

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

Présenté par :

BOUTEMEUR Soumia & OUKACI Lynda

Thème

**Contribution à l'étude de la flore fongique associée aux
grains de blé : influence de la méthode d'isolement et
l'origine de l'échantillon.**

Soutenu le : 03 / 07 /2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme BOUBEKKA Nabila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>M^{elle} MEBDOUA Samira</i>	<i>MCB</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 : 2018/2019

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant pour le souffle de vie qu'il nous a accordé.

Nous vifs remerciement s'adresse aux notre cher parent qui nous ont encouragé durant tout notre cursus.

Nous vous disions merci infiniment Mme **MEBDOUA Samira** enseignante au département SNV pour votre aide, patience, ainsi que votre encadrement et notre nombre de jurées.

Un spéciale merci que nous tenions à le partager entre **M. Chaïbi Rachid** le directeur de L'INSFP et merci à tous les enseignant du département SNV pour ces efforts pondant cette longue durée.

Un super merci pour **M. Boubeka Nabila** nous assuré que vous être la Maman de l'agronomie bonne continuité pour les autres générations et son oublie **M. Kerbache Fatima** c'est un grand plaisir de vouter connaissance dans notre vie.

Encoure un grand merci pour les deux spécialité **Protection Des Végétaux** et **Phytopathologie** à noter Souvenir qui on a passés ensembles.

Dédicace

Un super merci pour **Ma grand-mère** vous être la super femme dans le monde qui impacta positivement ma vie pendant 27 ans, son souvenir reste tous jours gravé dans mon cœur.

Un grand merci pour mon chère **Papa** à tes efforts que vous être sacrifie et tes encouragements dans tous mes étapes de ma vie si vous la source de ma vie et un grand merci pour ta confiance et ta fidélité à vouter famille et bien sur son oublié ta propre éducation.

Pour ma **Mère** merci à tes efforts et tes encouragements dans tous le cycle de mes études

A mes très chers frères : **Bilale et Mahdi** vous être toujours dans ma tête et ma vie heureuse avec vous

Au bonheur de ma vie ma seule sœur **Randa** J'espère que tu vas réussiras dans le BAC

A toute ma promo et mes chers collages : **Syrine, Negrine, Anfale, Manel, Ihame, Sara, Dihia, Amina, Amel, Yasmine, Lynda, Karima**

A mon cher homme de ma vie (**T**) merci de vouter présence dans ma vie personale je suis fière de toi et ta fidélité.

A tous ceux qui ont contribué à ma formation

Dédicace

Dédicace

Pour l'espoir de ma vie Maman la seule qui est avec moi dans tous les moments sans conditions.

Pour le soleil de ma vie Papa que dieu le protège.

Pour mon appui dans la vie mes frères : Nabil et sa femme et Hamza.

Pour la rose ma petite sœur : Nassima

Pour mes grands-parents : Mohamed et Saida, Hamouche et Saida.

Pour mes chères tantes

Pour mes belles : Hakima, Siham, Hamama, Djamila Sabrina Lilia qui sont toujours près de moi.

Pour ma sœur , ma binôme Soumia et sa famille.

Pour mes amies d'étude : ma sœur, pendant quatre ans Amina, Zohra.

A ce qui mon courage durant ce travail (F)

Pour mes enseignants de primaire jusqu'à l'université surtout Mr.Messosi, Mr.Merzouk, Mme.Younsi, Mr.Abdessalam. M.Mebdoua, M.Boubeka

Lynda

Liste des Abréviations

Abréviations	Signification
Aw	Activité de l'eau
BTL1	Blé Tender Locale 1
BTL2	Blé Tender Locale 2
BTIP1	Blé Tender Importation 1
BTIP2	Blé Tender Importation 2
CCLS	Coopérative des Céréales et Légumes Secs
DCPA	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
Ha	Hectare
H	Teneur En Eau des Grains
H (%)	Teneur en eau par pourcentage
LNPV	Laboratoire nationale de production des végétaux
M0	La Masse de La Boite de Pétri Vide.
M1	La Masse de La Prise D'essais + La Boite de Pétri (avant séchage).
M2	La Masse De La Prise D'essai + La Boite De Pétri (après séchage)
MIP	Maïs importé
N	Azote
NGC	Nombre de Grains Contaminés Par Un Genre Fongique
P	Masse en Grammes de 1000 Grains Entiers
PDA	Milieu de Potato Dextrose Agar
PMG	Poids de Mille Grains

