

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2017

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

**Domaine** : SNV      **Filière** : Sciences Agronomiques  
**Spécialité** : Santé des plantes

**Présenté par :**

*MALLEK Houda*

*Thème*

*Contribution à l'étude de la mycoflore associée aux grains  
de blé et d'orge dans la wilaya de Bouira*

**Soutenu le** : 28 / 06 / 2017

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme BOUBEKA Nabila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. MEBDOUA Samira</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme TAFIFET Lamia</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

**Année Universitaire** : 2016/2017

# Remerciements

*Je remercie tout d'abord Allah pour m'avoir donné la santé, la volonté, la force, le courage, Et la puissance pour pouvoir surmonter les moments difficiles, et atteindre mon objectifs Et sans lesquels mon projet n'aurait pas pu voir la lumière du jour.*

*Je remercie infiniment tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce projet, plus particulièrement :*

*Ma promotrice Mme. Mebdoua Samira de m'avoir orientée Significativement tout au long de ce travail. Je tiens à remercier aussi les membres de jury d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce mémoire.*

*Mes profonds remerciement à mes parents de m'avoir soutenu moralement et financièrement durant ces longues années.*

*Je n'oublie pas à exprimer chaleureusement mes remerciements à mon mari Mr. Louaradi reda pour son soutien moral, son aide particulière et sa compréhension durant les moments difficiles tout au long de la réalisation de ce travail*

*Merci aussi à mes professeurs à qui  
J'exprime tout mon respect  
Et profonde gratitude*

# *Dédicaces*

*J'ai le grand plaisir de dédier  
Ce modeste travail à tous ceux qui me sont  
chers :*

*Mes adorables parents qui m'ont comblé de  
leurs amours, et de leurs encouragements  
durant toutes ces longues années d'étude.*

*Ma sœur Abla.*

*Mes frères :*

*Riad, Amazigh, Jugurta et Rayane.*

*Mon mari Reda et sa famille*

*Mes amies Aïcha, Nadia*

*et khaoula*

## Abréviations

<b>Abréviations</b>	<b>Signification</b>
<b>%</b>	Pourcent
<b>°C</b>	Degrés Celsius
<b>CCLS</b>	Coopérative des Céréales et Légumes Secs
<b>DCPA</b>	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
<b>g</b>	gramme
<b>Ha</b>	Hectare
<b>L</b>	Litre
<b>mg</b>	milligramme
<b>ml</b>	millilitre
<b>mm</b>	millimètre
<b>PDA</b>	Milieu de potato dextrose agar
<b>PMG</b>	Poids de Mille Grains
<b>Qx</b>	Quintaux
<b>SNA</b>	Spezieller Nährstoffarmer Agar

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau n° 01</b>	Production et consommation de blé dans le monde durant les 5 dernières années en millions de tonne	7
<b>Tableau n° 02</b>	Production et consommation d'orge dans le monde durant les 5 dernières années en millions de tonne	8
<b>Tableau n° 03</b>	Méthodes de lutte contre la contamination	16
<b>Tableau n°04</b>	Provenance des grains de blé dur et date de récolte	20
<b>Tableau n° 05</b>	Provenance des grains de blé tendre et date de récolte	20
<b>Tableau n° 06</b>	Provenance des grains d'orge et date de récolte	21
<b>Tableau n° 07</b>	Matériels utilisé au laboratoire	25
<b>Tableau n° 08</b>	Taux de germination de trois types de céréales dans les deux milieux d'isolement	40

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure n° 01</b>	Coupe schématique d'un grain de blé	4
<b>Figure n° 02</b>	Un grain d'orge	6
<b>Figure n° 03</b>	La production nationale de blé dure, blé tendre et orge	9
<b>Figure n° 04</b>	Les superficies emblavées et récoltées de blé dur (a), blé tendre (b) et orge (c) pour la campagne 2013/2014 et 2014/2015	10
<b>Figure n° 05</b>	Production des céréales (blés, orge) à Bouira entre 2009 et 2015	11
<b>Figure n° 06</b>	Les trois (3) types de céréales fournis par CCLS	18
<b>Figure n° 07</b>	Répartition des échantillons de grains utilisés pour l'étude	19
<b>Figure n° 08</b>	Homogénéisation des composants de milieu sur un agitateur plaque chauffante	22
<b>Figure n° 09</b>	L'autoclavage des milieux de culture	23
<b>Figure n° 10</b>	Flacons contenant milieu de culture après autoclavage	23
<b>Figure n° 11</b>	Préparation de milieu dans des boites de petri	23
<b>Figure n° 12</b>	Stérilisation de surface des grains	27
<b>Figure n° 13</b>	Ensemencement des grains stérile sur milieu d'isolement	28
<b>Figure n° 14</b>	les boites de petri contenant des grains	28
<b>Figure n° 15</b>	Incubation des boites ensemencées dans une enceinte climatique	29
<b>Figure n° 16</b>	les étapes de la technique de scotch	30
<b>Figure n° 17</b>	Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons de blé tendre	33
<b>Figure n° 18</b>	Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons de blé dur	34
<b>Figure n° 19</b>	Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons d'orge	35

<b>Figure n° 20</b>	La croissance des colonies sur les deux milieux d'isolement après 15 jours d'incubation	37
<b>Figure n° 21</b>	La croissance des colonies sur le milieu PDA après 15 jours d'incubation	37
<b>Figure n° 22</b>	Taux des grains de blés et d'orge contaminés dans les deux milieux d'isolement	39
<b>Figure n° 23</b>	<i>Ulocladium</i> isolés sur orge	42
<b>Figure n° 24</b>	Diversité des <i>Alternaria</i> isolé sur les grains de céréales	42
<b>Figure n° 25</b>	Cléistothèque de <i>Chaetomium</i> et <i>ascospore</i>	43
<b>Figure n° 26</b>	Espèces de <i>Penicillium</i> isolées	43
<b>Figure n° 27</b>	<i>Rhizopus</i>	43
<b>Figure n° 28</b>	espèce d' <i>Aspergillus</i>	44
<b>Figure n° 29</b>	<i>Strachybotrys</i> (à gauche) <i>Helminthosporium</i> (au centre) et <i>cladosporium</i> (à droite)	44
<b>Figure n° 30</b>	<i>Stemphylium</i> à gauche et <i>Pithomyces</i> à droite	45
<b>Figure n° 31</b>	Diversité des colonies d' <i>Alternaria</i>	46
<b>Figure n° 32</b>	Pourcentage de contamination relatif des trois céréales dans le milieu à base de Carbendazim	47
<b>Figure n° 33</b>	Pourcentage de contamination relatif des trois céréales dans le milieu à base d'Iprodione	47
<b>Figure n° 34</b>	Nombre d'échantillons contaminés par chaque genre fongique	49

# Table des matières

Introduction générale .....	1
-----------------------------	---

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur les céréales

I.1. Description agro-morphologique du blé.....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Structure du grain de blé.....	3
I.1.3. Composition biochimique du grain.....	4
I.1.4. Description générale de la plante.....	4
I.2. Description agro-morphologique de l'orge.....	5
I.2.1. Définition.....	5
I. 2.2. Structure du grain.....	5
I.2.3. Groupes de l'orge.....	6
I.3. L'importance à l'échelle mondiale.....	7
I.3.1. Le blé.....	7
I.3.2. L'orge.....	8
I. 4. L'importance à l'échelle nationale.....	9
I.5. Culture et production en Algérie.....	9
I.6. Cultures et production à Bouira.....	10

### Chapitre II : Les moisissures pathogènes du blé et d'orge

II.1. Caractères généraux.....	12
II.2. La mycoflore des grains de céréale.....	12
II.2.1. Flore des champs.....	12
II.2.1.1. Le genre <i>Alternaria</i> .....	13
II.2.1.2. Le genre <i>Fusarium</i> .....	13
II. 2.2. Flore intermédiaire.....	14
II.2.3. Flore de stockage.....	14
II. 2.3.1. Le genre <i>Aspergillus</i> .....	14

II.2.3.2. Le genre <i>Penicillium</i> .....	15
II.3. Effets néfastes des altérations.....	15
II.4. Méthodes de lutte contre les moisissures.....	16
II.4.1. La lutte chimique.....	16
II.4.2. La lutte physique.....	17
II.4.3. La lutte biologique.....	17

### **Matériel et méthodes**

1. Matériel.....	18
1.1. Matériel végétale.....	18
1.2 Milieu de culture.....	21
A. Milieu d'isolement.....	21
A.1. Choix des milieux.....	21
A.2. Préparation des milieux.....	22
B. Milieu de caractérisation.....	24
B.1. PDA (Milieu de potato dextrose agar).....	24
B.2. SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar).....	24
1.3. Autres Matériel.....	24
A. Produits utilisés.....	24
B. Matériels Verrerie et consommables utilisés.....	25
2. Méthodes.....	25
2.1. Détermination de poids de mille (1000) graines.....	25
2.2. Détermination de taux d'humidité (teneur en eau).....	26
2.3 . Isolement des champignons à partir des grains de céréales.....	26
a. Stérilisation.....	26
b. Incubation des grains.....	27
c. Lecture des boîtes d'isolement.....	39
d. Observation des champignons par la technique de scotch.....	39
2.4. Caractérisation des champignons isolés.....	30
a. Repiquage sur milieu PDA et SNA.....	30
b. Incubation.....	31
c. Lecture des boîtes SNA et PDA.....	31
d. Etude des caractères cultureux macroscopiques.....	31

e. Etude des caractères morphologiques microscopiques.....	31
2.5. Expression des résultats.....	32
a. Calcule de pourcentage de germination des grains.....	32
b. Calcule de pourcentage des grains infectés.....	32
c. Calcule de pourcentage des types de champignons.....	32
d. Calcule de pourcentage de contamination relatif .....	32

### **Résultats et discussion**

1. Détermination de poids de 1000 grains et la teneur en eau .....	33
1.1. Blé tendre.....	33
1.2. Blé dur.....	34
1.3. Orge.....	35
2. Résultats d'isolement des champignons à partir des grains de céréales.....	36
2.1. Efficacité des deux milieux dans l'isolement des champignons à partir des grains .....	36
2.2. La détermination de taux de grains de céréales colonisés par les champignons.....	38
2.3. Détermination du taux de germination des grains dans les deux milieux .....	40
2.4. Identification de la mycoflore associé aux trois types de céréales .....	41
2.5. Fréquence des différents genres fongique .....	46

<b>Conclusion générale</b> .....	51
----------------------------------	----

<b>Références bibliographiques</b> .....	52
--	----

### **Annexes**

## Introduction général

Les grains de céréales constituent, depuis toujours, la principale ressource alimentaire de l'homme et de l'animal et possèdent un pouvoir nutritionnel important. Dans la plupart des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage.

Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertébrés, insectes, moisissures, acariens,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales. Les moisissures et leurs métabolites secondaires entraînent, à l'échelle mondiale, des pertes de céréales et leurs dérivées estimées de 5 à 10% (PFOHL-LESZKOWICZ, 1999).

Les moisissures représentent un groupe hétérogène de champignons microscopiques saprophytes et, parfois parasites. Constituent un agent de détérioration très important. Elles sont omniprésentes dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats. Les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales) réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés (GACEM ,2012).

La contamination fongique provoque des modifications physiques (aspect, goût, odeur) et des modifications chimiques (modification des qualités nutritives) (FILTENBORG *et al.*, 1996).

Par ailleurs, dans des conditions propices de température, humidité, pH, composition de substrat, les moisissures peuvent synthétiser des métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines.

Parmi la centaine de mycotoxines identifiées à l'heure actuelle, une trentaine sont véritablement importantes pour la santé humaine et animale à cause de leur fréquence ou de leur toxicité (BENNETT ET KLICH, 2003). Les toxines majeures sont

produites par des souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (AFSSA, 2006).

L'objectif de ce travail est d'étudier d'une part l'état de contamination fongique des grains de céréales (blés et orge) récoltés de différentes régions céréalières de Bouira et d'autre part étudier la diversité de cette mycoflore.

## Chapitre I : Généralités sur les céréales

### I.1. Description agro-morphologique du blé

#### I.1.1. Définition

Le blé est une plante annuelle herbacée, monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des graminées ou *Poaceae*. Aujourd'hui, deux espèces dominent la production mondiale, il s'agit du blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*).

La production de blé est facile car il s'adapte à des sols et des climats variés. L'existence de variétés adaptées à différents milieux et résistantes à de nombreuses maladies permet de cultiver le blé dans de nombreux pays. Il existe des blés d'hiver et des blés de printemps, leurs périodes de plantation et de récoltes dans l'année sont différentes. Plus de vingt mille variétés de blé existent et des centaines de nouvelles sont créées chaque année (ANNE-LAURE, 2007).

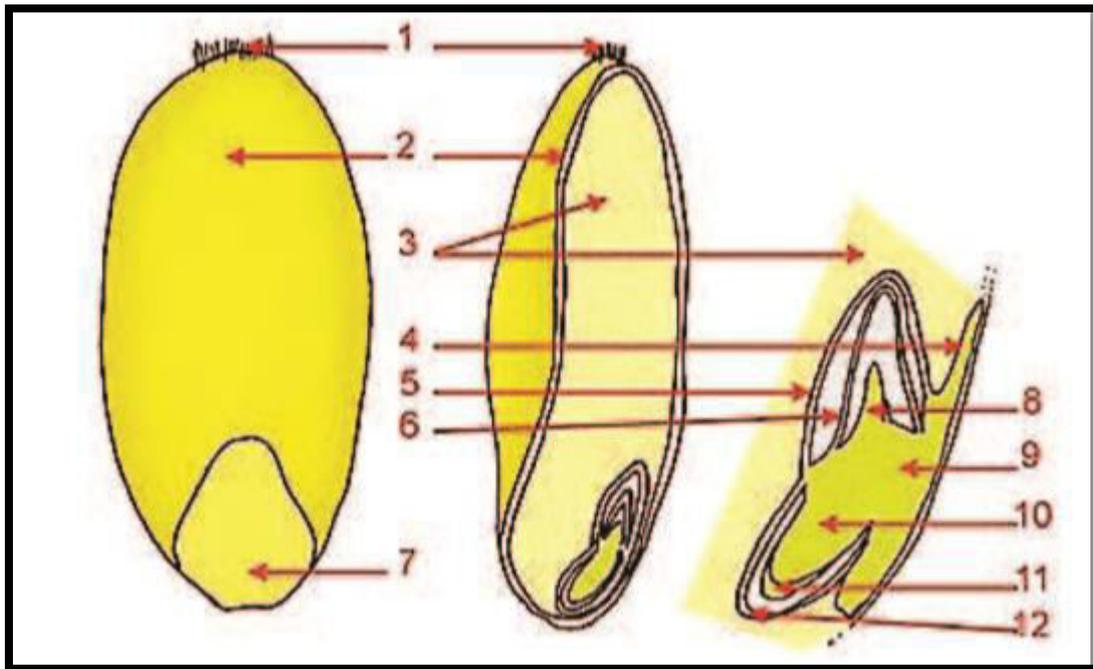
#### I.1.2. Structure du grain de blé

Physiologiquement, le grain des *Poacées* est un caryopse blanc ou roux, ovoïde, (le grain est soudé aux parois de l'ovaire) jouant le rôle d'un fruit renfermant une graine, (cotylédon qui représente 82 à 85% du grain) (GODON, 1991).

Le grain de *Triticum durum* est composé de trois parties essentielles (l'enveloppe, l'amande farineuse et le germe). Chacune de ces parties est formée de réseaux très complexes qui font encore l'objet de nombreuses recherches (CHEFTEL *et al.*, 1977).

Le germe qui donne la plantule, l'amande appelée endosperme ou albumen est un tissu de stockage qui fournit au germe les réserves nécessaires pour sa croissance et les enveloppes protectrices sont composées par la paroi de la graine (testa) et par la paroi du fruit (péricarpe) (DOUMANDJI *et al.*, 2003).

La structure des grains de diverses céréales est assez semblable. La figure n° 01 illustre les différentes parties composant une graine de blé.



**Figure n° 01 :** Coupe schématique d'un grain de blé (CHEFTEL et CHEFTEL, 1977).

(1): poils (stigmates). (2): téguments (écorce). (3): albumen. (4): cotylédon unique. (5): épicotyle (capuchon recouvrant la gemmule). (6): première feuille. (7): scutelum. (8): gemmule. (9): tigelle. (10): radicule. (11): coiffe. (12): coléorhize (capuchon recouvrant la radicule).

La taille du grain est de 5 à 7 mm de long, 2,5 à 4 mm de large 2,5 à 3,5 mm d'épaisseur. Son poids est entre 20 et 50 mg. Histologiquement, le grain de blé dur est formé de trois types de tissu : le germe (2,5 - 3%), les enveloppes (14-16% du grain) et l'albumen (80% du grain) (KENT & EVERS, 1994, BARRON *et al.*, 2007),

### I.1.3. Composition biochimique du grain

Le grain de blé est principalement constitué d'amidon (environ 70%), de protéines (10 à 13%) selon les variétés et les conditions de culture et de pentosanes (8 à 10%). Les autres constituants, pondéralement sont mineurs (quelques % seulement), sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (FEILLET, 2000).

### I.1.4. Description générale de la plante

La plante du blé est une graminée annuelle de hauteur moyenne pouvant atteindre jusqu'à 1.5 m selon les variétés (BOZZINI, 1988). Son appareil végétatif herbacé est composé de :

- **Racines:** Le blé dur dispose de deux systèmes racinaires successifs. Un système racinaire primaire ou séminal, fonctionnel dès la germination. Il ne se forme en

général que de 6 racines séminales (MONNEVEUX, 1992), et d'un système racinaire secondaire ou racines adventices, de type fasciculé, qui apparaît au tallage et se substitue progressivement au précédent. (BOULAL *et al*, 2007).

- **Tige:** Sur la partie aérienne, on distingue une tige principale appelée le maître brun cylindrique, lisse, plus ou moins creuse et des tiges secondaires appelées talles qui naissent à la base de la plante.
- **Feuilles:** Alternes, distiques, simples et entières, avec une gaine arrondie (BELAY, 2006). Chaque feuille prend naissance à l'aisselle d'un nœud.
- **Fleurs:** L'appareil reproducteur (l'inflorescence) est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre-nœuds (BOZZINI, 1988). Chaque épillet est une petite grappe de une à cinq fleurs bisexuées. Chaque fleur peut produire un fruit à une seule graine (BOZZINI, 1988).

## I.2. Description agro-morphologique de l'orge

### I.2.1. Définition

L'orge est l'une des céréales les plus importantes du monde, c'est l'une des premières cultures domestiquées et a été utilisée pendant des siècles pour l'alimentation humaine (BARRON *et al.*, 2007). Aujourd'hui, l'orge occupe le quatrième rang dans la production céréalière mondiale. Elle est utilisée pour l'alimentation animale, les malts de brassage et l'alimentation humaine (AIDANI, 2015).

