

Conditions de production de la gliotoxine par *Aspergillus fumigatus*, contaminant majeur des fourrages conservés

Effects of abiotic factors on gliotoxin production by *Aspergillus fumigatus*, a major contaminant of conserved forages

H. BOUDRA, D. MORGAVI, D. GRAVIOU, B. MICHALET-DOREAU.
INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores. Equipe Digestion Microbienne. 63122 Saint-Genès-Champanelle

INTRODUCTION

Aspergillus fumigatus est un contaminant majeur des fourrages conservés (Cole et Kisksey, 1977 ; Smith et Lynch, 1972), et souvent associé à l'échauffement des balles de foin. En milieu de culture, *A. fumigatus* peut produire plusieurs mycotoxines dont la gliotoxine. Celle-ci est douée de propriétés antibiotique et immunosuppressive, et peut jouer par conséquent un rôle dans l'apparition de maladies opportunistes chez les ruminants. Cependant, un seul travail rapporte la présence de gliotoxine dans le foin (Gareis et Wernery, 1994). A l'heure actuelle, on ignore l'importance de la contamination des fourrages conservés par la gliotoxine. L'objectif de ce travail est d'évaluer les conditions de production de cette toxine par *A. fumigatus* en milieu liquide et sur des substrats naturels.

1. METHODES

1.1. TOXINOGENESE EN MILIEU LIQUIDE

1.1.1. Screening

Quinze souches d' *A. fumigatus* ont été étudiées sur 2 milieux de culture : Yeast Extract Sucrose (YES) et Minimum Eagle Medium (MEM) additionné de 5% de sérum foetal de bovin et de saccharose à 30 g.L⁻¹ (MEM-Gl).

1.1.2. Optimisation de la toxinogénèse

Afin d'optimiser la production de gliotoxine, différents traitements du milieu MEM-Gl ont été testés (Tableau 1).

1.2. TOXINOGENESE SUR ALIMENTS

Cinq fourrages (dactyle, fétuque, luzerne, ray-grass italien et trèfle) et 4 céréales (blé, orge, maïs, et triticales) ont été humidifiés à 30%, stérilisés par autoclavage, puis inoculés avec une souche toxigène (*Afu* 09). L'incubation a été effectuée à 37°C à différents temps.

1.3. DOSAGE DE LA GLIOTOXINE

Le dosage est réalisé par HPLC avec une détection UV à 272 nm, après une extraction par le dichlorométhane.

2. RESULTATS

2.1. TOXINOGENESE EN MILIEU LIQUIDE

Aucune souche n'a produit de gliotoxine dans le YES ; en revanche 7/15 (46 %) souches d' *A. fumigatus* ont produit la gliotoxine dans le milieu MEM-Gl. L'examen de la toxino-génèse sur le milieu MEM-Gl à différentes conditions a montré une modification significative de la production de gliotoxine sans modification de la biomasse (Tableau 1). Le meilleur rendement de production est obtenu par filtration du milieu. L'acidification, simulant les conditions de conservation dans un ensilage, s'accompagne d'une diminution significative de la gliotoxine (P<0,05).

2.2. TOXINOGENESE SUR SUBSTRATS SOLIDES

A. fumigatus se développe très rapidement sur les céréales et les recouvre entièrement après 2-3 jours d'incubation. En revanche, son développement est plus long sur les fourrages (2 à 3 semaines), et nul sur la luzerne. A l'exception du maïs, toutes les céréales sont favorables à la production de la gliotoxine. Parmi les fourrages, seuls le dactyle et le ray-grass peuvent constituer un risque de contamination mycotoxique (tableau 2).

Tableau 1
Optimisation de la production en milieu liquide

Modification du milieu (MEM-Gl)	Biomasse (10 ⁶ g)	Gliotoxine (2) (mg.g ⁻¹ de biomasse)
Contrôle (1)	53,7 ± 19,5	497,0 ± 297,8
Spores (10 ³ /ml)	63,2 ± 6,4	217,4 ± 83,9
Acidification à pH 3,5	58,1 ± 5,4	45,2 ± 8,5 (*)
Agitation	62,2 ± 7,4	254,2 ± 83,9
Stérilisation par filtration	60,2 ± 7,7	588,3 ± 289,7
Non stérilisé	55,6 ± 2,1	536,0 ± 337,4

(1) Contrôle = milieu autoclavé, spores 10⁵/ml, pH=6, culture statique.

(2) (Moyenne ± sd, n=3)

* significativement différent des autres traitements au seuil P<0,05

Tableau 2
Toxinogénèse sur substrats naturels

Aliments	Croissance fongique	Gliotoxine (µg.g ⁻¹)	
		6 j	14 j
Blé	(+++)	8,9	3,9
Maïs	(+++)	nd	nd
Orge	(+++)	5,6	1,4
Triticale	(+++)	17,5	3,6
Dactyle	(+)	na	1,5
Fétuque	(+)	na	nd
Luzerne	(-)	na	nd
Ray grass	(++)	na	0,9
Trèfle	(+)	na	nd

na : non analysé ; nd : non détecté

CONCLUSION

A. fumigatus est une moisissure ubiquiste et opportuniste des fourrages conservés. Cependant, la révélation de son pouvoir toxigène nécessite des conditions nutritionnelles particulières. Malgré cela, les taux de production sont nettement en deçà de ceux obtenus, dans les mêmes conditions, par les espèces fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. De plus, la gliotoxine ne s'accumule pas dans le milieu. Au vu des résultats obtenus, la gliotoxine semble ne pas constituer un risque de contamination des fourrages conservés.

Cole, R. J., Kisksey, J. W. 1977. J. Sci. Food Agric., 25, 826-30.

Gareis, M. et Wernery, U. 1994. Mycotox Res., 10: 2-8.

Smith, D. F., Lynch, G. P. 1972. J. Dairy Sci., 56, 828-829.