PRC	Pourcentage Relative de Contamination
QI	Quintus
SNA	Spezieller Nährstoffarmer Agar
SNV	Science de la nature et de la terre
TNGC	Nombre total des Grains Contaminé
UFC	Unité Formant Colonie
µm	Micromètre
X 10	Grossissement microscopique

Liste des figures

Figure 01	Schéma d'une coupe d'un grain de blé	04
Figure 02	le cycle de vie de blé	06
Figure 03	Production et superficie occupées par les principales céréales dans le monde en 2010	08
Figure 04	Production des céréales (blés, orge) à Bouira entre 2009 et 2015	10
Figure 05	Cycle de vie de <i>Fusarium graminearum</i> sur blé tendre	12
Figure 06	Conidies et symptômes de <i>Alternaria triticina</i> sur blé	14
Figure 07	Cycle de vie d' <i>Alternaria</i> spp chez le blé	14
Figure 08	Observation microscopique de <i>Aspergillus niger</i>	15
Figure 09	Caractères morphologiques des <i>Penicillium</i> spp	17
Figure 10	cycle de vie de penicillium chez le blé	17
Figure 11	Les échantillons de céréales utilisés dans cette étude.	20
Figure 12	Préparation de milieu DCPA	22
Figure 13	Flacons contenant milieu de culture	23
Figure 14	L'ajout de streptomycine au milieu après refroidissement	23
Figure 15	Répartition de milieu gélosé dans des boites pétri	23
Figure 16	Préparation de milieu Malt	24
Figure 17	les étapes de la méthode 1	27
Figure 18	les étapes de la méthode 2	28
Figure 19	Préparation des lames par la technique de scotch	29
Figure 20	Repiquage des champignons sur PDA et SNA	30
Figure 21	Le poids de mille graines de différents échantillons de blé et du maïs	33

Figure 22	Le taux d'humidité de différents échantillons de blé et du maïs.	34
Figure 23	Pourcentage de contamination des graines	35
Figure 24	Observation macroscopique et microscopique de <i>Cunninghamella echinulata</i>	38
Figure 25	Observation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .	39
Figure 26	Observation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus sp</i>	40
figure 27	Observation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	41
Figure 28	Observation macroscopique et microscopique de <i>Verticillium lecanii</i>	42
Figure 29	Observation macroscopique et microscopique <i>Cladosporium cladosporioides</i>	43
Figure 30	Observation macroscopique et microscopique <i>Cladosporium sp</i>	44
Figure 31	Observation macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp1</i> (sur milieu DCPA) de <i>Penicillium sp1</i>	45
Figure 32	Observation macroscopique(1) et microscopique (2) de <i>Alternaria sp 1</i>	46
Figure 33	observation macroscopique (1) et microscopique (2) de <i>Fusarium graminearum</i>	47
Figure 34	Aspect microscopique et macroscopique des <i>Fusarium sp</i> , <i>Fusarium solani</i> et <i>Fusarium avenaceum</i>	48
Figure 35	Observation macroscopique (1) et microscopique (2) de <i>Phoma sp</i>	49
Figure 36	Observation macroscopique (1) et microscopique (2) <i>Absidia sp</i>	50
Figure 37	Autres espèces observées sous microscopes photonique	51
Figure 38	fréquence d'isolement des différents genres fongiques dans les cinq échantillon de céréales	53
Figure 39	Présentation graphique de la contamination relative de blé tendre local et importé	54

Figure 40	Fréquence d'isolement des différents genres fongiques selon la méthode	56
------------------	--	-----------