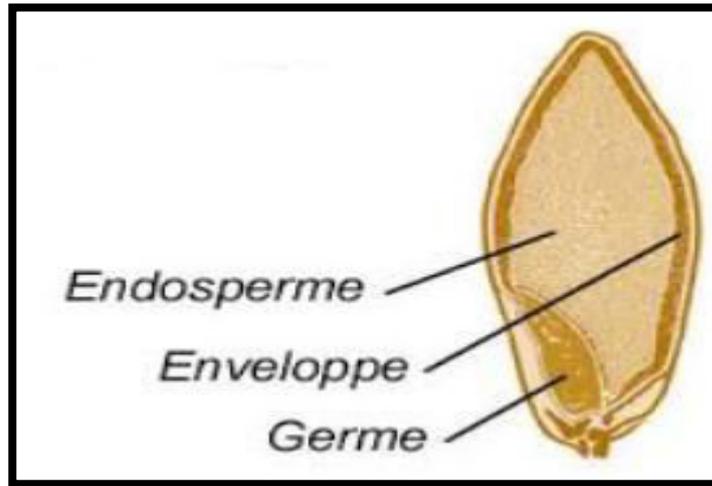
L'orge est aussi une culture qui s'adapte bien à des environnements différents, Elle est également une plante modèle bien connue et utilisé pour développer des méthodologies de sélection végétale, génétique, cytogénétique (LILIANA, 2014).

### I.2.2. Structure du grain

Le grain d'orge se compose de l'extérieur vers l'intérieur les parties suivantes (Figure n°02) (SOUILAH, 2009) :

- ✓ **Le péricarpe ou l'enveloppe** il est constitué de l'extérieur vers l'intérieur par le péricarpe (parois de l'ovaire), le tégument, et l'assise protéique.
- ✓ **L'endosperme ou l'amande** constitue presque tout l'intérieur du grain et se compose principalement de minuscules grains d'amidon. Le blé tendre possède une amande farineuse de couleur blanche.

- ✓ **Le germe ou l'embryon** comprend 2 parties : la plantule (future plante) et le cotylédon (réserve de nourriture très facilement assimilable, destinée à la plantule) qui contient l'essentiel des matières grasses du grain.



**Figure n° 02** : Un grain d'orge

La composition biochimique du grain d'orge diffère assez peu de celle du grain de blé: seul sa teneur en cellulose est un peu plus élevée, en raison de l'existence des glumelles (CLEMENT, 1981).

### **I.2.3. Groupes de l'orge**

Liné (1755) in Grillot (1959), classent les orges selon le degré de fertilité des épillets et la compacité de l'épi en deux groupes.

**A- le groupe à six rangs** : dont les épillets médians et latéraux sont fertiles et qui se subdivise selon le degré de compacité de l'épi en :

- *Hordeum hexastichum*L. a un épi compact composé sur chaque axe du rachis de 3 épillets fertiles.
- *Hordeum tétrastichum*L. a un épi lâche composé sur chaque axe du rachis de 2 épillets fertiles

**B- le groupe à deux rangs** : dont les épillets médians seuls sont fertiles. Ce groupe se présente par *Hordeum distichum*L. qui a un épi aplati et lâche composé de deux rangées d'épillets fertiles, sur chaque axe du rachis, entouré de quatre(4) épillets stérile (Souilah, 2009).

### I.3. L'importance à l'échelle mondiale

#### I.3.1. Le blé

La production de blé est répartie sur l'ensemble du globe puisque le blé pousse même si la température n'est guère favorable ou que l'eau est rare. C'est ce qui explique une production élevée en Chine, en Inde et même en Russie. Elle se classe au quatrième rang mondial en matière de culture, derrière le riz, le maïs et la canne à sucre. Grâce à de multiples techniques culturales et de sélection génétique ayant permis une augmentation et une amélioration du rendement et de la production. Le tableau ci-dessous montre les statistiques de la production et la consommation mondiale de blé sont données par GRAINWIZ en 2016.

**Tableau n° 01** : Production et consommation de blé dans le monde durant les 5 dernières années en millions de tonne (GRAINWIZ, 2016).

	2011-12	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16	Moyenne (sur 5 ans)
<b>OFFRE</b>						
<b>Production</b>						
<i>Superficies récoltées (millions d'hectares)</i>	220.940	215.772	219.630	221.575	224.947	220.573
<i>Rendement par hectare</i>	3.15	3.05	3.26	3.29	3.27	3.20
	696.92	658.30	715.05	728.25	735.02	706.71
Inventaires de début d'année	198.37	197.58	176.78	193.96	216.08	196.55
Importations	150.19	145.42	158.45	159.10	169.94	156.62
<b>Offre totale</b>	<b>1 045.47</b>	<b>1 001.30</b>	<b>1 050.28</b>	<b>1 081.31</b>	<b>1 121.03</b>	<b>1 059.88</b>
<b>DEMANDE</b>						
<b>Consommation</b>						
<i>Moulée et usage résiduel</i>	148.70	138.24	126.57	131.79	137.14	136.49
<i>Alimentation, semence et usage industriel</i>	541.02	548.72	563.77	569.02	572.24	558.95
	689.72	686.96	690.33	700.81	709.38	695.44
Exportations	158.18	137.56	165.98	164.42	172.00	159.63
<b>Demande totale</b>	<b>847.90</b>	<b>824.52</b>	<b>856.31</b>	<b>865.23</b>	<b>881.37</b>	<b>855.07</b>

La production mondiale du blé est en croissance durant les cinq dernières années pour atteindre 735.02 millions de tonne de blé récolté en 2015/2016.

### I.3.2. L'orge

La production mondiale d'orge tend à diminuer depuis une vingtaine d'années dans le monde. On distingue deux qualités d'orge : d'un côté l'orge fourragère, destinée à l'alimentation animale, qui représente environ 70 % de la production mondiale; de l'autre, l'orge brassicole. De meilleure qualité, cette dernière est utilisée pour produire du malt, matière première de la bière et du whisky. La demande en orge brassicole dépend essentiellement de la consommation mondiale de bière, en nette progression ces dernières années, notamment en Asie. La Chine est désormais le premier producteur mondial de bière (PLANETOSCOPE, 2016). Le tableau ci-dessous nous montre la quantité de l'offre et la demande d'orge dans le monde.

**Tableau n° 02** : Production et consommation d'orge dans le monde durant les 5 dernières années en millions de tonne (GRAINWIZ, 2016)

	2011-12	2012-13	2013-14	2014-15	2015-16	Moyenne (sur 5 ans)
<b>OFFRE</b>						
<b>Production</b>						
<i>Superficies récoltées (millions d'hectares)</i>	49.213	49.920	50.667	49.555	50.174	49.906
<i>Rendement par hectare</i>	2.71	2.58	2.85	2.86	2.97	2.79
	133.33	128.78	144.27	141.77	148.78	139.39
Inventaires de début d'année	24.32	22.66	20.38	23.87	24.10	23.06
Importations	20.66	20.09	23.08	29.91	28.24	24.40
<b>Offre totale</b>	<b>178.30</b>	<b>171.53</b>	<b>187.73</b>	<b>195.55</b>	<b>201.13</b>	<b>186.85</b>
<b>DEMANDE</b>						
<b>Consommation</b>						
<i>Moulée et usage résiduel</i>	91.73	88.57	97.23	97.37	99.99	94.98
<i>Alimentation, semence et usage industriel</i>	43.52	42.96	43.78	45.06	45.45	44.15
	135.25	131.52	141.00	142.43	145.44	139.13
Exportations	20.39	19.63	22.86	29.02	30.33	24.45
<b>Demande totale</b>	<b>155.64</b>	<b>151.15</b>	<b>163.86</b>	<b>171.45</b>	<b>175.77</b>	<b>163.57</b>

La quantité d'orge récoltée est d'environ 140 millions de tonnes en 2015/2016, soit plus que les dernières années. L'orge occupe la quatrième place en termes de production céréalière et de surfaces cultivées.

#### I.4. L'importance à l'échelle nationale

Depuis l'indépendance, les différentes politiques et interventions de l'état dans le secteur agricole avaient pour but d'améliorer le niveau de production des céréales en Algérie, et du blé dur en particulier. Les céréales sont les cultures annuelles les plus importantes pour l'agriculture algérienne (BOURRAS, 2001).

La production nationale des céréales demeure insuffisante et couvre moins de 25 à 30% des besoins nationaux.

Parmi toutes les espèces céréalières, le blé représente la production alimentaire la plus importante pour une grande partie de la population algérienne, pour cela, l'état est toujours intervenu dans le marché pour assurer à tous les citoyens un accès équitable à cet aliment. (MORSLI, 2010).

#### I.5. Culture et production en Algérie

Le total de la production nationale des céréales est de 3,6 millions de tonnes, soit 2 millions de tonnes de blé dur, 1 million de tonnes d'orge et 6361849 tonnes de blé tendre (Figure n°3).

Quinze (15) wilayas (Chlef, O.E.Bouaghi, Bouira, Tlemcen, Tiaret, S.B.Abbes, Guelma, Constantine, Medea, Mascara, Souk-Ahras, Mila, Ain-Defla, A.Temouchent, Relizane) ont enregistré une production dépassant la barre d'1 million de quintaux, (ONFAA, 2015).

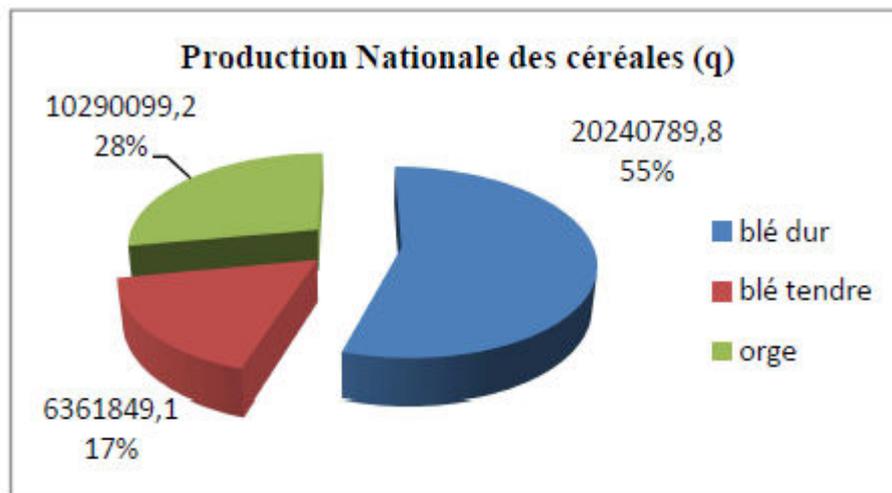
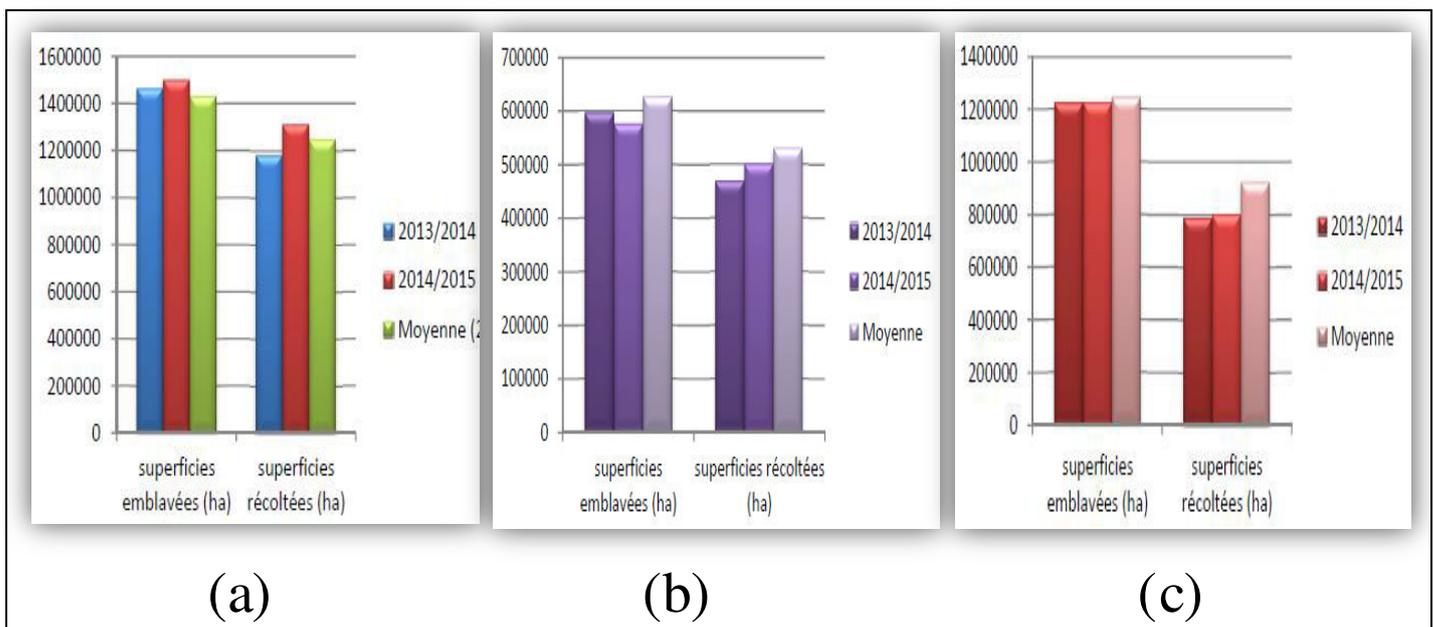


Figure n° 03 : La production nationale de blé dure, blé tendre et orge (ONFAA, 2015).

Les superficies emblavées et récoltées en blé dur, en blé tendre et en orge sont illustrées dans la figure n°08, concernant le blé dur, elles ont connu une augmentation de 2,4% et 10,05% respectivement en 2014/2015 comparativement à la campagne écoulée (Figure n°04

a). En blé tendre, les superficies emblavées ont connu une régression de 3,68% en 2014/2015 par rapport à la campagne précédente. Par contre, les superficies récoltées ont augmenté de 6,3% par rapport à la même période (Figure n° 04 b).

Pour l'orge, une légère diminution de 0,01% des superficies emblavées a été enregistrée comparativement à la campagne précédente. Par contre les superficies récoltées ont augmenté de 1,5% par rapport à la même période (Figure n° 04 c).



**Figure n° 04 :** Les superficies emblavées et récoltées de blé dur (a), blé tendre (b) et orge (c) pour la campagne 2013/2014 et 2014/2015 (Source : ONFAA, 2015).

L'Algérie a été le premier importateur dans le monde, puisque ses importations annuelles représentaient 50% des disponibilités totales du marché mondial (OAIC, 2000 in BOURRAS, 2001).

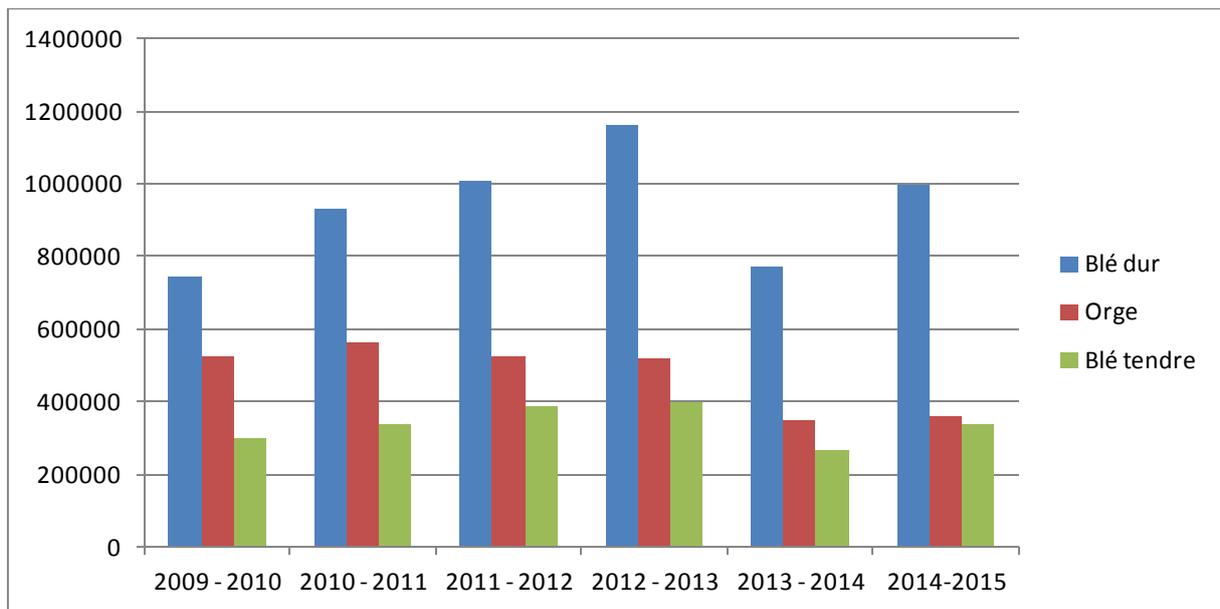
## I.6. Cultures et production à Bouira

La céréaliculture dans la wilaya de Bouira occupe annuellement une superficie importante d'environ 40 000 ha pour le blé dur, 13 000 ha pour le blé tendre et allant de 23 000 à 26 000 ha pour la culture de l'orge.

La production totale des céréales avoisine annuellement 1500 000 Qx avec un rendement de plus de 22 Qx /ha ce qui relativement élevé par rapport au rendement moyen national (16.5 Qx / ha).

Pour l'année 2015, et selon les statistique de la DSA de Bouira, La production du blé dur était de 999798 Qx, celle du blé tendre était de 335778 Qx et de 359253 Qx pour l'orge (DSA, 2016).

La Figure n° 05 montre la production des céréales (blés, orge) à Bouira entre 2009 et 2015



**Figure n° 05 :** Production des céréales (blés, orge) à Bouira entre 2009 et 2015 (DSA, 2016).

## Chapitre II : Les moisissures pathogènes du blé et d'orge

### II.1. Caractères généraux

Les moisissures sont des champignons microscopiques hétérotrophes filamenteux et immobiles. Ce sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif, le thalle, est formé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Lorsque la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu qui se présente comme une sorte de feutrage à la surface colonisée. (MAHIDEB et MERROUCHE, 2015).

Les moisissures ne peuvent se développer que sur des substrats organiques. La structure filamenteuse du thalle les rend particulièrement aptes à coloniser des substrats solides. Certaines vivent en symbiose avec des végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres enfin sont des saprophytes se développant aux dépens de substrats inertes ou en voie de décomposition (BOURGEOIS *et al.*, 1989; LEVEAU et BOUIX, 1993). En raison de leurs aptitudes écologiques et physiologiques; les moisissures sont de loin les microorganismes les plus redoutables pour les grains stockés (MULTON, 1982).

### II.2. La mycoflore des grains de céréales

Plus de 150 espèces de moisissures filamenteuses ont été trouvées sur les grains de céréales comme contaminants extérieurs. Les graines sont naturellement en contact avec des spores fongiques avant, pendant et après la récolte, durant le transport et le stockage. La croissance fongique est régie par de nombreux paramètres physico-chimiques, notamment la quantité d'eau libre (Activité de l'eau), la température, la présence d'oxygène, la nature du substrat et le Ph (JOUANY et YIANNIKOURIS, 2002).

Les moisissures se développant aux champs nécessitent une forte humidité pour leur croissance (20 à 25%), alors que les moisissures de stockage sont capables de croître sur des substrats contenant de 10 à 18 % d'humidité (MOLINIE *et al.*, 2005).

Les mycètes colonisant le grain ont été classifiés dans trois groupes, connus sous le nom de moisissures de champ, de stockage et la flore intermédiaire (MAGAN et LACEY, 1988).

