoxines mais aussi de l'état sanitaire de l'animal et du nombre de toxines présentes. A ce risque s'ajoute celui de la transmission de résidus toxiques par les produits animaux contaminés destinés à la consommation humaine lorsque les animaux reçoivent des aliments contaminés.

Le projet de recherche mené conjointement par la Mycothèque de l'Université catholique de Louvain, le CERVA (Centre d'Etude et de Recherche Vétérinaire et agronomique), le CIPF (Centre Indépendant de Promotion Fourragères), la Hogeschool Gent, et l'Université d'Anvers, vise à étudier la diversité des souches fongiques et des mycotoxines rencontrées dans les ensilages.

Moisissures présentes dans les ensilages

Une vaste campagne d'échantillonnage est menée depuis le 1^{er} novembre 2005 dans plusieurs exploitations agricoles belges pratiquant différents systèmes de culture et de production d'ensilage. Plus de 430 échantillons ont été prélevés en 2006 dans des ensilages d'herbe, de maïs et de pulpe de betterave et ont été soumis à différentes analyses afin d'isoler et d'identifier les moisissures. Les premiers résultats mettent en évidence la présence de plusieurs espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Monascus* et *Byssochlamys* aussi bien dans les parties moisies que d'apparence saine des ensilages. Ces moisissures apparaissent sous diverses formes dans les ensilages et peuvent présenter des risques de toxicité en raison de la production de mycotoxines (tableau 1).

Tableau 1 : Liste préliminaire des principales moisissures isolées dans les ensilages d’herbe et de maïs en 2006 et description des risques de toxicité associés.

<i>Espèces</i>	<i>Apparence</i>	<i>Conséquences</i>
<i>Aspergillus</i> spp	Vert foncé ou noir (<i>A. niger</i>) d’aspect diffus (poussière)	Espèces tolérantes à l’anaérobiose (peuvent se développer en absence d’air). Ne modifient pas l’appétence et présentent des risques de toxicité par sécrétions de plusieurs mycotoxines (aflatoxine, fumitoxine, ochratoxine, patuline...) dont certaines, à fortes doses, peuvent entraîner des troubles nerveux, des avortements et des troubles respiratoires chez le bétail (aspergillose pulmonaire)
<i>Byssoschlamys nivea</i>	Feutrage blanc assez dense (ne verdit pas lorsqu’on le met à l’air)	Présentent des risques de toxicité par sécrétions de patuline (dysfonctionnement de la flore du rumen, météorisation)
<i>Fusarium</i> spp.	Blanc puis rose, aspect cotonneux	Se développent sur les maïs récoltés tardivement et dans les silos mal tassés. Diminuent l’appétence et risque de toxicité par sécrétion de zéarélanone (activité oestrogénique) et de trichothécènes (diarrhées, hémorragies intestinales, dermatoses). Présence peu probable dans les pulpes de betteraves
<i>Monascus</i> spp.	Blanc puis rouge au moment de la sporulation	Pas de toxicité. Effet stimulant sur l’appétence
<i>Mucor</i> spp.	Blanc puis ponctué de points noirs	Entraînent de l’inappétence sans risque de toxicité
<i>Penicillium</i> spp. (<i>P.roqueforti</i> , <i>P. carneum</i> , <i>P. paneum</i>)	Poussière bleu vert foncé	Largement rencontrées dans les ensilages échantillonnés en 2006. Risque de toxicité par la production notamment de patuline, de roquefortine et de toxine PR associées, à fortes doses, à des troubles nerveux et parfois des avortements
<i>Trichoderma</i> spp.	Moisissure jaune vert ou blanche	Risque de toxicité par la production de gliotoxine (immunosuppresseur) et d’isocyanide

La contamination des produits par les mycotoxines se réalise lorsqu’un ensemble de conditions environnementales au champ, ainsi que de techniques incorrectes de récolte et de stockage sont réunies. La présence éventuelle de mycotoxines dans les ensilages et les milieux de culture des moisissures est actuellement en cours d’évaluation. Les parties moisies, mais également les parties apparemment saines des ensilages font l’objet de l’analyse. Il semble en effet que les mycotoxines puissent être produites et diffuser dans l’ensilage à partir des zones moisies. Les mycotoxines semblent également pouvoir être produites au champ et persister dans le fourrage, même après disparition des moisissures. Mettre de côté les parties d’ensilage moisies avant leur distribution aux animaux ne permettrait par conséquent pas de se prémunir de toute présence de mycotoxines.

Evaluation des risques associés à la contamination des ensilages par les mycotoxines

De manière à évaluer les risques de toxicité des ensilages liés à la présence des mycotoxines, des essais ont été mis au point sur des cellules de foie humain et des souches bactériennes transformées. Les premiers résultats mettent en évidence des effets biologiques significatifs de l'aflatoxine B1, de l'ochratoxine A, de la citrinine ainsi que de la fumonisine sur les bactéries (altération de l'ADN, dommages protéiques, stress oxydatif etc.).

En complément à ces tests de toxicité, une enquête diagnostique est réalisée auprès des agriculteurs sur les symptômes éventuellement développés par les animaux nourris avec les ensilages échantillonnés (maladies, problèmes de fertilité, réactions allergiques, etc.). Ceci devrait permettre d'établir des corrélations avec la présence de champignons, de mycotoxines et /ou de toxicité.

Effet d'additifs sur la qualité des ensilages de maïs

L'effet de plusieurs additifs sur la qualité des ensilages de maïs au niveau des contaminations fongiques et de production de mycotoxines est évalué au moyen d'une expérience pratique en mini-silos. Cette expérience vise à reproduire à l'échelle miniature les phénomènes de développement de moisissures se produisant dans les silos. Près de 150 mini-silos ont été infectés artificiellement par trois souches de *Penicillium* ubiquistes des ensilages (*P. roqueforti*, *P. carneum* et *P. paneum*). Plusieurs types de produits conservants, à base d'acide propionique, de microorganismes ou d'association de microorganismes et d'enzymes ont été ajoutés au moment de la mise en silo (tableau 2). En tant qu'inhibiteurs de moisissures (l'acide propionique possède des propriétés antimicrobiennes) ou de stimulateurs de la fermentation (les enzymes dégradent les sucres complexes des fourrages en sucres simples utilisables pour la fermentation et les microorganismes convertissent les sucres solubles en acide lactique), ces additifs sont connus pour améliorer la conservation des ensilages. Ceci sera vérifié lors de l'ouverture des mini-silos dès le début de l'année 2007.

Tableau 2 : Additifs utilisés lors des expériences pratiques en mini-silos

Additifs	Composition
Still_All Fireguard	Microorganismes (<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i>); Enzymes (cellulase, hémicellulase, pentosanase) ; Sorbate de potassium ; Benzoate de sodium
11A444	Microorganismes (<i>Lactobacillus buchneri</i>) ; Maltodextrine ; Aluminosilicate de sodium ; Colorant
Nuprosil	Acide propionique (99%)

Retombées pratiques du projet de recherche

Ce projet de recherche devrait aboutir à la mise en place d'une base de données en ligne sur les moisissures et les mycotoxines des ensilages, servant de support aux agriculteurs pour la gestion des problèmes de contamination des ensilages en détaillant les risques de production et la toxicité des mycotoxines.

Annexes



Figure 1 : Moisissure bleu vert de type *Penicillium* sp. dans un ensilage de maïs



Figure 2 : Moisissure rouge vif de type *Monascus* sp. ou *Fusarium* sp. dans un ensilage de maïs