Liste des tableaux

Tableau 01	présentation d'échantillons utilisés dans la pratique	20
Tableau 02	présentation les ingrédients de Milieu DCPA Modifié (1L)	21
Tableau 03	présentation les ingrédients de Milieu Malt (1L)	21
Tableau 04	Taux de germination de différents échantillons de blé et du maïs.	35
Tableau 05	Dénombrement des colonies fongiques formées selon la méthode 1 dans les deux milieux de culture (UFC/g)	36

Introduction

I. Introduction

La culture des céréales est considérée comme l'une des premières grandes découvertes ayant exercé une influence majeure sur l'avenir des sociétés humaines. Encore aujourd'hui, les céréales constituent la base de notre alimentation, en raison de la facilité des modes de production, de récolte, de stockage et de transport, de la diversité des aires géographiques de production, de leur richesse en constituants d'intérêt nutritionnel et de diversité des modes de préparation et de consommation (Joil et Jacques-Eic, 2010).

Depuis longtemps, les céréales, notamment le blé est devenu un produit de première nécessité à l'échelle mondiale. Son importance dépasse le rôle traditionnel considéré comme aliment. Le blé appartient à la famille des Poacées. Parmi eux on retrouve également : l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs, le riz, le millet et le sorgho. (Ammar, 2015)

Leur utilisation est très différent principalement en semoulerie et en meunerie, pour produire la semoule à partir du blé dur et la farine à partir du blé tendre, Et aussi le blé est utilisé depuis plusieurs années comme matière première pour la fabrication de biocarburants. (Djelti, 2014).

Le grain de blé est un caryopse ce fruit sec indéhiscent est constitué d'une unique graine intimement soudée à l'enveloppe du fruit qui la contient. Sur l'épi le grain est entouré d'enveloppes : les glumes et les glumelles. Au niveau morphologique le grain de blé est ovoïde et présente sur la face ventrale un sillon qui s'étend sur toute sa longueur (Surget et Barron, 2005). Il constitue une source importante de nutriments, de vitamines, éléments minéraux et e carbohydrates (González-Curbelo et al 2012; Liu et al 2017).

Un grand nombre d'espèces de moisissures fongique appartenant principalement aux quatre genres très communs *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, ...ect sont des contaminants fréquents de grains de blé et d'autres céréales.

Dans le but de reconnaître la diversité de la mycoflore associée aux grains de blé locale, et les méthodes les plus adaptées pour leur isolement que nous avons entrepris ce travail

L'objectif de ce travail est :

- D'étudier l'état de contamination fongique des grains de blés locale et importé
- De caractériser la flore fongique isolée.
- D'étudier l'influence de la méthode d'isolement et l'origine de l'échantillon sur cette flore fongique

Notre document est organisé en trois chapitres : un chapitre pour la synthèse bibliographique, dans lequel on a décrit le blé et montré son importance, Dans le deuxième chapitre on a détaillé les matériels et méthodes que nous avons adoptés. Dans le dernier chapitre on a présenté les résultats de nos essais et on les a interprétés et discutés.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-Données bibliographique sur le blé

I-1 Description agro morphologique

a. Définition et origine

Le blé est une monocotylédone de la famille des *Poaceae* appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscent, le caryopse. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) sont les deux espèces les plus cultivées dans le monde. Le blé tendre est constitué de trois génomes possédant chacun 7 paires de chromosomes homologues, soit 42 chromosomes au total. Il possède une structure génomique hexaploïde (AA BB DD) et le blé dur une structure tétraploïde (AA BB). (Ahn *et al*, 1993)

Le blé tendre d'un point de vue phylogénétique est issu de deux hybridations interspécifiques suivi d'un doublement chromosomique. Le croisement entre *Triticum monococcum* (A) et un *Aegilops* (B) a donné un individu de structure génomique (AB) avec 14 chromosomes. Après doublement chromosomique est apparu *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides* (AA BB), ancêtre du blé dur (Chen *et al.*, 1984 ; Gill et Kimber, 1974 ; Chapman, 2009).