#### II.2.1. Flore des champs

Les grains de blé sont contaminés par les microorganismes dans le champ, et cette microflore est dominée par des moisissures. Les spores des champignons de champ

envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage. Les genres rencontrés sont: *Alternaria* (le plus fréquent), *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium* (moins fréquents), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus*, *Trichoderma* et *Stemphylium*. Beaucoup de ces champignons sont fortement cellulotiques, provoquant certaines maladies telles que la fusariose provoquée par le *Fusarium*. (AKINSANMI et al, 2002).

Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions dans le champ. Elle exige des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale. En fonction des conditions précises, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à basse température et à faibles niveaux d'humidité (ROBERTS, 2005).

#### II.2.1.1. Le genre *Alternaria*

Il est fréquent, même dans le blé cultivé dans les zones arides (DENDY et DOBRASZCZYK, 2000). Les espèces les plus fréquentes sont :

- *Alternaria alternata* est connue par la production des mycotoxines;
- *Alternaria tenuissima* est capable de produire des toxines tel que l'acide ténuazonique ;
- *Alternaria infectoria* cause la décoloration et la dévalorisation du grain mais elle est non toxino-génique.

#### II.2.1.2. Le genre *Fusarium*

Il comprend les espèces qui ont à la fois des pouvoirs pathogènes et saprophytes. Les espèces rencontrées sont surtout : *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium poae*. (VAN DER BURGT et TIMMERMANS, 2009)

Les champignons *Fusarium* ont la capacité de produire des mycotoxines. Les deux espèces *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* peuvent causer la pourriture de la tige et la brûlure de l'épi du blé et ces infections de champ peuvent conduire à l'altération post récolte plus importante de ce produit s'il est stocké à une trop forte activité de l'eau. (ADAMS et MOSS, 2008).

Ce genre inclue des champignons imparfaits appartenant à la classe des *Deutéromycètes*. Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des *Ascomycètes* (ordre des *Hyphocreales*, famille des *Nectriaceae*, genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*). Pour plusieurs espèces de *Fusarium*,

Sur le plan économique le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes. De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents (NELSON *et al*, 1983).

### II.2.2. Flore intermédiaire

Elle est une catégorie à comportement plus diversifié et regroupe des germes capables d'un développement limité, mais qui peuvent prédominer largement en conditions particulières, tels que ; *Cladosporium*, *Trichoderma* et surtout les mucorales comme *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor* (GODON et LOISEL, 1997).

### II.2.3. Flore de stockage

Les facteurs environnementaux peuvent exercer une pression sélective influençant la structure de la communauté et la dominance de quelques espèces mycotoxigéniques (Magan *et al*, 2003).

Les moisissures des grains de blé stockés sont présentes sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe ou spores en dormance sur la surface du grain. Cependant, un certain nombre de moisissures sont superficiellement associées aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont : *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leurs capacités de se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (Mathew *et al*, 2011).

#### II.2.3.1. Le genre *Aspergillus*

Dans le blé stocké, les moisissures du genre *Aspergillus* se multiplient d'autant plus rapidement que la température (jusqu'à 40°C) et l'activité de l'eau sont élevées (FEILLET, 2000). Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées dans le grain de blé stocké sont surtout : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* (MATHEW *et al*., 2011).

Si le blé est stocké à une teneur d'humidité de 14 à 15% et à une température d'environ 70°C, il sera lentement envahi par d'autres espèces notamment *Aspergillus restrictus*. Cette dernière représente l'espèce qui prédomine dans le blé stocké pendant quelques mois si l'humidité est inférieure à 15%. Au dessus de 15% d'humidité, d'autres espèces peuvent apparaître telles que : *Aspergillus repens*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus ruber*

prédominant et conservent leurs prédominances même à des teneurs d'humidité supérieures à 18% (MAGAN *et al.*, 2003).

Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches.

### II.2.3.2. Le genre *Penicillium*

Les moisissures de ce genre sont moins fréquentes avant la récolte mais commencent à croître rapidement pendant le stockage, quand les conditions appropriées sont réunies. Elles se développent même lorsque la teneur en eau est relativement basse, mais elle doit être au dessus d'un seuil de 14% environ et d'un taux d'humidité de 75% (NEERGAARD, 1977).

Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (PITT, 1988).

Les espèces les plus communes sont essentiellement: *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium hordei*, *Penicillium freiï*, *Penicillium melanoconidium*, *Penicillium polonicum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, *Penicillium Crustosum*... (DIKSTERHUIS et SAMSON, 2007).

## II.3. Effets néfastes des altérations

Les grains de céréale forment un excellent milieu de culture pour les moisissures. Pendant le stockage, les céréales subissent généralement une perte de qualité, assurée par une infection des mycètes, des insectes et des acariens. Cette détérioration est caractérisée par une diminution de la germination, une décoloration, des changements chimiques et nutritionnels, un durcissement et de mauvais goûts qui ont comme conséquence le rejet du produit (MILLS, 1990).

L'activité fongique mène également aux pertes de matière sèche et de la valeur nutritive ainsi qu'à des problèmes de santé dus à la formation des mycotoxines et des spores allergéniques (OLSSON, 2000), et aussi aux modifications des propriétés rhéologiques du grain (MOLINIE *et al.*, 2005).

Certaines espèces fongiques sont responsables de mycoses et de réactions allergiques chez l'homme et l'animal. Les effets les mieux connus sont ceux provoqués par *Aspergillus fumigatus* responsable d'aspergillose pulmonaire et de mammites chez les animaux (BAUER et GARIES, 1987).

## II.4. Méthodes de lutte contre les moisissures

Pour pouvoir lutter contre les moisissures et les mycotoxines des céréales, il faut savoir à quel moment elles se développent. Il est possible de définir trois moments: lors de la culture, de la récolte et du stockage.

Les moyens de lutte proposés pour chaque période définie sont consignés dans le tableau suivant : (PFOHL-LESZKOWICZ, 1999).

**Tableau n° 03** : Méthodes de lutte prophylactique

Période définie	Solutions proposées
Au champ	<ul style="list-style-type: none"> <li>- créer des plantes résistantes</li> <li>- limiter le développement par l'emploi de fongicides</li> <li>- arrosage adapté</li> <li>- apport en minéraux</li> </ul>
À la récolte	<ul style="list-style-type: none"> <li>- veiller à la maturité du grain</li> <li>- inspection visuelle pour éliminer les éléments abîmés</li> <li>- éviter les récoltes par temps humide</li> </ul>
Au stockage	<ul style="list-style-type: none"> <li>- contrôle périodique</li> <li>- maintenir une bonne température</li> <li>- contrôler l'humidité</li> <li>- détruire les céréales contaminées</li> <li>- une bonne aération des silos.</li> </ul>

La qualité initiale des grains, la maîtrise de la température, de l'humidité et de la composition du milieu ambiant, les traitements physiques et chimiques, sont la clé du contrôle de l'activité microbienne. (MULTON, 1982).

### II.4.1. Lutte chimique

Des acides organiques de faible poids moléculaire (acide propionique, acide acétique et acide formique) et leurs sels sont les plus employés pour conserver les grains (MAGAN *et al.*, 2004).

Cependant, ils ont beaucoup d'inconvénients : leur efficacité dépend du temps ; ils sont corrosifs; les traitements de l'acide détruisent la viabilité de la graine; et, surtout, le soin spécial doit être pris par l'utilisateur pour éviter l'inhalation.

Certaines substances chimiques utilisées pour faire face aux dégradations présentent un risque toxique non négligeable : c'est le cas de l'oxyde d'éthylène, du bromure de méthyle. L'aldéhyde formique a été utilisé avec succès pour lutter contre le développement des moisissures des grains, mais son emploi pose également de nombreux problèmes (odeur, couleur, perte d'activité enzymatique) (FLAMINI *et al*, 2003).

#### **II.4.2. La lutte physique**

Des méthodes physiques se sont généralement appliquées dans le stockage des grains. Les atmosphères modifiées et l'irradiation gamma devraient être mentionnées. L'action létale de l'irradiation sur les organismes vivants résulte de modifications chimiques, même quantitativement infimes, induites dans leurs molécules vitales (MAGAN *et al.*, 2004).

#### **II.4.3. La lutte biologique**

Des levures, et des bactéries nombreuses se sont avérées efficaces dans le contrôle du produit agricole frais après récolte. Les mécanismes par lesquels la croissance fongique et la production des mycotoxines peuvent être empêchées dans l'environnement concurrentiel incluent : la concurrence pour les nutriments ; l'induction des mécanismes de défense ; les interactions hyper parasitiques. Bien que le contrôle biologique ne semble pas encore être faisable sur les grains, un avantage important qui pourrait émerger des études sur les mycètes antagoniques serait la découverte des composés inhibiteurs à la production de mycètes et/ou de mycotoxines de stockage (MAGAN *et al*, 2004).

## Matériel et méthodes

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel végétale

Les échantillons de blé dur, blé tendre et d'orge (figure n°06) sont fournis par CCLS (Coopérative des Céréales et Légumes Secs) de Bouira. Il s'agit de 12 échantillons de grains de blé dur, 11 échantillons de grains de blé tendre et 10 échantillons de grains d'orge collectés dans de différentes régions de wilaya de Bouira.



**Figure n° 06 :** Les trois (3) types de céréales fournis par CCLS

Tous les échantillons de grains de céréales utilisés dans ce travail proviennent de la récolte de l'année 2016. Les informations détaillées de chaque échantillon sont présentées dans les tableaux n° 04, 05 et 06 et la répartition des lieux de prélèvement de ces échantillons sont présentées dans la figure n°7.

La figure n° 07 présente la répartition géographique des lieux de prélèvement de nos échantillons.

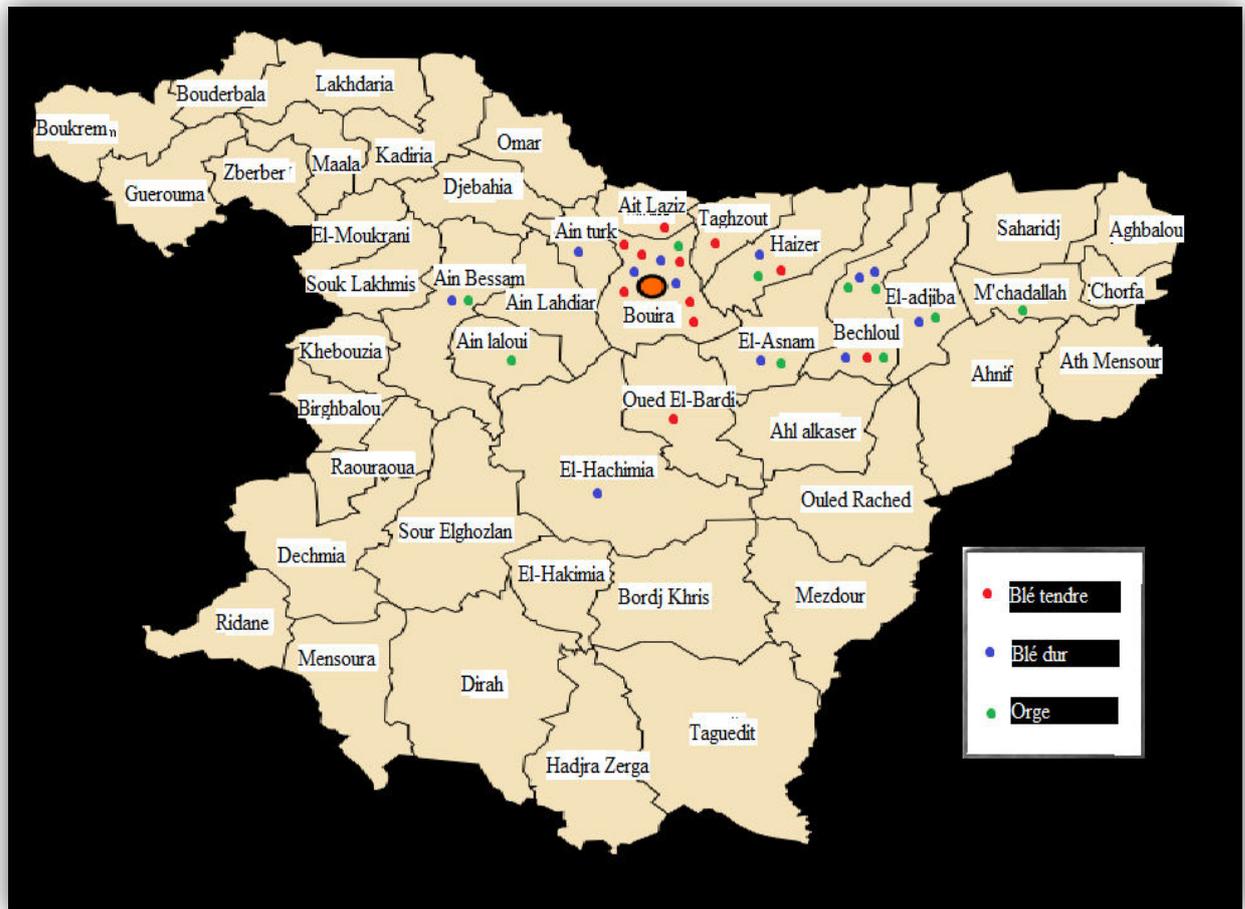


Figure n° 07 : Répartition des échantillons de grains utilisés pour l'étude

**Tableau n° 04** : Provenance des grains de blé dur et date de récolte

N° d'échantillon	Date de récolte	Nom de l'agriculteur	Région
1	22/06/2016	Nedjadi Said	Hizar
2	21/06/2016	Ben Arouche Youcef	El-Adjiba
3	22/06/2016	Bellili Youcef	Ain Bessam
4	23/06/2026	MMallaoui Yahia	Bechloul
5	22/06/2016	Zan Qassi	El-Asnem
6	14/06/2016	Yeddou Ahcene	Bouira
7	16/06/2016	Slimani Djamel	Crête Rouge
8	23/06/2016	Larak Slimene	Crête Rouge
9	24/06/2016	Khaldi Said	El-Hachimia
10	22/06/2016	Sahraoui Abd Elkader	Ain Turk
11	24/06/2016	Louradi Salah	Ouled Bouchia
12	20/06/2016	Chekroune Samir	Village Sonda

**Tableau n° 05** : Provenance des grains de blé tendre et date de récolte

N° d'échantillon	Date de récolte	Nom de l'agriculteur	Région
1	23/06/2016	Kerfouf Hamide	Taghzout
2	16/06/2016	Ben Zahar Mohammed	Chaabat Brahim
3	12/06/2016	Yeddou Ahcene	Bouira
4	09/06/2016	Cherrid Arezki	Oued El-Bardi
5	20/06/2016	Yeddou Salah	Bouira
6	22/06/2016	Nedjadi Mohammed	Hizer
7	20/06/2016	Guettouf Mohammed	Village Said Abid
8	14/06/2016	Ben Zahar Mohammed	Chaabat Brahim
9	23/06/2016	Morsli Ahmed	Bechloul
10	17/06/2016	Berdoche Madani	Bouira
11	14/06/2016	Laboui Abe El-Malak	Village Tameur

**Tableau n° 06** : Provenance des grains d'orge et date de récolte

N° d'échantillon	Date de récolte	Nom de l'agriculteur	Région
1	12/06/2016	Bouchraïne Hamza	El-Asnem
2	10/06/2016	Khedisse Boualem	El-Adjiba
3	15/06/1016	Makhnache Nordine	Village Tameur
4	12/06/1016	Draifi Karim	Ain Bessam
5	20/06/1016	Boucherit Brahime	M'chedalah
6	16/06/1016	Merzouk Akli	Crête Rouge
7	13/06/1016	Mellaz Said	Semmache
8	15/06/1016	Ouakli Makhlouf	Ain Lalloui
9	15/06/1016	Bacha Hamid	Bechloul
10	14/06/1016	Chedani Kamel	Hizer

## 1.2. Milieu de culture

### A. Milieu d'isolement

#### A.1. Choix des milieux

Les milieux de culture utilisés pour l'isolement des champignons sont deux milieux à base de peptone comme seul source de carbone aux quels nous avons ajouté un antibiotique qui est la Stryptomycine et un fongistatique qui est soit le Carbendazim soit l'Iprodione (composition figure dans annexe 2).

- Le 1<sup>er</sup> milieu à base de 500mg de Carbendazim par litre de milieu est utilisé pour isoler un nombre restreint de genres fongique
- Le 2<sup>ème</sup> milieu à base de 3 mg d'Iprodione par litre de milieu est utilisé pour isoler un grand nombre de genres fongiques

Il s'agit de deux milieux modifiés a partir du milieu Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar (DCPA) de ANDREW et PITT (1986) qui 'est un milieu semi sélectif de certains

Hyphomycètes dématés tels que *Alternaria*, *Ulocladium Curvularia*, *Drechslera* et du *Fusarium*.

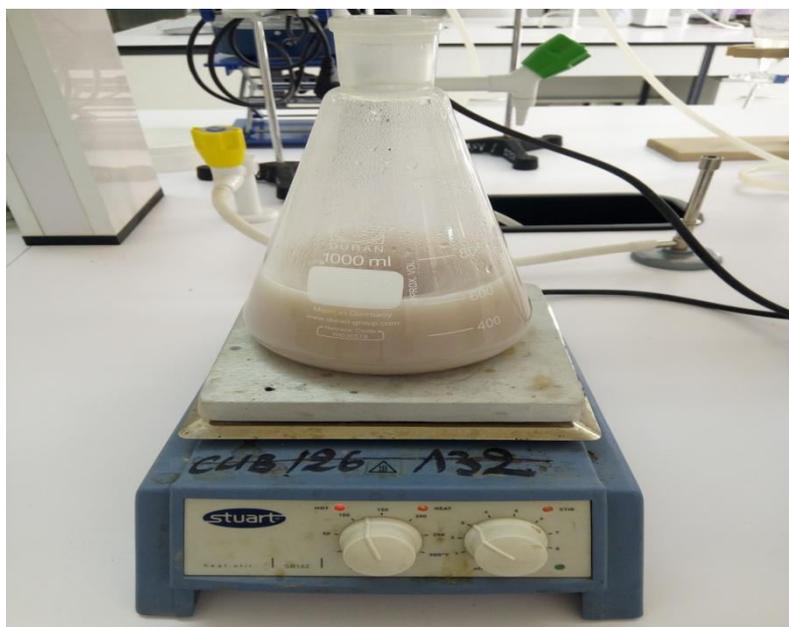
Les modifications sont faites à cause du manque de l'antifongique Dichloran et l'antibiotique Chloramphenicol au niveau du laboratoire d'une part, et d'autre part pour permettre le développement d'un plus grand nombre de genres fongiques.

### Solutions préparées

- 10.0±0.1 g de Streptomycine dans 100±2 ml d'éthanol, conservable à 5±3°C pendant 3 mois
- 0.05±0.01 g de Crystal violet dans 100±2 ml d'eau distillée, conservable à 5±3°C pendant 6 mois
- 0,15g±0.01 g d'Iprodione dans 50±2 ml d'eau distillée.

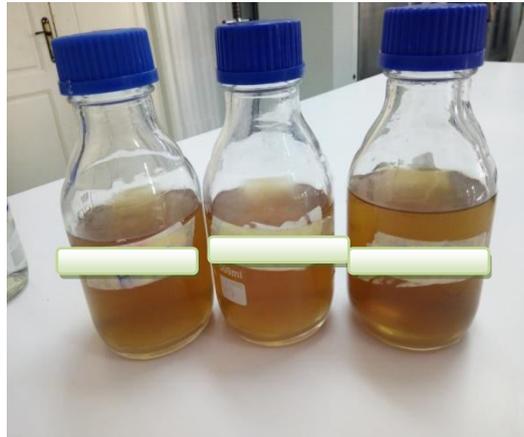
### A.2. Préparation des milieux

Tous Les constituants de milieu de culture à l'exception de la streptomycine sont pesés dans un Erlenmeyer contenant 500ml d'eau distillée puis homogénéisé sur un agitateur- plaque chauffante (figure n°08). Après homogénéisation, le volume est ajusté à 1L avec de l'eau distillée.