Le second croisement interspécifique a eu lieu entre *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoides* et *Aegilops tauschii* (D) ce qui a donné un individu (ABD) possédant 21 chromosomes. Ce dernier a lui aussi subi un doublement chromosomique (AA BB DD) et est l'ancêtre de *Triticum aestivum*. (Ahn *et al.*, 1993)

b. Structure et composition du grain de blé

Le grain se compose de 3 parties principales (Figure 1):

1- Le péricarpe ou enveloppe : C'est la pellicule cellulosique qui protège le grain pendant sa formation dans l'épi, pendant la levée dans le sol ainsi qu'au cours de sa conservation (Berhaut *et al* , 2003).

2- L'albumen ou l'endosperme : Il est appelé aussi tissu nourricier car il constitue la réserve de nourriture du germe essentiellement composé d'amidon (Gwimer *et al* , 1996). Il représente 80% du poids du grain et sa partie inférieure est délimitée par le germe . (Fredot, 2012).

3- Le germe ou embryon : Il donne naissance à une nouvelle plante. Il est particulièrement riche en huile et en albumine (Gwimer et al., 1996). Il représente 3% du poids du grain, il est riche en vitamines et en minéraux (Fredot, 2012).

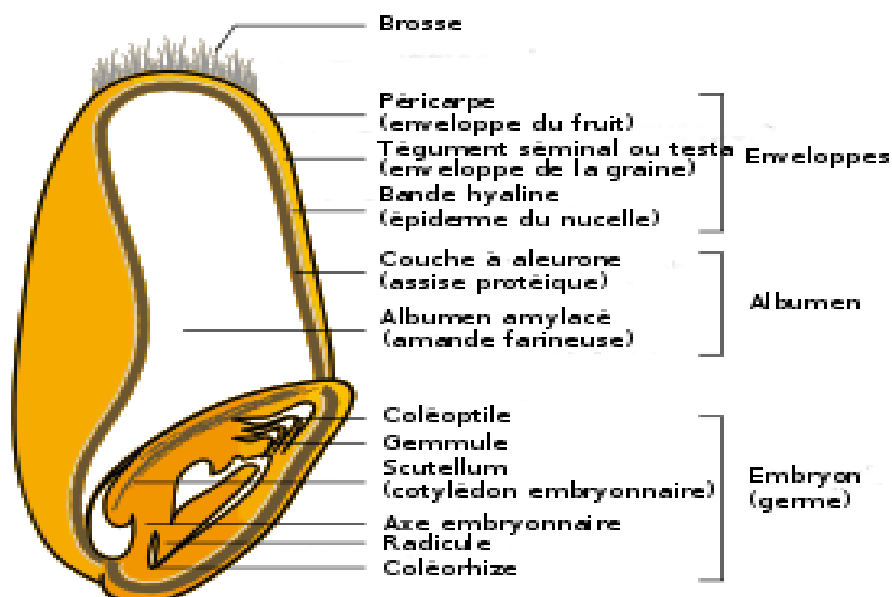


Figure 01: Schéma d'une coupe d'un grain de blé (Fredot, 2012)

c- Composition chimique des grains

Le grain est composé de matières minérales et de matières organiques (Nadiay, 1999), on retrouve :

- 1- **Les glucides** : Il est principalement constitué d'amidon, qui est un glucide complexe, environ 70% (Feillet, 2000) et d'autres glucides simples comme le glucose, le fructose, le saccharose et le raffinose (Fredot, 2012).
- 2- **Les protéines** : Il contient entre 10 et 15% de protéines selon la variété, elles sont divisées en deux types, protéines de structure et de fonction (Battais et al, 2007).
- 3- **Les lipides**: Les grains du blé sont naturellement pauvres en lipides : Ils en contiennent seulement 2 %, essentiellement localisés dans le germe et l'assise protéique (Fredot, 2012).

- 4- **L'eau** : Le grain du blé mûr est constitué de 13.5% d'eau, cette faible teneur lui permet d'être stocké longtemps en évitant le développement de micro-organismes en particulier les moisissures (**Feillet, 2000**).
- 5- **Les vitamines** : Ce sont des éléments cliniques complexes jouant un rôle important dans la nutrition. Dans le grain, elles sont concentrées au niveau du germe et des enveloppes (**Nadiaye, 1999**).
6. **Les minéraux** : Ils sont présents dans les grains en faible quantité. Les principaux sont le phosphore, le potassium, le manganèse et le cuivre, ils sont souvent associés ou présents sous forme de sels tels que les phosphates, chlorures ou sulfates (**Berhaut et al, 2003**).

d. Biologie et cycle de la culture du blé

Le cycle de croissance de blé se compose de plusieurs phases végétatives au cours desquelles la plante passe d'un stade végétatif à un autre ou développe de nouveaux organes. La phase germination – levée correspond à la mise en place du nombre de plantes installées par unité de surface du sol semée. Le stade végétatif de la levée est noté lorsque 50 % des plantes émergent de terre (**Henry et al, 2000**). Le début de la phase tallage se fait à partir de l'apparition de la 4^{ème} feuille. Il est marqué par l'apparition de l'extrémité de la première feuille de la talle latérale primaire, puis d'autres talles naissent successivement à l'aisselle des 2^{ème} et 3^{ème} feuille de la tige principale ou le maître brin (**Figure 2**).

La phase du tallage herbacée est suivie par le stade montaison qui débute dès que l'épi du maître brin atteint une longueur de 1 cm, mesurée à partir de la base de la couronne ou plateau de tallage. C'est le stade épi-1cm qui fait suite à l'élongation du premier entre noeuds. La montaison est la phase la plus critique du développement du blé. Les stress hydrique ou thermique au cours de cette phase affectent le nombre d'épis montants par unité de surface (**Fisher et al, 1998**). La phase de montaison se termine une fois l'épi prend sa forme définitive à l'intérieur de la gaine de la feuille étendard qui gonfle, ce qui correspond au stade gonflement.

Le stade épiaison débute par l'apparition de l'épi, hors de la gaine de la feuille drapeau. Les épis dégainés fleurissent généralement entre 4 à 8 jours après l'épiaison (**Bahlouietal, 2005**). Selon **Abbassenneet al, (1998)**, les basses températures au cours de cette phase réduisent

fortement la fertilité des épis. Après la floraison, débute la phase de remplissage du grain au cours de laquelle le feuillage débute sa sénescence. L'azote et les sucres des feuilles, qui sénescent, sont remobilisés vers le grain (**Barbottinet *al.*,2005**). L'évolution du poids du grain se fait en trois étapes : la première est une phase de multiplication des cellules du jeune grain encore vert, dont la teneur en eau est élevée. Cette phase est suivie par la phase de remplissage actif du grain avec les assimilés provenant de la photosynthèse de la feuille étendard et du transfert des hydrates de carbone stockés dans le col de l'épi (**Belkherchouchet *al.*,2009**). Les fortes températures au cours de cette période provoquent l'arrêt de la migration des réserves des feuilles et de la tige vers le grain (**Bahlouliet *al.*,2005**). Cette phase se termine une fois le contenu du grain atteint son maximum, le grain se dessèche progressivement, pour murir.