**Figure n° 08 :** Homogénéisation des composants de milieu sur un agitateur plaque chauffante

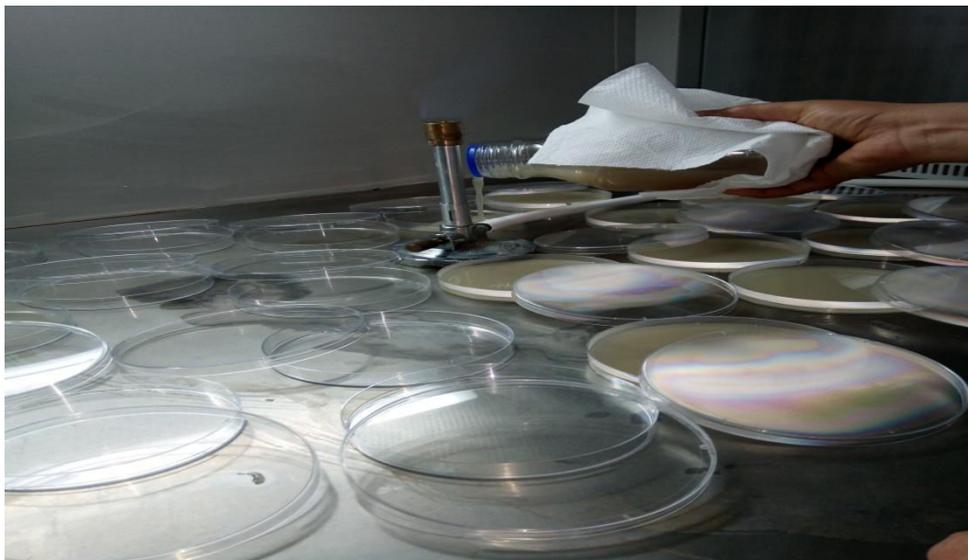
-le milieu ainsi préparé est stérilisé dans un Autoclave à pression de vapeur à 121°C pendant 20 min (figure n°09).



**Figure n° 09 :** L'autoclavage des milieux de culture

**Figure n° 10 :** Flacons contenant milieu de culture après autoclavage

- Après refroidissement à 60 °C environ, on ajoute les 2ml de la streptomycine et on agite bien. Puis le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Petri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire (figure n° 11°).



**Figure n° 11 :** Préparation de milieu dans des boîtes de Petri.

## **B. Milieu de caractérisation**

Lorsqu'aucune spore n'est visible ou lorsque des spores de forme et de taille non homogènes sont observées sur le milieu d'isolement, la colonie est repiquée sur le milieu SNA et sur le milieu PDA (composition figure dans Annexe 1) pour une étude spécifique et une détermination de genres. Le milieu PDA est utilisé également pour la caractérisation culturelle des champignons identifiés sur le milieu d'isolement. Ces deux milieux sont stérilisés dans un autoclave par de la vapeur d'eau sous pression, à haute température. La stérilisation est pratiquée à 121°C pendant 20 min (BOTTON *et al.*, 1990).

### **B.1. PDA (Milieu de potato dextrose agar)**

Le PDA (Gélose à l'extrait de pomme de terre), Il est préparé à partir de pomme de terre et de glucose, c'est un milieu nutritif classiquement utilisé pour la culture la plupart des champignons microscopiques. Dans notre travail, le PDA est utilisé pour la caractérisation culturelle des champignons et pour l'identification lorsque il ya production de conidies.

### **B.2. SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar)**

C'est un milieu minéral composé de sels minéraux, et des faibles quantités du glucose et de saccharose. Ce milieu pauvre en nutriments favorise le champignon mis en culture à former des fructifications comme les conidies. Ces fructifications permettent l'identification morphologique du champignon (GERLACH ET NIRENBERG, 1982).

## **1. 3. Autres Matériels**

### **A. Produits utilisés**

- ❖ Eau de javel : La solution d'utilisation est une dilution de la solution mère à environ 1.5°C1 dans de l'eau.
- ❖ Solution bleu coton : cette solution est utilisée pour l'observation microscopique des structures fongiques.

## B. Matériels Verre et consommables utilisés

Tableau n° 07 : Matériels utilisés au laboratoire

Equipement scientifique	Verrerie	Consommable
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Autoclave à pression de vapeur</li> <li>- Balance de précision (+- 0.001 g) de portée adaptée (0 à 100 g)</li> <li>- Hotte microbiologique à flux laminaire)</li> <li>- Enceinte climatique illuminée à température contrôlée de 26°C (+-3°C)</li> <li>- Microscope optique équipé des objectifs x20, x40 et x100 à immersion.</li> <li>- Bec Bunsen</li> <li>- Agitateur Plaque chauffante</li> <li>- Spatule métallique</li> <li>- Barreau magnétique</li> <li>- Pissette</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flacons autoclavables en verre borosilicaté de 500 ml.</li> <li>- Bêchers de 500 ml</li> <li>- Pipettes graduées de 1 ml et 10 ml</li> <li>- Erlenmeyer</li> <li>- Entonnoir</li> <li>- Eprouvettes graduées</li> <li>- Verres de montre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boîtes de Petri stériles</li> <li>-Lame porte objet pour microscopie</li> <li>- Lamelles couvre objets pour microscopie</li> <li>- Pointes de prélèvements</li> <li>-Papier filtres</li> <li>-Scotch</li> </ul>

## 2. Méthodes

### 2.1. Détermination de poids de mille (1000) graines

Le Poids de milles grains est la détermination en grammes de la masse de 1000 grains entiers (DEXTER ET MATSUO, 1977). On a prélevé au hasard une quantité de grains de chaque échantillon. On a sélectionné des grains entiers, et on a compté manuellement 100 graines de chaque échantillon, puis les peser. En suite le poids (P) de 1000 grains est calculé en multipliant la pesée par 10

Les résultats sont déterminés d'après la formule :

$$\text{PMG (g/ms)} = P \times [(100 - H)] / 100.$$

Avec :

- **P** : Masse en grammes de 1000 grains entiers.
- **H** : Teneur en eau des grains.

## 2.2. Détermination de taux d'humidité (teneur en eau)

On entend conventionnellement par la Teneur en eau, la perte de masse exprimée en pourcentage subie par le produit, elle est déterminée après séchage de 5g de grain, dans une étuve réglée à 105° pendant quatre (04) heures (SCOTTI, 1997).

### Mode opératoire :

- Préparation de l'échantillon : L'échantillon utilisé doit être représentatif de la population dont il est issu.
- Les prises d'essai avant séchage sont disposées dans des boites Petri en verre et pesées avec une balance analytique.
- Les boites Petri en verre contenant les échantillons sont séchées à une température de 105°c pendant quatre (4) heures.
- Les boites Petri de la prise d'essai sont laissées à refroidir durant 30 mn.

**Expression des résultats :** Selon la formule

$$H (\%) = [(M1 - M2) / (M1 - M0)] \times 100$$

Avec :

- **H** : Teneur en eau.
- **M0** : La masse de la boite de Petri vide.
- **M1** : La masse de la prise d'essais + la boite de Petri (avant séchage).
- **M2** : La masse de la prise d'essai + la boite de Petri (après séchage)

## 2.3. Isolement des champignons à partir des grains de céréales

### a. Désinfection

L'objectif de la stérilisation de surface des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongiques ou bactériennes.

Pour l'analyse de céréales : environ 50 ml de grains ont été désinfectés en surface et sont désinfectés pendant 10 min dans un bécher contenant 300±50 ml d'une solution d'eau de javel diluer à environ 1.5°C1 Les grains sont placés dans un panier tamis à mailles suffisamment petites pour retenir les grains.

Durant la phase de stérilisation le panier est agité vigoureusement afin de remettre en suspension les grains et d'assurer ainsi une désinfection plus efficace. Le panier contenant les grains est ensuite égoutté et les grains sont étalés et placés à sécher sur du papier filtre stérile (Whatman) (compter 20-30 min minimum sous un flux stérile).

Les étapes de stérilisation sont illustrées dans la figure n° 12.

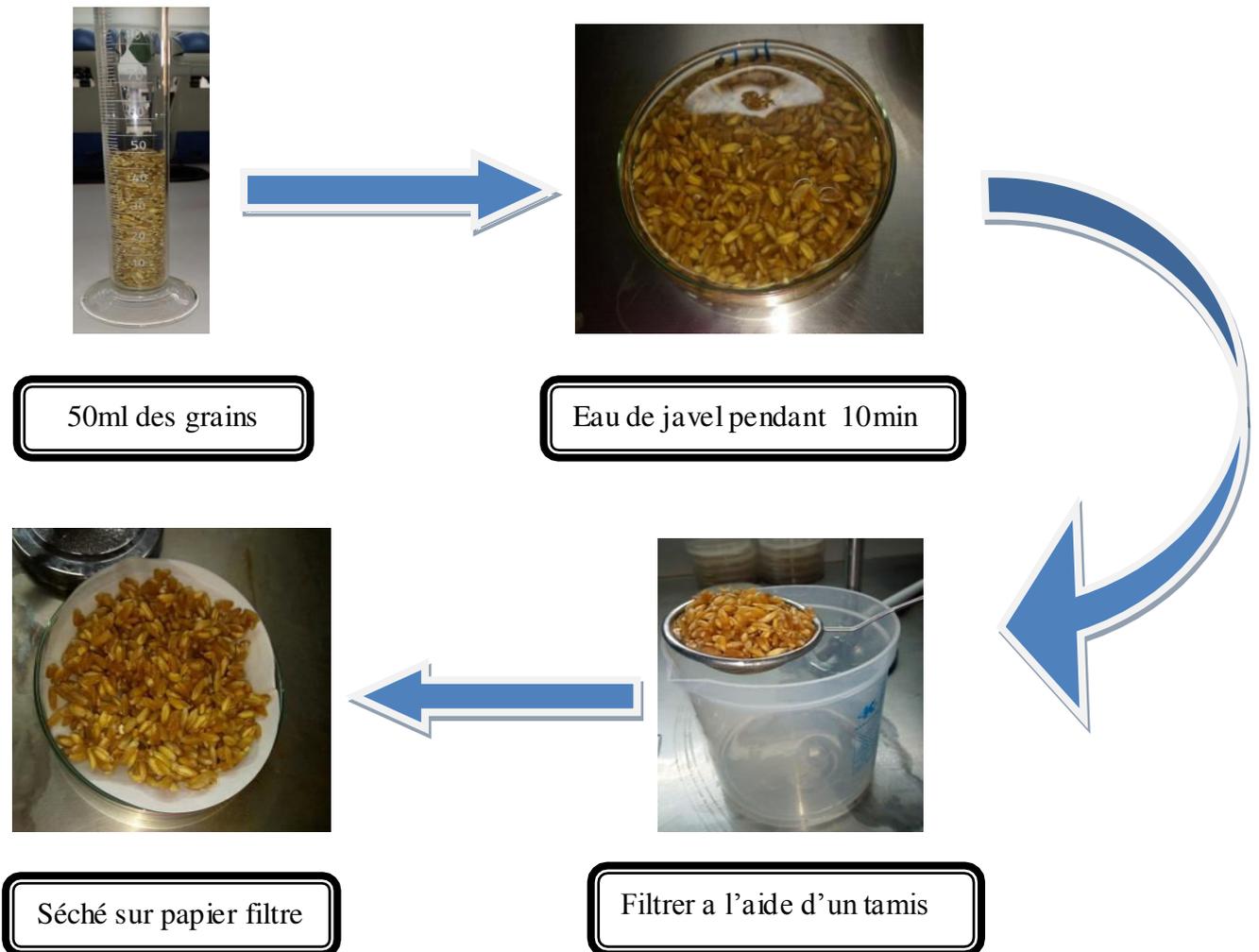


Figure n° 12 : Stérilisation de surface des grains

### b. Incubation des grains

Sous des conditions aseptiques, les grains sont parfaitement séchés, à l'aide d'une pince stérile, à chaque fois passé à la flamme du bec Benzène, ces grains ont été placés directement

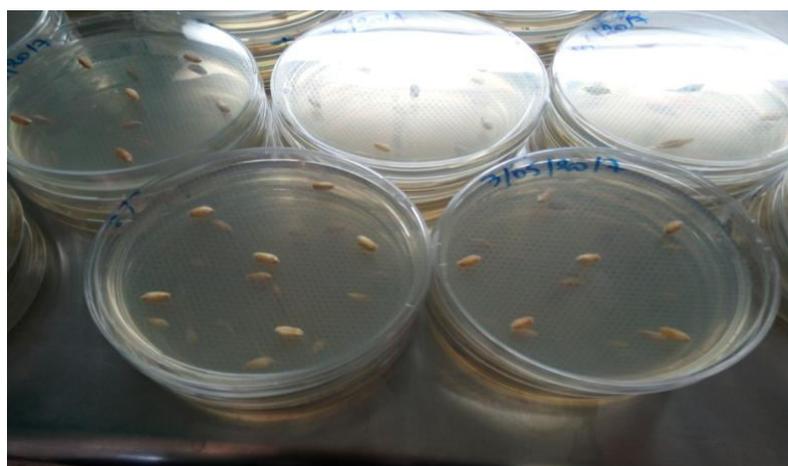
dans des boîtes de Petri contenant le milieu à base de Carbendazim et à base d'Iprodione (figure n°13).



**Figure n°13 :** Ensemencement des grains stérile sur milieu d'isolement

\*On utilise 3 boîtes pétrie par échantillon à raison de 6 grains par boîte de Petri pour le milieu à base d'Iprodione. (99 boîtes de Petri au totale).

\* On utilise 5 boîtes pétrie par échantillon à raison de 5 grains par boîte de Petri pour le milieu à base De Carbendazim. (165 boîtes de Petri au totale).



**Figure n° 14 :** les boîtes de Petri contenant des grains

Les boîtes de Petri sont incubées 10 à 12 jours dans un phytotron à 26°C  $\pm$  3°C en alternance éclairage- obscurité. (PACIN et al, 2002 ; GHIASIAN et al, 2004).



**Figure n° 15 :** Incubation des boîtes ensemencées dans une enceinte climatique

### **c. Lecture des boîtes d'isolement**

Après 10 à 12 jours d'incubation, les moisissures infectant les grains se sont bien développées sur le milieu semi-sélectif. Les colonies qui s'y développent apparaissent généralement duveteuses ou cotonneuses de couleur limitée (Blanche, rose pâle, ou parfois grise à noire) selon les espèces (CHERMETTE et BUSSIERAS, 1993) car ce milieu inhibe significativement la production de pigments par les champignons qui parviennent à s'y développer. Pour un échantillon de grains analysés, l'ensemble des boîtes d'isolement est examiné sous microscope optique après coloration par le bleu de coton.

### **d. Observation des champignons par la technique de scotch**

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant une goutte de bleu de coton (CHABASSE, 2002).

Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements  $\times 10$  et  $\times 40$  à l'aide d'un microscope type Motic digital microscope (Figure n° 16).

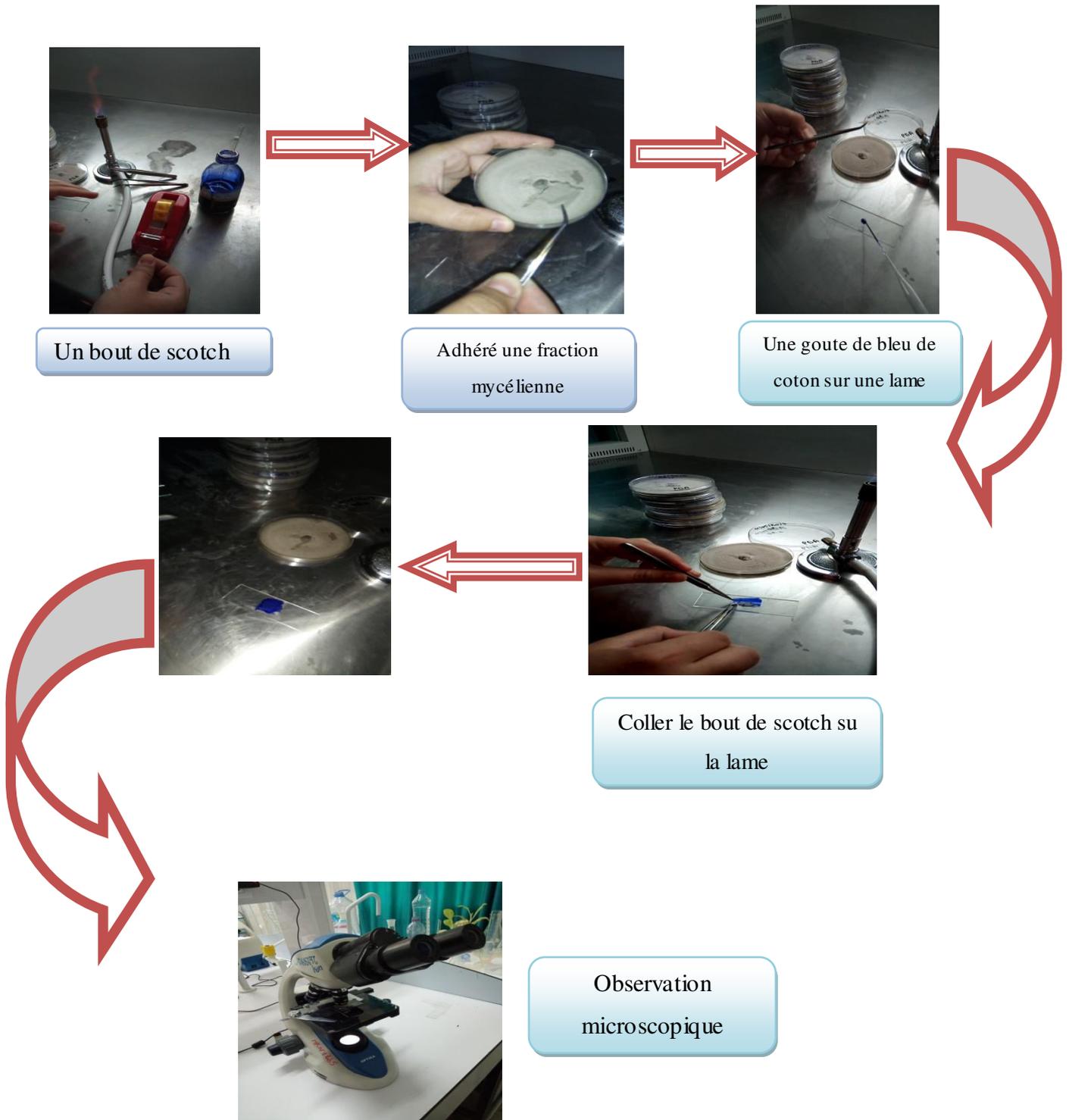


Figure n° 16 : les étapes de la technique de scotch

## 2.4. Caractérisation des champignons isolés

### a. Repiquage sur milieu PDA et SNA

Les colonies dont le mycélium est développé sont repiquées, au centre d'une boîte de Petri contenant un milieu PDA et dans une boîte contenant le milieu SNA.