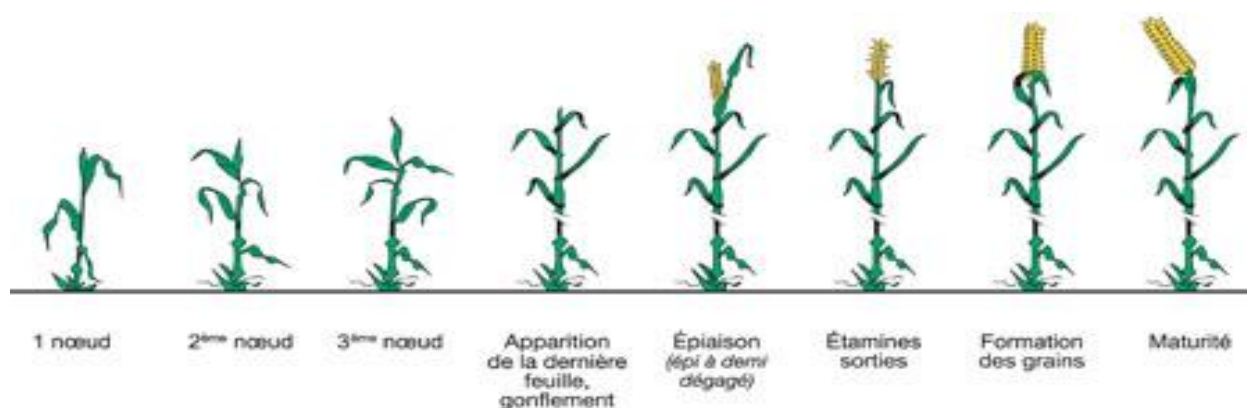


Figure 02 : le cycle de vie de blé (**Teasdale,J.R et al, 2007**)

e- les besoins nutritifs

1- l'azote

La fumure azotée se raisonne en fixant un objectif de rendement dont va dépendre le besoin à satisfaire, en moyenne 3.5 kgde blé dur (**Meziani , 2014**).L'azote favorise le tallage, le nombre d'épis par m^2 , il est très mobile dans le sol, il est facilement lessivé. Il est donc d'un grand intérêt de l'apporter sous forme ammoniacale et uréique, car ces formes sont peu lessivables. Elles permettent une biodisponibilité plus longue dans le sol car elles doivent subir des transformations naturelles avant d'être utilisées par la plante. (**Meziani, 2014**)

2 -le phosphore

Une déficience en phosphore abaisse la fécondation et diminue le nombre de grains par épi. A la levée, le phosphore est nécessaire pour une bonne installation et démarrage de la culture. Au stade épiaison, l'exigence est également très élevée. Le phosphore est un élément nécessaire à la croissance du blé il agit sur le développement des racines en activant leur développement, le phosphore est également un facteur de précocité **(Meziani, 2014)**

Le phosphore est très mobile dans le sol ; Les sols bien drainés et aérés, améliorent sa mobilité. L'apport de phosphore sous forme de petits granulés et au plus près des racines et forment recommandé. **(Meziani, 2014)**

3 - le potassium

Le Potassium est l'élément qui est le plus fortement mobilisé par les céréales. Il joue un rôle important dans le rendement en agissant sur la formation et stockage des glucides et protéines, la limitation de l'échaudage et la résistance à la sécheresse, au gel et aux maladies fongiques. Il améliore également l'assimilation de l'azotés par la plante.**(Meziani, 2014)**

4 - le soufre

Le soufre est nécessaire à l'alimentation du blé. Il participe à la formation de la chlorophylle et à la synthèse des protéines qui améliore la qualité de farine. Le soufre participe à la nutrition des plantes et aide à la minéralisation de la matière organique. Il est synergique à l'assimilation de l'azore. **(Meziani, 2014)**

I-2- Importance du blé

A - l'échelle mondiale

Les céréales, le blé en particulier occupe une place importante dans la production agricole et constitue la nourriture de base pour 35% de la production mondiale **(Hamel, 2010)**. Le blé arrive juste derrière le riz et le maïs si l'on considère les tonnages produits **(figure 03)(Jacquemin, 2012)**.