## **b. Incubation**

Les boîtes Petri PDA et SNA sont placées dans le phytotron à température contrôlée de 26°C (+-3°C) pendant 7 à 12 jours pour le développement des champignons.

## **c. Lecture des boîtes SNA et PDA**

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (Identification macroscopique) et à la morphologie (identification microscopique), rarement à des propriétés biochimiques (BOTTON *et al*, 1999).

## **d. Etude des caractères cultureux macroscopiques**

Les caractères morphologiques et cultureux sont déterminés après ensemencement des souches sur le milieu de cultures PDA à 26°C pendant 7 jours. L'identification se fait à l'œil nu et elle se base essentiellement sur les caractères suivants. D'après GUIRAUD, (1998)

- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente)
  - La texture des colonies.
  - La couleur des colonies.
  - La couleur du revers de la culture.
  - L'aspect du mycélium.
  - La présence et la couleur des sporodochies (structures de production des macroconidies).
- (HARRIGAN et MCCANCE, 1976 ; RINALDI *et al*, 1998 ; BOTTON *et al*, 1999)

## **e. Etude des caractères morphologiques microscopiques**

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium et des spores.

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et scotch et coloration. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (CHABASSE, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature et la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores. L'étude microscopique comprend :

- Le type de mycélium
- La forme des conidies (ovales, en aiguille, citrifformes, piriformes...)
- La Couleur des conidies

- La disposition des conidies (en chainettes, isolés groupés par deux...)
- La forme de conidiophores
- Le type de conidies
- La présence de structure de résistance (chlamydozspores)

## 2.5. Expression des résultats

### a. Calcule de pourcentage de germination des grains

Le nombre de grains germés est noté pour chaque boîte de Petri après 7 à 8 j d'incubation pour les des deux milieux semi-sélectif (milieu à base de Carbendazim et le milieu à base d'Iprodione). A la fin, le nombre total des graines obtenues par échantillon permet de calculer le taux de germination.

$$\text{Taux de germination en \%} = \frac{\text{Nombre de graines germées} \times 100}{\text{Nombre de graines ensemencé}}$$

### b. Calcule de pourcentage des grains infectés

Le pourcentage des grains infectés est calculé après 7 jours d'incubation des boîtes pour les deux milieux d'isolement,

$$\text{Pourcentage d'infection} = \frac{\text{Nombre de grains infectés} \times 100}{\text{Nombre de grains ensemencé}}$$

### c. Calcule de pourcentage des types de champignons

D'après l'observation des grains infectés sous microscopique optique par la technique de scotch, on note pour chaque prélèvement le type de champignon observé, ensuite on calcule le pourcentage de chaque type de champignon trouvé par échantillon.

### d. Calcule de pourcentage de contamination relatif

Pour chaque échantillon, le pourcentage de contamination relatif est calculé selon la formule suivante :

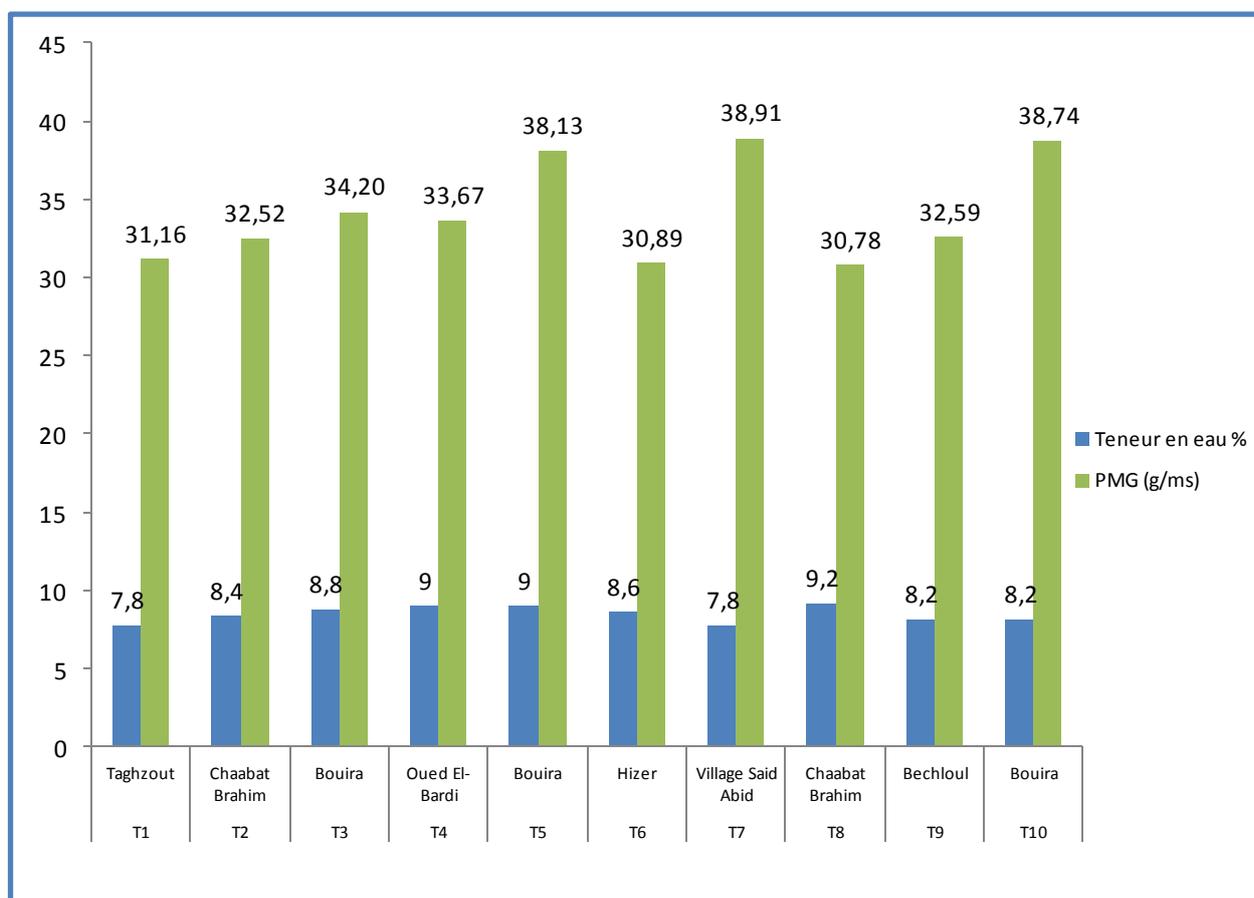
$$\text{Le pourcentage de contamination relatif} = \frac{\text{fréquence de colonisation d'un groupe fongique} \times 100}{\text{Fréquence de la colonisation totale}}$$



### 1. Détermination de poids de 1000 grains et la teneur en eau

#### 1.1. Blé tendre

En considérant le poids de mille grains des lots de grains de blé tendre mis dans l'essai objet de notre étude on constate d'après les résultats obtenus (Figure n° 17) une variabilité allant de 30,78 g, valeur observée pour l'échantillon collecté de Chaabat Brahim jusqu'à 38,90 g valeur observée pour l'échantillon collecté de village de Said Abid. Mais de façon générale, on observe des valeurs de PMG élevées dans la région de Bouira et Said Abid, et des valeurs plus faibles dans le reste des autres régions.

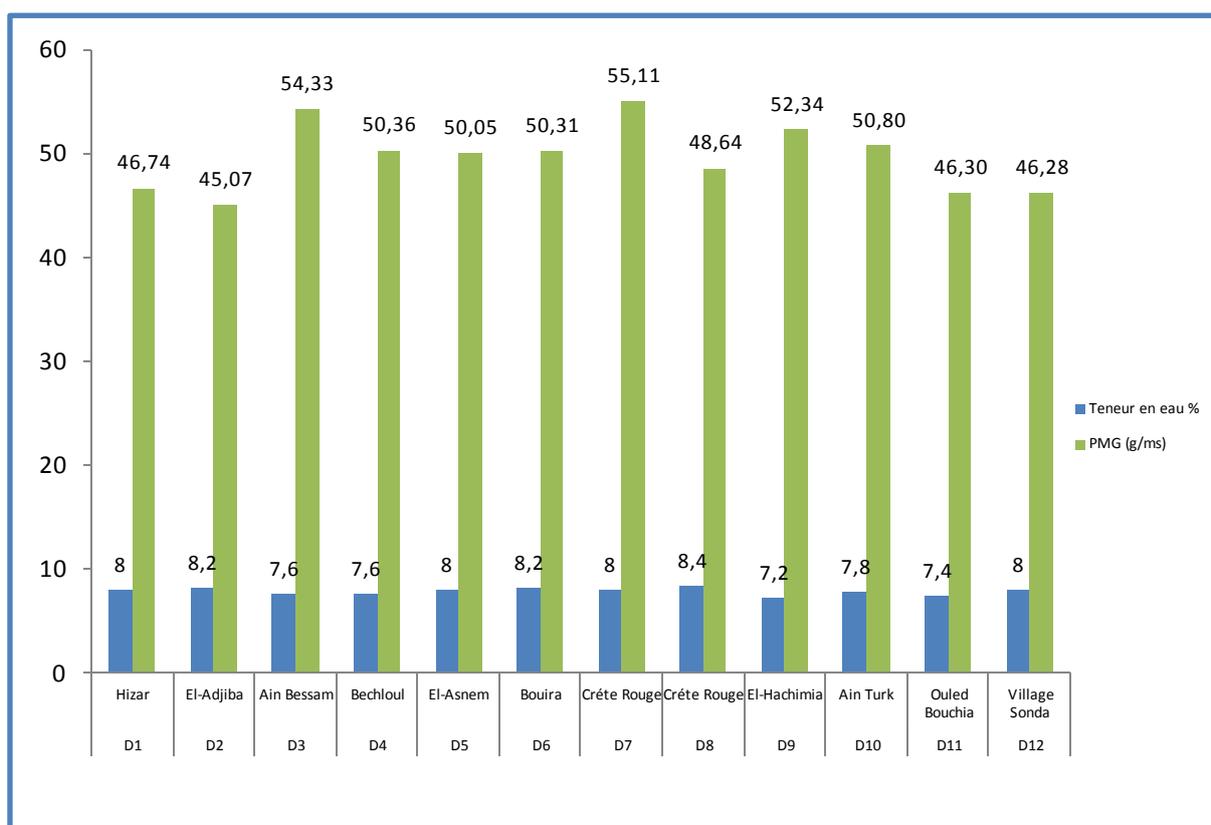


**Figure n° 17:** Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons de blé tendre

Pour la teneur en eau des échantillons de grains de blé tendre étudiés, les valeurs de ce paramètre varient entre 7,8% pour les régions de Taghzout et village Said Abid et 9,2% pour la région de Chabaat Brahim (Figure n° 17). Ces valeurs sont inférieures à la valeur maximale exigée du Codex STAND 178-1991 (14.5%), donc tous les échantillons se trouvent dans les normes requises.

### 1.2. Blé dur

Pour le poids de mille grains de grains de blé dur et d'après la figure n° 18, une variabilité allant de 45,07 g, valeur observée pour l'échantillon collecté d'El Adjiba jusqu'à 55,11g valeur observée pour l'échantillon collecté de village de Crête Rouge. On remarque que le PMG est élevé dans les deux régions de Crête rouge et Ain Bessam, pour le reste des régions ce paramètre est comparable.

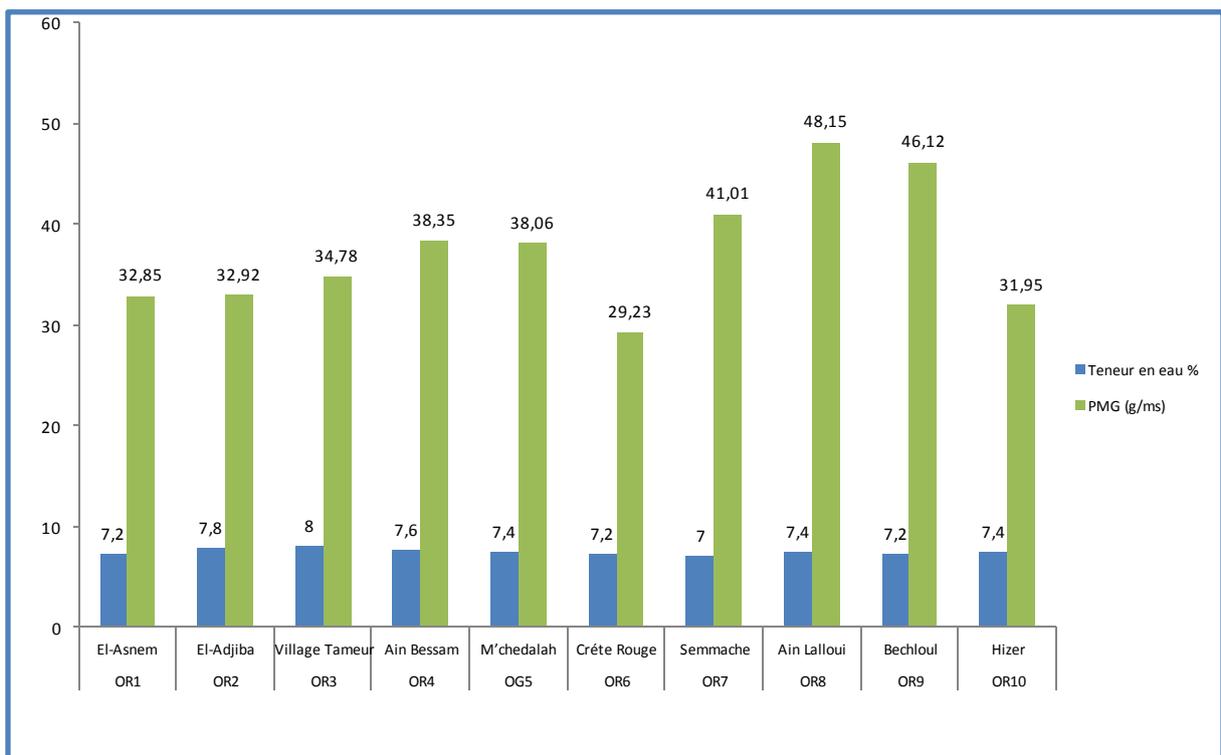


**Figure n° 18 :** Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons de blé dur

Les différentes valeurs d'humidité enregistrées dans les grains de blé dur sont variable ; elles sont comprises entre 7,2% pour le lot provenant de la région d'El Hachimia et 8,4% pour celui de la région de crête rouge (Figure n° 18). Ces valeurs sont inférieures à la valeur maximale exigée du Codex STAND 178-1991 (14,5%), donc elles sont dans les normes requises.

## 1.3. orge

Les résultats des mesures de poids de mille grains des dix échantillons de grains d'orge collectés des différentes régions céréalières de Bouira sont résumés dans la figure n° 19. Une variabilité importante est observée, ainsi le plus faible PMG est enregistré dans le cas des grains de la région de Crête rouge, le plus élevé est enregistré pour l'orge du village de Ain Lalloui, et il est de 48,15g. La teneur en eau de ces échantillons est également mesurée, Elle s'étale de 7% pour l'orge de Semmache à 8% pour celui de Village Tameur (Figure n° 19).



**Figure n° 19 :** Présentation graphique de poids de mille (1000) grains et de la teneur en eau des échantillons d'orge

Par ailleurs, il est à noter que le poids de mille grains est généralement peu maîtrisable, car il est fortement lié à l'effet de l'environnement au moment de la formation et du remplissage de la graine (ZOUAOUI, 1993 ; CHAKER, 2003). De plus sous les conditions de production des hautes plaines de l'est, cette composante subit le plus souvent l'effet du stress de fin de cycle, et de ce fait elle atteint rarement le potentiel génétique.

D'autre part, il faut savoir que la valeur de l'humidité des grains de céréales peut varier selon la législation de chaque pays. Aussi les critères de qualité exigés varient selon l'opérateur et le type de céréales (BELLI *et al*, 2004). L'humidité qui représente la quantité d'eau libre disponible dans l'échantillon est responsable de plusieurs phénomènes d'altération biologique de l'aliment notamment mycologique. Les faibles teneurs en humidité relative permettent de classer les échantillons dans la catégorie des produits peu hydratés; avantage qui n'exclut pas leur contamination par une flore fongique xérotolérante prépondérante. Notant que beaucoup de produits pauvres en eau libre non altérables par les bactéries peuvent donc être altérés par les champignons (DURON, 1999).

### **1. Résultats d'isolement des champignons à partir des grains de céréales**

#### **1.1.Efficacité des deux milieux dans l'isolement des champignons à partir des grains**

Rappelons que nous avons utilisé pour l'isolement de la mycoflore à partir des grains de céréales deux milieux à base de peptone qui se différencient seulement par le produit antifongique (carbendazim ou iprodione).

La couleur et la dimension des colonies obtenues sur ces deux milieux sont semblables, il s'agit des colonies de couleurs blanche à rose très pale ou bien noire à croissance lente et limitée : le diamètre maximale est compris entre 0,5à 2,5cm après 15 jours d'incubation (figure n° 20) ce milieu inhibe généralement la production de pigments par les champignons. Ces deux milieux apparaissent très efficaces vis-à-vis de l'isolement de colonies. Ces dernières sont à croissances limitées ce qui limite le risque de contamination entre colonies et facilite leur dénombrement ; l'utilisation de milieux de routine tels que le PDA pour l'isolement pose des problèmes d'inter-contamination entre colonies à cause de la croissance illimitée de certains champignons sur un tel milieu (figure n° 21 ).

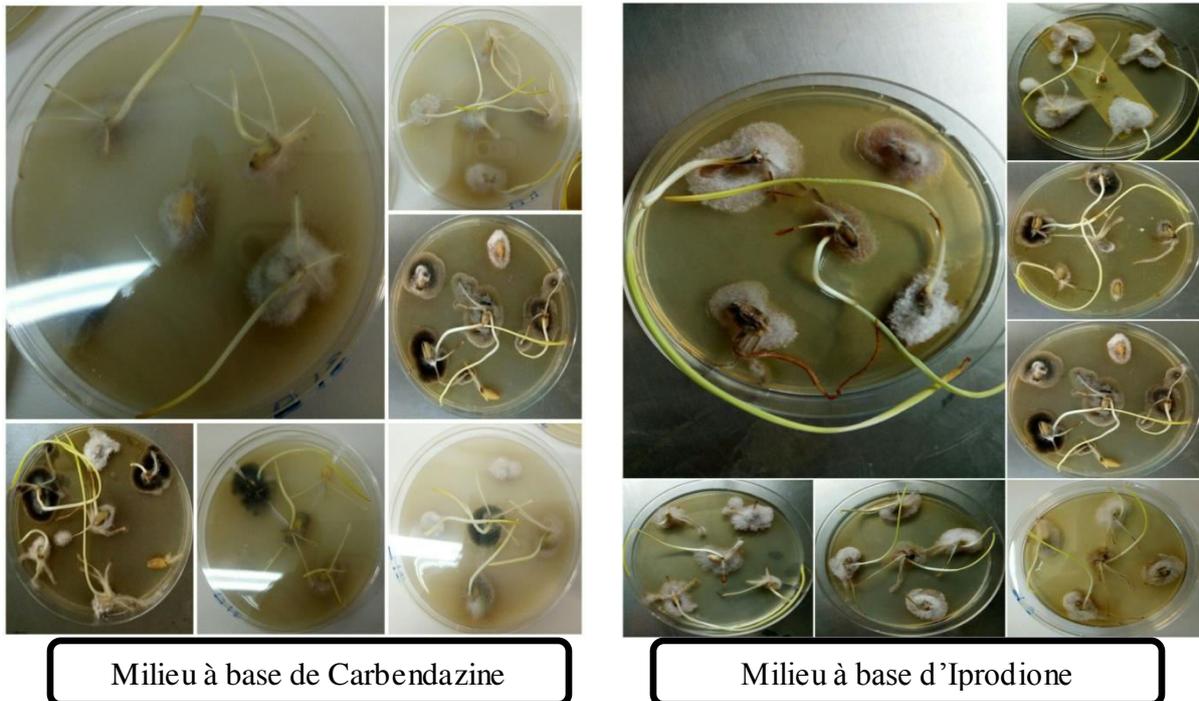


Figure n° 20: La croissance des colonies sur les deux milieux d'isolement après 15 jours d'incubation



Figure n° 21 : La croissance des colonies sur le milieu PDA après 15 jours d'incubation

### 1.2. La détermination de taux de grains de céréales colonisés par les champignons

Le taux des grains colonisés par les champignons dans les deux milieux est déterminé, les résultats sont présentés dans la figure n°22.

Pour le blé tendre, le pourcentage des grains contaminés dans le milieu à base de Carbendazim varie entre 36% et 92% avec une moyenne de  $73,09 \pm 18,8\%$ . Dans le milieu à base de l'Iprodione ce pourcentage varie de 22,22 à 88,89 avec une moyenne de  $66,67 \pm 17,57\%$ .

Dans le cas de grains de blé dur, le pourcentage de contamination ou de colonisation varie de 32 à 100% avec une moyenne de  $77,67 \pm 22,40\%$  pour le milieu à base de Carbendazim, et de 38,89% à 94,44% avec une moyenne de  $81,02 \pm 15,07\%$  pour le milieu à base d'Iprodione.

Pour l'orge, les grains contaminés présente un pourcentage qui varie entre 76% et 100% avec une moyenne de  $94,40 \pm 7,82\%$  pour le milieu à base de Carbendazim et entre 66,67 et 94,44% avec une moyenne de  $76,11 \pm 13,62\%$  pour le milieu à base d'Iprodione.

La différence dans les taux des grains contaminés dans les deux milieux peut être attribuée aux propriétés fongicides différentes des deux molécules utilisées. A cet effet l'Iprodione montre plus d'effet fongicide sur les contaminants des grains de céréales.



Figure n° 22: Taux des grains de blés et d'orge contaminés dans les deux milieux d'isolement

Le pourcentage de colonisation moyen des grains dans les deux milieux est 69,88%, 79,34% et 85,26% pour le blé tendre, blé dur et orge respectivement. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par LARRAN et al, (2007) qui menaient une étude sur les champignons endophytes chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Cette même source rapporte que les grains est la partie qui enregistre le taux d'infection le plus élevé (76.40%) par rapport aux autres organes de la plante. Ce résultat est en accord également avec les résultats de MANSOURI (2011), qui a réalisé une étude sur l'état de contamination chez 17 génotypes de blé dur en Algérie et a trouvé un pourcentage de contamination égale à 82%.

### 1.3.Détermination du taux de germination des grains dans les deux milieux

Les résultats de détermination des taux de germination dans les deux milieux sont résumés dans le tableau n° 09. Le taux de germination est élevé et il ne semble pas être influencé par le type de milieu mais plutôt par le type de céréale d'après les résultats ce paramètre ne semble pas être affecté non plus par le taux de contamination des grains puisque dans le cas de l'orge le taux de contamination est le plus élevé alors que le taux de germination est à 100%.

**Tableau n° 08** : Taux de germination de trois types de céréales dans les deux milieux d'isolement

Milieu	Taux de germination en %		
	Blé tendre	Blé dur	Orge
Milieu à base de carbendazim	95,64±4,18	90±4,97	100%
Milieu à base d'Iprodione	93,43± 6,49	87,96 ±8,49	100%

### 1.4. Identification de la mycoflore associé aux trois types de céréales

L'analyse directe des isolats obtenus sur les deux milieux de culture a permis l'identification de 17 genres fongiques à partir du milieu à base d'iprodione et 13 genres à partir du milieu à base de carbendazim.

Les genres isolés à partir du milieu à base de carbendazim sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Trichophyton*, et *Ulocladium*. Alors que les genres isolés à partir du milieu à base d'Iprodione sont les suivants : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Strachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, et *Ulocladium*.

L'identification des différents genres fongiques dans cette étude est basée sur des critères morphologiques, notamment ceux qui sont déterminés par les structures reproductrices (LANIER *et al*, 1976, 1978; NELSON *et al*, 1986, TAYLOR *et al*, 2004; DEACON, 2006, WOUDEBERG, 2013). L'identification de la majorité des isolats est faite directement à partir des deux milieux d'isolement sans nécessité de passer par le milieu SNA et PDA. Dans le cas où les colonies ne présentent pas des spores sur ces milieux, la colonie est repiquée sur SNA, ce dernier étant pauvre provoque la sporulation des champignons et le milieu PDA est utilisé pour la caractérisation macroscopique.

Les figures n° 23, 24, 25, 26, 27, 28,29 et 30 montrent quelques champignons isolés dans cette étude observés par microscope photonique. Les données obtenues montrent une plus grande diversité fongique dans le milieu à base d'Iprodione.

Il est à noter qu'il s'est révélé difficile, voir impossible de caractériser d'autres genres ou espèces eut égard aux limites imposées par le temps et la disponibilité des clés d'identification, ainsi que par la confusion entre les différentes formes reproductrices asexuées.

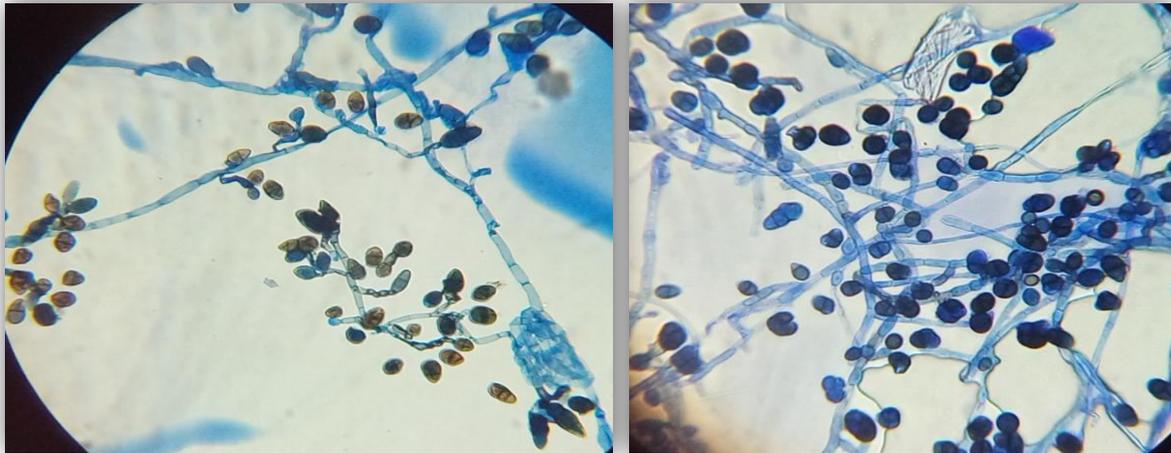


Figure n° 23 : *Ulocladium* isolés sur orge

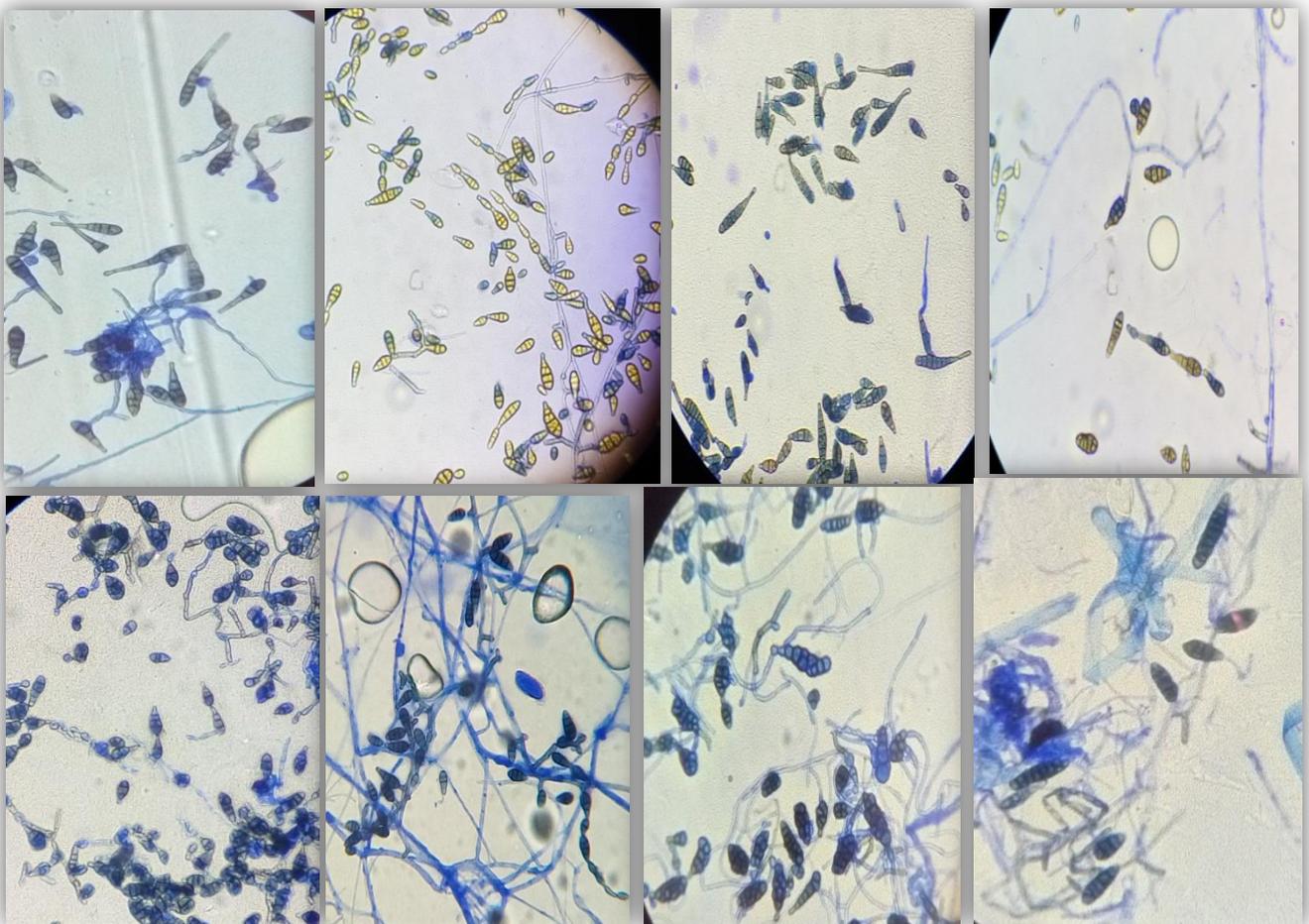


Figure n° 24 : Diversité des *Alternaria* isolé sur les grains de céréales (8 espèces) (G×40)

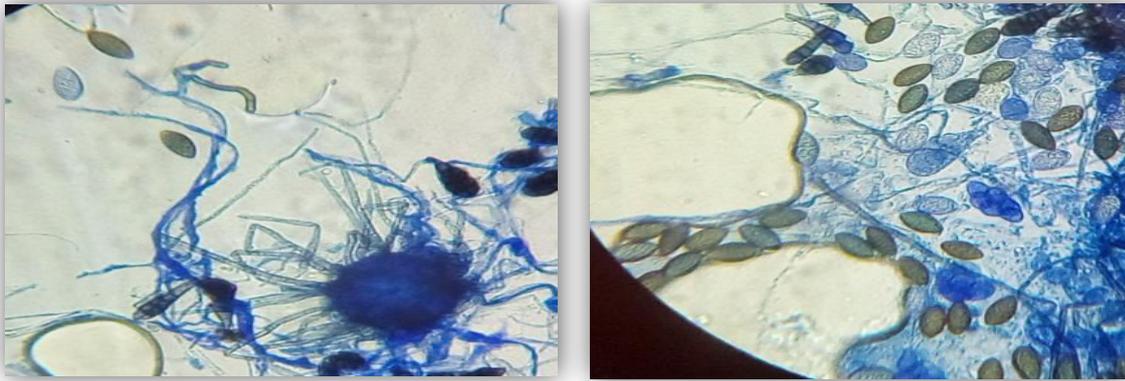


Figure n°25 : Cléistothèque de *Chaetomium* et ascospore (GX40)

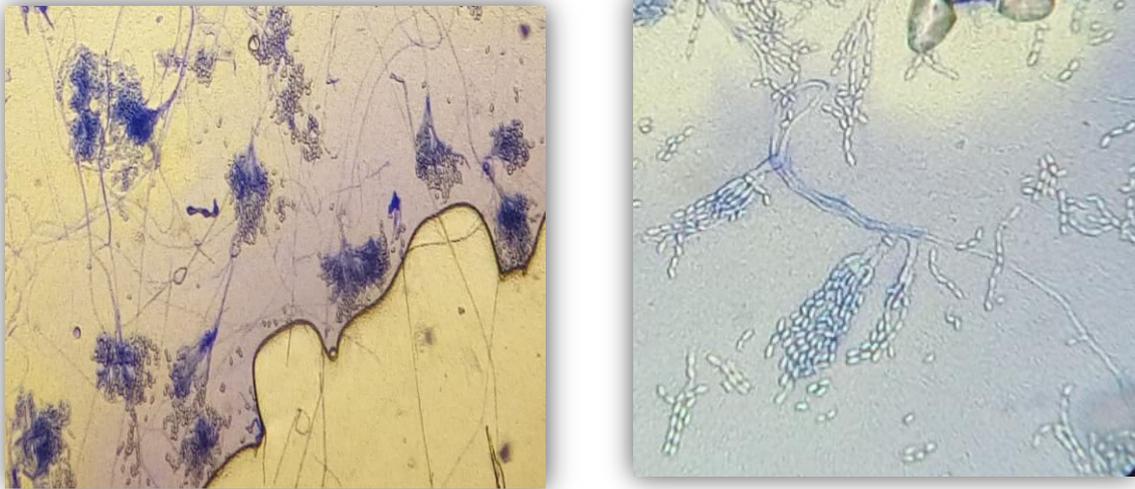


Figure n° 26 : Deux (2) espèces de *Penicillium* isolées (GX40)



Figure n° 27 : *Rhizopus* (GX40)

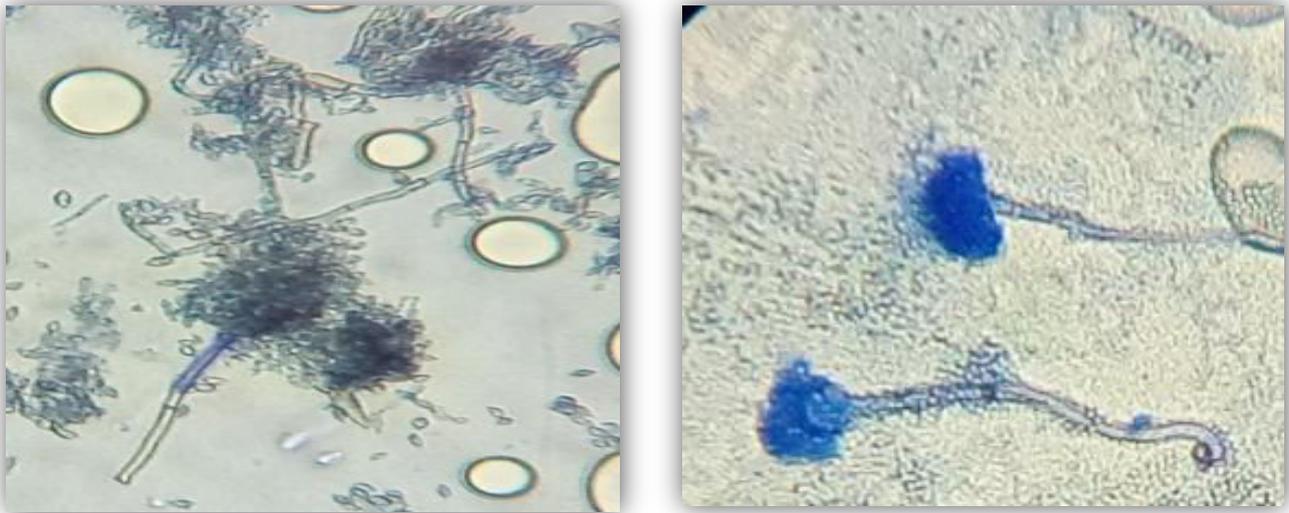
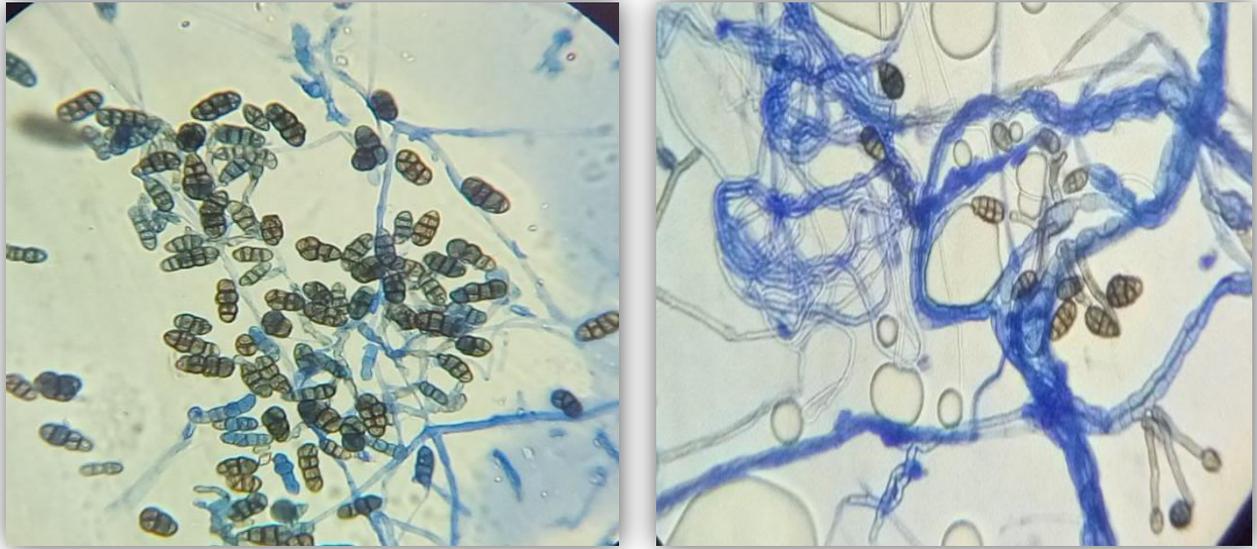


Figure n° 28 : Deux différents espèce d'*Aspergillus* (GX40)