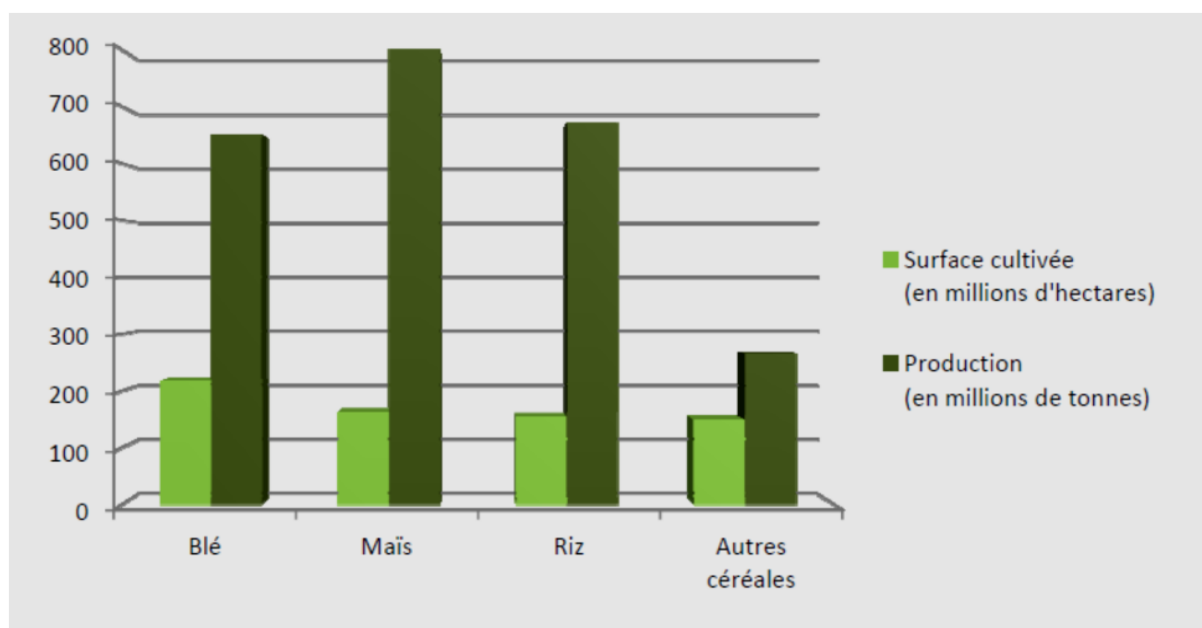


Figure 3 : Production et superficie occupées par les principales céréales dans le monde en 2010 (Jacquemin, 2012).

En Méditerranée, la France est le premier producteur de blé. En 1996, elle a produit 36 millions de tonnes. Elle a également enregistré les plus hauts rendements, pour le blé également, avec 7 T/Ha. Des améliorations de rendements ont été obtenues un peu partout en Méditerranée et en Arabie Saoudite.

Les superficies céréalières sont en légère régression, les plus importantes emblavures céréalières sont celles de la Turquie avec 14 millions d'hectares, de la France avec 8,8 millions d'hectares, de l'Espagne avec 6,7 millions d'hectares et enfin le Maroc avec 6 millions d'hectares (Fritas, 2012). La production mondiale du blé a été de 650,9 millions de tonnes en 2009. (Zahri et al, 2014)

B- L'importance à l'échelle nationale

B-1- Culture et production en Algérie

Le secteur de céréales se situe au premier ordre des priorités économiques et sociales du pays. Il a occupé une place privilégiée dans les différents plans de développement socioéconomiques que l'Algérie a élaborés depuis son accès à l'indépendance. Ceci est dû au rôle que jouent les céréales en tant que produits de première nécessité. (El hadef el okki, 2015).

La céréaliculture Algérienne occupe une superficie 3,4 millions d’hectares, avec une production nationale céréalière réalisée à l’issue de la campagne 2017-2018 a atteint 60,5 millions de quintaux. **(Hocine,2018)**

Dans le détail, la production céréalière est répartie entre le blé dur, à hauteur de 31,5 millions de quintaux 2016-2017, contre 19,9 millions de quintaux enregistrés durant la campagne 2017-2018, soit une hausse de 58%, et l’orge pour 19,5 millions de quintaux, contre 9,6 millions de quintaux réalisés lors de la campagne 2016-2017, soit une croissance de 100%. **(El hadef el okki,2015).**

La production de blé tendre a atteint, quant à elle, seulement 7,9 millions de quintaux. La productivité par hectare, toutes espèces confondues, est passée de 15 quintaux par hectare en 2016-2017 à 19 quintaux par hectare en 2017-2018.