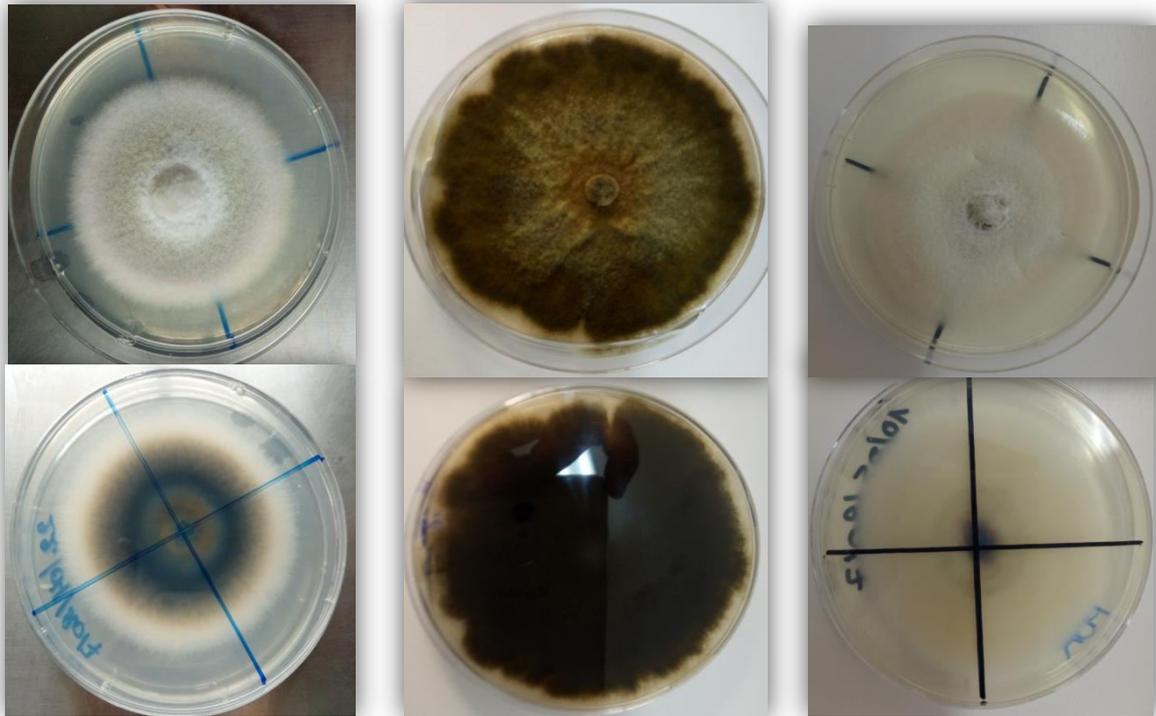


Figure n° 29 : *Strachybotrys* (à gauche) *Helminthosporium* (au centre) et *cladosporium* (à droite) (GX40)



**Figure n° 30 :** *Stemphylium* à gauche et *Pithomyces* à droite (GX40)

Les espèce de genre *Alternaria* sont présents dans tous les échantillons de grains de céréales analysés , les colonies de ces champignons se présentent sous deux formes sur les milieux d'isolement , ainsi on rencontre soit des colonies de couleur noire produisant en abondance des conidies facilement reconnaissable par observation microscopique, soit des colonies de couleur rose très pale produisant peu ou pas de conidies, dans le cas où il ya absence de conidies le repiquage sur milieu SNA est nécessaire , ce milieu étant très pauvre provoque la formation des conidies caractéristiques de genre *Alternaria* . a ce titre, il ya lieu de signaler une diversité des formes de ces conidies traduisant une diversité des espèces (figure n° 31). Les colonies formées sur PDA sont également variables, mais on aremarqué que les colonies noires sur les milieux d'isolement sont également noire sur PDA, et les colonies rose pale sur le milieu d'isolement donnent des colonies non ou très faiblement sporulant de couleur plus ou moins clair (figure n° 32)



**Figure n° 31** : Diversité des colonies *d'Alternaria*

### 1.5. Fréquence des différents genres fongique

Le pourcentage de contamination relatif des différents genres détectés dans les trois types de céréales et dans chaque milieu d'isolement est présenté dans les figures n°32 et 33.

Le genre *Alternaria* est le plus dominant dans tous les types de grains et dans les deux milieux, sa fréquence diffère de 54,35% pour les grains d'orge dans le milieu à base d'Iprodione et 74,78% pour les grains de blé dur dans le milieu à base de Carbendazim, cette fréquence est plus importante dans le milieu à base de Carbendazim pour tous les types de céréales.

En 2<sup>ème</sup> position on trouve le genre *Ulocladium* avec un pourcentage de contamination relatif qui varie entre 12,9 et 23,7%, les autres genres présents des pourcentages plus faibles inférieur à 5%.

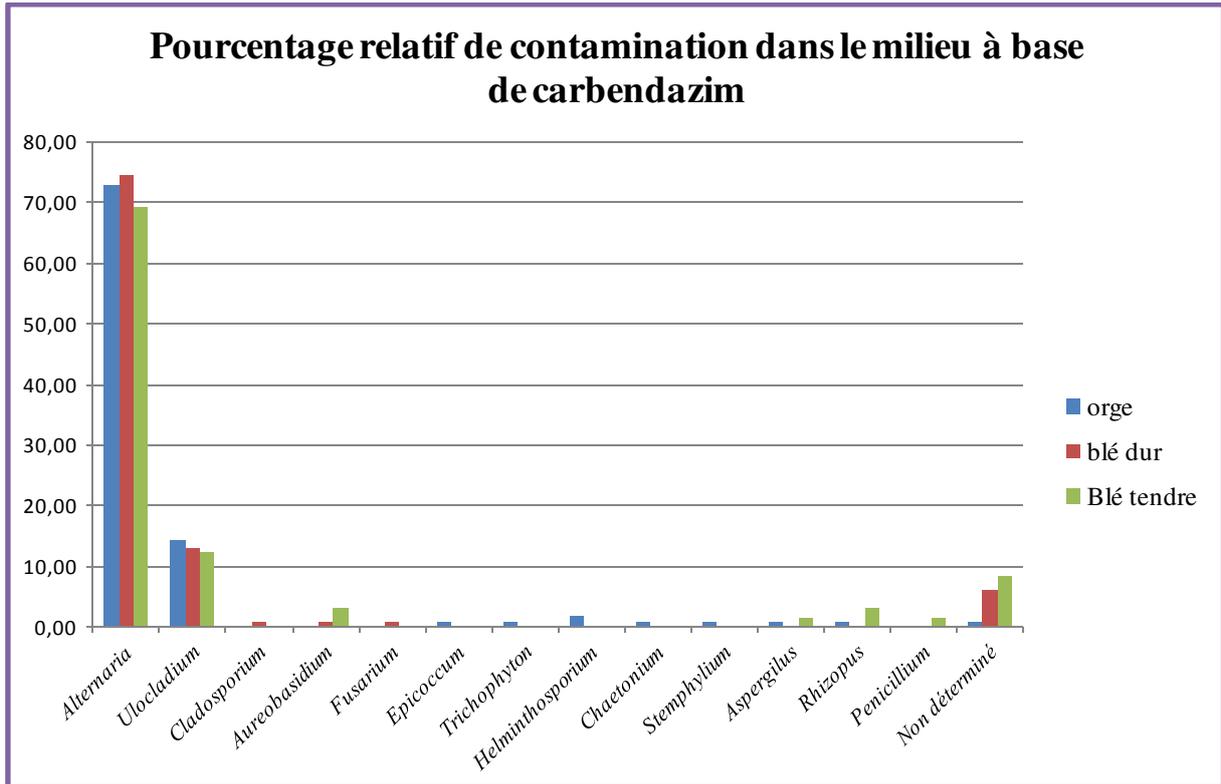


Figure n° 32 : Pourcentage de contamination relatif des trois céréales dans le milieu à base de Carbendazim

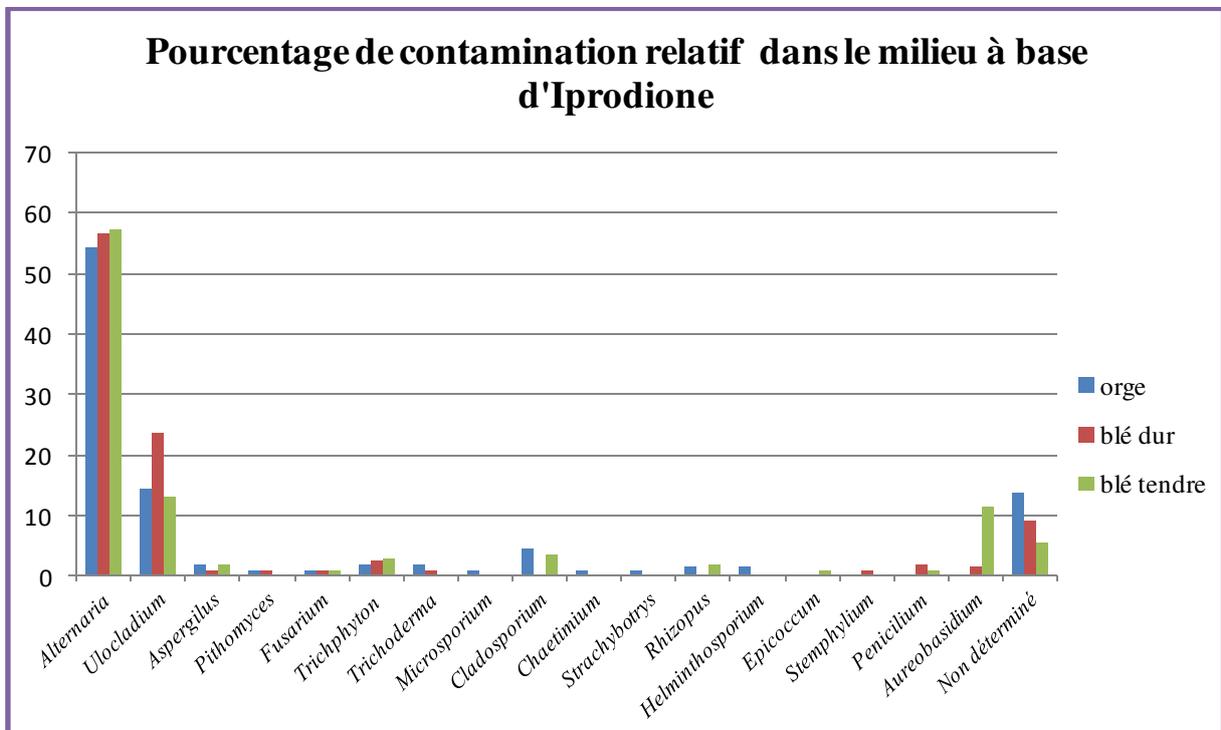
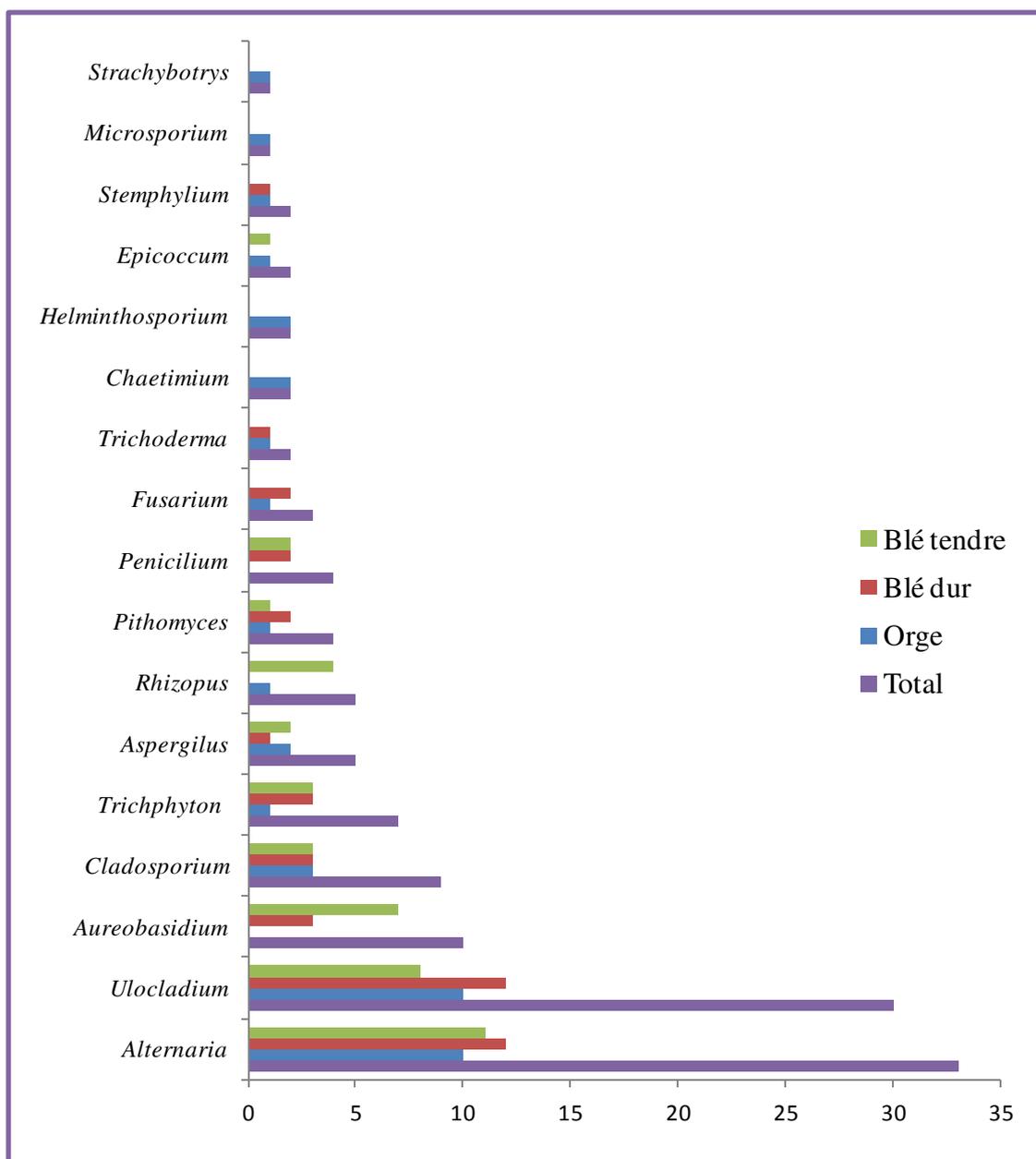


Figure n° 33 : Pourcentage de contamination relatif des trois céréales dans le milieu à base d'Iprodione

Il ya lieu à signaler que le nombre de genre présent par type de céréales et par type de milieu varient, ainsi en remarque généralement que ce nombre est plus élevé pour le milieu à base d'Iprodione pour tous les type de céréales, ce nombre est également plus important chez l'orge dans tous les milieux, ainsi le plus grand nombre de genre est présent dans les grains d'orge dans le milieu à base d'Iprodione (10 genre).

Le nombre d'échantillons contaminés par chaque genre fongique détectés et présenté dans la figure n° 34, on constate que la moitié des genres fongiques identifiés (08 genres sur les 17 identifiés) sont faiblement détectés dans les échantillons (nombre d'échantillons  $\leq$  03), alors que les genres très couramment détectés sont *Alternaria* et *Ulocladium*.



**Figure n°34** : Nombre d'échantillons contaminés par chaque genre fongique

Certains genres identifiés dans cette étude appartiennent à la flore de champs, ces genres sont *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Helminthosporium*, *Chaetomium*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (SAUER *et al.*, 1982 ; ZILLINSKY, 1983). Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (DENDY *et al.*, 2000).

D'autres genres peuvent être classés parmi la flore de stockage, ces genres sont *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leurs capacités de se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (MATHEW *et al.*, 2011).

La plupart des genres fongiques rencontrés dans notre travail appartiennent aux Deutéromycètes (*Fusarium*, *Alternaria*, *Pithomyces*, *Ulocladium*, *Aureobasidium*, *Stemphylium*, *Trichophyton*, *Microsporium*) alors que les autres appartiennent au phylum des Ascomycètes (*Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Trichoderma*). Pour le phylum de Zygomycetes on retrouve seulement le genre *Rhizopus*. Ces données sont en accord avec celles rapportées par MANSOURI (2011).

La dominance de genre *Alternaria* dans les échantillons de grain de céréales a été rapportée par plusieurs auteurs. MANSOURI (2011) a rapporté un pourcentage d'occurrence relatif de 70% pour ce genre fongique dans les grains de blé dur en Algérie. D'après FISHER et PETRINI, (1992), *Alternaria alternata*, *Epicoccum purpurascens* et *Nigrospora oryzae* sont les champignons ayant les fréquences d'occurrences les plus élevées dans les grains du riz. Aussi pour le blé tendre, LARRAN *et al.*, (2007) rapportent que *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum* et *Epicoccum nigrum* sont les plus présents des taxons sur les grains. Les genres fongiques détectés dans cette étude sont isolés à partir de grains sains, il semble qu'ils soient non pathogènes ou ils sont pathogènes mais en stade de latence. Leur détection permet la détermination des maladies propagées dans les champs de culture de blé (MANSOURI, 2011).

Le taux de contamination des grains dans le milieu à base de Carbendazim était plus élevé que celui calculés sur le milieu à base d'Iprodione alors que la diversité des genres fongiques était plus importante dans le milieu à base d'Iprodione Ceci peut être expliquer par le fait que l'Iprodione a exercé un effet inhibiteur sur la croissance de certaines espèces d'*Alternaria* ; cette inhibition a permis probablement aux autres genres fongiques ayant une vitesse de croissance moins importante que les espèce de genre *Alternaria* de se développer. Cette hypothèse est argumentée par deux faits :

- Le pourcentage de contamination relatif du genre *Alternaria* dans le milieu à base d'Iprodione pour les trois types de céréales est plus faible que celui rencontrés pour le milieu à base de Carbendazim
- Les fongicides de synthèse à base d'Iprodione sont homologués pour la lutte contre l'alternariose des cultures maraichères en Algérie (DPVCT, 2015).

### Conclusion générale

Au cours de notre travail, menée sur l'étude de la flore fongique isolée à partir des échantillons des grains de blé et d'orge collectés de différentes régions de la wilaya de Bouira, l'objectif fut l'étude d'isolement et d'identification de la mycoflore de ces échantillons.

Pour répondre à cet objectif, des échantillons représentatifs (12 échantillon de blé dur, 11 échantillons de blé tendre et 10 échantillons d'orge) ont été analysés en utilisant deux milieux de culture additionnés de deux molécules antifongiques à mode d'action différents.

La différence dans les taux des grains contaminés dans les deux milieux peut être attribuée aux propriétés fongicides différentes des deux molécules utilisées. À cet effet l'Iprodione montre plus d'effet fongicide sur les contaminants des grains de céréales.

L'analyse directe des isolats obtenus sur les deux milieux de culture a permis l'identification de 17 genres fongiques à partir du milieu à base d'Iprodione et 13 genres à partir du milieu à base de Carbendazim.

Le genre *Alternaria* est le plus dominant dans tous les types de grains et dans les deux milieux, sa fréquence diffère de 54,35% pour les grains d'orge dans le milieu à base d'Iprodione et 74,78% pour les grains de blé dur dans le milieu à base de Carbendazim, cette fréquence est plus importante dans le milieu à base de Carbendazim pour tous les types de céréales.

En 2<sup>ème</sup> position on trouve le genre *Ulocladium* avec un pourcentage de contamination relatif qui varie entre 12,9 et 23,7%, les autres genres présents des pourcentages plus faibles inférieurs à 5%.

Les résultats ont montré que le pourcentage de colonisation moyen des grains dans les deux milieux est 69,88%, 79,34% et 85,26% pour le blé tendre, blé dur et orge respectivement.

Les études de l'identification ont permis de déterminer 17 genres fongiques qui sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Strachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, et *Ulocladium*. Ceci montre la richesse de ces grains en champignons microscopiques avec une dominance du genre *Alternaria* dans tous les échantillons.

Au terme de ce travail, il sera intéressant de compléter et de développer le sujet par les études suivantes :

- Une identification des espèces dans le but d'avoir une idée plus complète sur la mycoflore associée aux grains de céréales.
- Une étude approfondie de la biodiversité au site de prélèvement.
- Une identification des mycotoxines produites par ces champignons sur les grains
- La recherche des espèces productrices des métabolites d'intérêt industriel et biotechnologique (Enzymes, antibiotiques....etc)

---

## Références Bibliographiques

**ADAMS, M.R., MOSS, M.O. (2008).** Food microbiology. RSC Publishing. The Royal Society of Chemistry. Third Edition, 463p.

[AFSSA], (2006). "Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique"

**AIDANI, H. (2015).** Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées. « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif .Cas de blé dur dans la région de Tlemcen » : mémoire de Master : Production et Amélioration des plantes. Algérie: Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 82p.

**AKINSANMI, O.A., MITTER, V., SIMPFENDORFER, S., BACKHOUSE, D., ANDERSEN, B., KROGER, E., ROBERTS, R. G. (2002).** Chemical and morphological segregation of *Alternaria Arborescens*, *Alternaria Infectoria* and *Alternaria Tenuissima* species-groups. Mycological Research. Vol 16,170-180p.

**ANDREWS, S., PITT, J.I. (1986).** Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous Hyphomycetes from cereals: Microbiology, 1235-1238p.

**ANNE-LAURE, B. (2007).** Etude de l'effet de composés du grain de blé dur sur la régulation de la voie de biosynthèse des trichothécènes B : purification de composés inhibiteurs, analyse des mécanismes impliqués. Thèse de doctorat : Alimentation et nutrition. Paris: Université Bordeaux 1, 202p.

**BARRON, C., BADR, A., MÜLLER, K., SCHÄFER, R., EL RABEY, H., IBRAHIM, H.H., POZZI, C., SURGET, A., ROUAU, X. (2007).** Relativ amounts of tissues in mature wheat (*Triticumaestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. Journal of Cereal Science 45, 88-96p.

**BAUER, J., GAREIS, M. (1987).** Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette. *Journal of Veterinary Medicine.* 34, 613p.

**BELAY, G. (2006).** Le blé dur, histoire d'une sélection millénaire. in : Le magazine des semences et du monde végétal : 3p.

**BELLI, N., MARIN, S., SANCHIS, V., RAMOS, A. J. (2004).** Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section Nigri obtained from grapes. International Journal of Food Microbiology, 96, 19-27p.

**BENNETT, J.W., KLICH, M., (2003).** Mycotoxins, *Clin. Microbiol. Rev.*, 16, 497-516p

**BOTTON, B., BRETON, A., FEVRE, M., GAUTHIER, S., GUY, P.H., LARPEN, J.P., REYMOND, P., SANGLIER, J.J., VAYSSIER, Y & VEAU P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies, 34-428p.

**BOTTON, B., BRETON, A., FEVRE, M., GAUTHIER, S., GUY, P., LARPENT, J.P., REYMOND, P., SANGLIER, J.J., VAYSSIER, Y., VEAU, P. (1999).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Paris : Masson, 12-426p.

**BOULAL, H., EL MOURID, M., REZGUI S., ZEGHOUANE, O. (2007).** Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Algérie : ITGC, INRA Algérie et ICARDA. 176 p.

**BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F., ZUCCA, J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris, 216-244p.

**BOURRAS, L. (2001).** Effet du stress hydrique sur les composantes du rendement de quelques géotypes de blé dur. Thèse de Magistère .Alger : INA El Harrach, 189p

**BOZZINI, A. (1988).** Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In: Fabriani G. & Lintas C. Durum: Chemistry and Technology. Etats-Unis: AACC (Minnesota), 1-16p.

**CHABASSE, D. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, 25-27p.

**CHAKRABORTY, S. (2004).** Identity and pathogenicity of *Fusarium spp* isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. *Australian Journal of Agricultural Research* **55**, 97-107p.

**CHAKER, A. (2003).** Etude de l'effet des stress thermiques (chaleur et froid) sur quelques paramètres physiologiques et biochimiques du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire. Magister. Université Badji Mokhtar de Annaba (UBMA).78p.

**CHEFTEL, J.C., CHEFTEL, H. (1977).** Introduction a la Biochimie et a la Technologie des aliments.II. Graines végétales. Technique et Documentation-Lavoisier, 105-130p.

**CHERMETTE, R., BUSSIERAS, J. (1993).** Parasitologie vétérinaire Mycologie, Edité par le service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaires de Maisons-Alfort.5p.

**CHRISTENSEN CLYDE, M., KAUFMANN HENRY, H. (1969).** Grain storage. The role of fungi in quality loss. Minnesota archive Editions, 153p.

**CLEMENT, J.M. (1981).** Dictionnaire Larousse Agricole. France : Librairie Larousse. ISBN 2-03-514301-2. 1207p.

**DEACON, J. (2006).** Fungal biology. 4ème edition. Blackwell Publishing. London. 371p.

**DENDY, D.A.V., DOBRASZCZYK. (2000).** Cereals and Cereal Products: Technology and Chemistry. Springer, 370p.

**DEXTER, J.E., MATSUO, R.R. (1977).** Changes in semolina proteines during spaghetti processing. *Cereal Chem.* N° 54.882 – 894p.

**DIJKSTERHUIS, JAN., SAMSON ROBERT, A. (2007).** Food mycology. A multifaceted Approach to fungi and food. CRC Press, 403P.

**DOUMANDJI, A., DOUMANDJI-MITICHE, B., SALAHEDDINE, D. (2003).** Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, 1-22p.

**[DPVCT]** Direction de la Protection des Végétaux et Contrôles Techniques. 2015. Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Alger : Ministère de l'agriculture et du développement rural. [Internet]. Available from: [http://www.inpv.edu.dz/institut/wp-content/uploads/2016/03/INDEX\\_PRODUIITS\\_PHYTO\\_2015.pdf](http://www.inpv.edu.dz/institut/wp-content/uploads/2016/03/INDEX_PRODUIITS_PHYTO_2015.pdf) .Consulté le 20 janvier 2017.

**[DSA]** Direction des Sciences Agronomique, 2016. Les statistiques agricoles du 2015. Data fourni sous format Excel le mois de décembre 2016.

**DURON, B.S. (1999).** Le Transport Maritime des Céréales. Mémoire de D.E.S.S. Université d'Aix-Marseille, 81 p.

**FEILLET, P. (2000).** Le grain de blé, composition et utilisation: Mieux comprendre. Paris, France : Edition INRA, 308p.

**FILTENBORG, O., FRISVAD, J.C., THRANE, U. (1996).** Moulds in food spoilage, *Int. J. Food Microbiol.*, 33(1), 85-102p.

**FISHER, P.J., PETRINI, O. (1992).** Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa* L.). *New Phytologist*, 120,137-143p.

**FLAMINI, G., LUIGI CIONI, P. (2003).** Activity of Plant Extracts, Essential Oils, and Pure Compounds Against Fungi Contaminating Food stuffs and Causing Infections in Human.

**JOUANY, J. P., YIANNIKOURIS, A. (2002).** Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. INRA Productions Animales, 3-16p.

**HADDAD, K., CRUTSINGER, G.M., GROSS, J., TILMAN, D.(2009).** Plant species loss decreases arthropod diversity and shifts trophic structure. *Ecology letters* 12, 1029-1039p.

**HARRIGAN, W.F., MCCANCE, M.E. (1976).** Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic press: London, 21-277p.

**GACEM, M.A. (2012).** Étude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie). *Alg.J.Env. p* : 67-76.

**GERLACH, W., NIRENBERG, H., FORSTWIRTSCHAFT, B. B. FÜR, L. (1982).** The genus *Fusarium*: a pictorial atlas. : Kommissionsverlag P. Parey, 412 p.

**GHIASIAN, S.A., BACHEH, P. K., REZAYAT, S. M., MAGHSOOD, A. H., TAHERKHANI, H. (2004).** Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*, 158, 113–121p.

- GODON, B. (1991).** Biotransformation des produits céréaliers. Technique & documentation Lavoisier, Paris, 221p.
- GODON, B., LOISEL, W. (1997).** Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. *Edition Technique et Documentation Lavoisier*. Paris, 819 p.
- GRAINWIZ.** Offre et demande des céréales dans le monde [en ligne]. (12/10/2016). <http://www.grainwiz.com/lab/supply-demand/7/1/1>
- GRILLOT, G. (1959).** La classification des orges cultivées (*Hordeum sativum* Jessen). An. Amél. Plantes, Ser.B. 4:446-486.
- GUIRAUD J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris, 7-330p.
- KENT, N.L., EVERS, A.D. (1994).** Technology of Cereals.4<sup>th</sup> edition. Oxford: Pergamon Press Ltd.
- LANIER, L., JOLY, P., BONDOUX, P., BELLEMERE, A. (1976).** Mycologie et Pathologie Forestière, Volume II: *Pathologie forestière*. Edition Masson, 478 p.
- LANIER, L., JOLY, P., BONDOUX, P., BELLEMERE, A. (1978).** Mycologie et Pathologie Forestière, Volume I : Mycologie forestière. Edition Masson, 487 p.
- LARRAN, S., PERELLO, A., SIMON, M.R., MORENO, V. (2002).** Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. World J Microbiol Biotechnol 18: 683-686p.
- LARRAN, S., PERELLO, A., SIMON, M.R., MORENO, V. (2007).** The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.). World J Microbiol Biotech 23,565-572p.
- LEVEAU, S. B., BOUIX, M. (1993).** Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier Apria, 110-163p.
- LILIANA, A. A. O. (2014).** Autophagie, sénescence et remobilisation de l'azote chez l'orge. Thèse de doctorat. France : Université Paris-Sud, 164p.
- MAGAN, N., LACEY, J. (1988).** Ecological determination of mould growth in stored grain. International Journal of Food Microbiology Elsevier, 245- 256p.
- MAGAN, N., HOPE, C.V., ALDRED, D. (2003).** Post – harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. Euro. J. Plant. Pathol 109, 723-730p.
- MAGAN, N., OLSEN, M. (2004).** Mycotoxines in food: Detection and control. *F.Sc.Technol*, 190-203p
- MAHIDEB, N., MERROUCHE, H. (2015).** Etude des moisissures potentiellement productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non traités).thèse de Master : Biotechnologie des Mycètes. Constantine : Université des Frères Mentouri, 69p.

- MANSOURI, A. (2011).** Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum*. Desf): Occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique. Mémoire de magister université de Hadj Lakhdar Batna, 127p.
- MATHEW, S., THOMAS, G., TUFAIL, A. (2011).** An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal Journal of Biotechnology.*, Vol 1, 9-13p.
- MILLS, J.T.(1990).** Mycotoxins and fungi on cereal grains in western Canada. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 68, 982-986p.
- MOLINIE, A., FAUCET, V., CASTEGNARO, M., PFOHL-LESZKOWICZ, A. (2005).** Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *F. Chem.*, 391-400p.
- MONNEVEUX, P.H. (1991).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? In : CHALBI DEMARLY, Y. Eds. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. AUPELF-UREF. Ed: John Libbey. INSA INRA: 165-186p.
- MORSLI, L. (2010).** Adaptation du blé dur (*triticum durum* desf) dans les conditions des hautes plaines constantinoises. Thèse de doctorat : Biologie végétale et Amélioration des plantes .Annaba : Université Badji Mokhtar, 73p.
- MULTON, J.L. (1982).** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique et Documentation, Paris : Paris, 576p
- NEERGAARD, P. (1977).** Seed pathology. Vol1. MacMillan, 1187p.
- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A., MARASAS, W.F.O. (1983).** *Fusarium* species - An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA, 193 pp. *Studies in Mycology* 75: 171–212p.
- OLSSON, J. (2000).** Modern Methods in Cereal Grain Mycology. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Microbiology, Agraria, 37-241p.
- [ONFAA] Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires, 2015. Le commerce international des céréales, Bilan de la campagne céréalière 2014/2015, 3-5p.
- PACIN, A.M., GONZÁLEZ, H.H.L., ETCHEVERRY, M., RESNIK, S.L., VIVAS, L., ESPIN, S. (2002).** Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia*, 156, 87–92p.
- PFOHL-LESZKOWICZ, A. (1999).** Métabolisation des mycotoxines. Effets biologiques et pathologies Ecotoxicogénèse. Dans « Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque » de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. *Technique et Documentation*, Paris, 18- 35p.

- PITT, J.L. (1988).** Laboratory guide to common *Penicillium* species. Academic Press, London
- PLANETOSCOPE**, conso globe (La planète vivante). Statistique mondiale en temps réel [en ligne]. (13/12/2016). <http://www.planetoscope.com>
- RINALDI, C., SUTTON, A. & FOTHERGILL, S. R. (1998).** The morphology of fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 123-129p.
- ROBERTS, T.A. (2005).** Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer, 776p.
- ROHDE, W., AND SALAMINI, F. (2000).** On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution* **17**, 499–510p.
- SAUER, D.B., STOREY, C.L., ECKER, O., FULK, D.W. (1982).** Fungi in U.S. Export wheat and corn. *Postharvest Pathology and Mycotoxins*, **11**, 1449p.
- SCOTTI, G. (1997).** Analyses physicochimiques, partie I, analyse physiques des grains de blé tendre et de blé dur, chap. 5. 76-119. In : (guide pratique d'analyse dans les industries des céréales). 79p.
- SOUILAH, N. (2009).** Diversité de 13 génotypes d'orge (*Hordeum vulgare L.*) et de 13 génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum L.*) : Etude des caractères de production et d'adaptation. Thèse de Magister. Constantine : Université de Mentouri, 190p.
- TAYLOR, J. W., SPATAFORA, J., O'DONNELL, K., LUTZONI, F., JAMES, T., HIBBETT, D. S., GEISER, D., BRUNS, T. D., BLACKWELL, M. (2004).** The fungi. In CRACRAFT J. et DONOGHUE, M. J. (Eds.) *Assembling the Tree of Life*. Oxford University Press, 171-194p.
- VAN DER BURGT, G.J.H.M., TIMMERMANS, B.G.H. (2009).** *Fusarium* in wheat. Effects of soil fertility strategies and nitrogen levels on mycotoxins and seedling blight. LBL Publication.
- WOUDENBERG, J. H. C., GROENEWALD, J. Z., BINDER, M., CROUS, P.W. (2013).** *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* **75**: 171–212p.
- ZILLINSKY, F.J. (1983).** Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. Cimmyt, 141p.
- ZOUAOU, G. (1993).** Etude en F1 et F2 des hybrides issus du croisement de 05 variétés de blé dur : détermination génétique des principaux caractères à intérêt agronomique. Mémoire d'Ingénieur d'Etat. INA, El Harrach. Alger. 70p.

## Annexe 1

### **PDA (Potato Dextrose Agar)**

Avant utilisation, ce milieu peut être stocké jusqu'à une semaine à température ambiante et à l'abri de la lumière directe ou jusqu'à 3 mois à  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  à l'abri de la lumière directe.

#### **Pour un litre de milieu :**

- PDA en poudre prêt à l'emploi :  $39\pm 1$  g
- H<sub>2</sub>O distillée :  $1000\pm 10$  ml

### **SNA (Spezieller Nährstoffärmer Agar)**

Composition tirée de GERLACH and NIRENBERG (1982)

Avant utilisation, ce milieu peut être stocké jusqu'à une semaine à température ambiante et à l'abri de la lumière directe ou jusqu'à 3 mois à  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  à l'abri de la lumière directe.

#### **Pour un litre de milieu :**

- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> :  $1.0\pm 0.1$  g
- KNO<sub>3</sub> :  $1.0\pm 0.1$  g
- MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O :  $0.5\pm 0.1$  g
- KCl :  $0.5\pm 0.1$  g
- Glucose :  $0,20\pm 0.05$  g
- Saccharose :  $0,20\pm 0.05$  g
- Agar :  $20\pm 1$  g
- H<sub>2</sub>O distillée :  $1000\pm 10$  ml

## Annexe 2

### Milieu à base de Carbendazim (1L)

• Peptone bactériologique .....	15.0±1.0 g
• K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.0±0.1 g
• MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0.5±0.1 g
• Streptomycine (solution éthanolique) .....	2.0±0.1 ml
• Carbendazim .....	0.5±0.1 g
• Crystal violet en solution aqueuse : .....	1.0±0.1 ml
• agar .....	15.0±1.0 g
• H <sub>2</sub> O distillée .....	1000±10 ml

### Milieu à base d'Iprodione (1L)

• Peptone bactériologique .....	15.0±1.0 g
• K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.0±0.1 g
• MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0.5±0.1 g
• Streptomycine (solution éthanolique) .....	2.0±0.1 ml
• Iprodione.....	1.0±0.1 ml
• Crystal violet en solution aqueuse : .....	1.0±0.1 ml
• agar .....	15.0±1.0 g
• H <sub>2</sub> O distillée .....	1000±10 ml

## Résumé :

L'objectif de ce travail est d'isoler et d'identifier les différents genres fongiques à partir de 33 échantillons de blé et d'orge collecté de différentes régions de la wilaya de Bouira. Après l'isolement sur milieu de culture semi sélectif et/ou la caractérisation de ces champignons sur milieux PDA et SNA. Les taux de colonisation des grains par les champignons est de 69,88%, 79,34% et 85,26% pour le blé tendre, blé dur et orge respectivement. Ces études ont permis de déterminer l'identification du 17 genres fongiques qui sont *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Strachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, et *Ulocladium*. Ceci montre la richesse de ces grains en champignons microscopiques avec une dominance du genre *Alternaria* dans tous les échantillons.

**Mots clés :** Céréales ; Champignon ; Identification ; Isolement ; Diversité.

## Summary:

The objective of this work is to isolate and identify the different fungal genera from 33 samples of wheat and barley collected from different regions of the wilaya of Bouira. After isolation on semi-selective culture media and the characterization of these fungi on middle PDA and SNA. The rates of colonization of the grains by fungi are 69.88%, 79.34% and 85.26% for soft wheat, durum wheat and barley respectively. These studies determined the identification of the 17 fungal genera that are *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Strachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton* and *Ulocladium*. This shows the richness of these grains in microscopic fungi with dominance of the genus *Alternaria* in all samples.

**Key words:** Grains; Fungi; Identification; Isolation; Diversity.

## ملخص :

الهدف من هذه الدراسة هو عزل والتعرف على الأنواع الفطرية المختلفة انطلاقا من 33 عينة من القمح والشعير التي تم جمعها من مناطق مختلفة من ولاية البويرة بعد عزلها في وسط زرع شبه انتقائي و وصف هذه الفطريات وسط الزرع PDA و SNA. معدل غزو الفطريات للحبوب هو : 69.88%، 79.34% و 85.26% للقمح الطري والقمح القاسي والشعير على التوالي. واستخدمت هذه الدراسات لتحديد هوية 17 جنسا من الفطريات التي هي *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Microsporium*, *Penicillium*, *Pithomyces*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Strachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichophyton*, *Ulocladium* وهذا يدل على ثراء هذه الحبوب مع هيمنة الفطريات جنس *Alternaria* في جميع العينات.

**كلمات مفتاحية:** الحبوب ، الفطريات، تحديد الهوية، عزل، التنوع.