B -2- Culture et production de blé dans la wilaya de Bouira

La céréaliculture dans la wilaya de Bouira occupe annuellement une superficie importante d’environ 40 000 ha pour le blé dur et 13 000 pour le blé tendre. La production totale des céréales avoisine annuellement 1 500 000 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 statistiques de la DSA de Bouira, La production du blé dur était de 999798 Qx, et celle du blé tendre était de 335778Qx. **(DSA, 2016)**

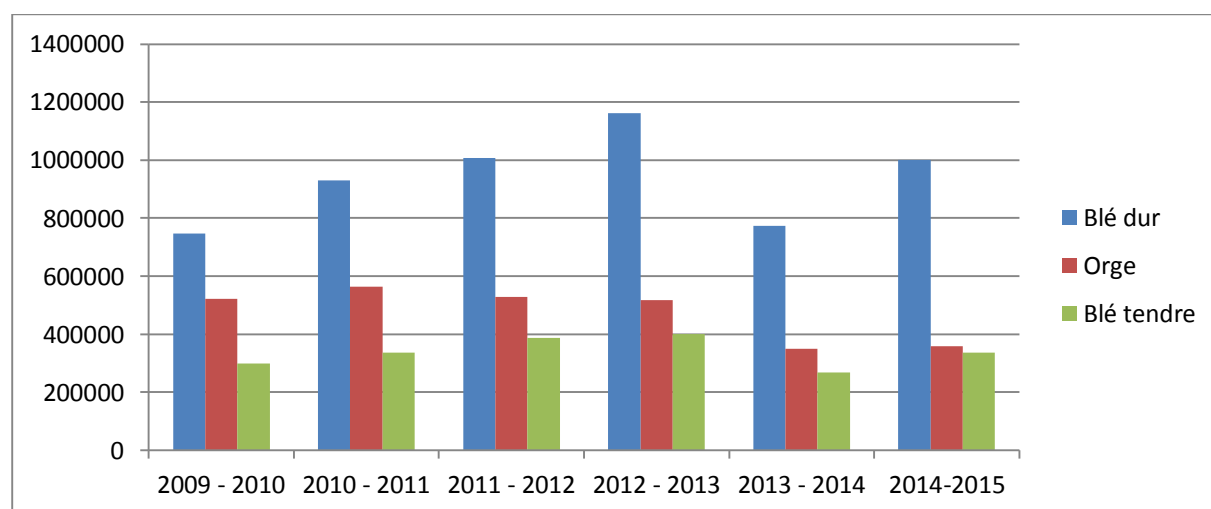


Figure n 04 : Production des céréales (blés, orge) à Bouira entre 2009 et 2015

Les zones potentielles du blé au niveau de la wilaya de Bouira sont :

* la **plaine des Aribis**(qui comprend les communes d'Ain Bessem- Birghbalou- Raouraoua- Khabouzia-Ain Lalloui et Ain El Hadjar).

* les **plateaux d'El Esnam** qui comprend les communes d'El Esnam, Oued El Berdi et enfin le **plateau de Bouira**.

Cette zone se caractérise par un sol limoneux-Sableux à argilo-limoneux.(**Bneder, 2017**) , sols qui répondent aux exigences du blé. Aussi ces zones reçoivent une pluviométrie moyenne annuelle autour de 450 mm. Aussi, ces zones ont connu des sécheresses printanières (mars – avril) qui influent négativement sur la productivité et donc sur la production des blés.

II- Données bibliographiques sur la flore fongique du blé

II-1-1- Principaux genre fongique

Le blé est une céréale qui peut être affectée par un certain nombre de champignons et autre type de maladie, qui n'ont pas tous la même incidence sur les résultats de la culture, et pour lesquels la tolérance variétale, quand elle existe, est à utiliser au maximum. (Ouanzar, 2012)

II-1-1-1-*Fusarium*

Les espèces de ce genre attaquent le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs et la plupart des graminées et fourragères ou spontanée. (ATCA,1983). Le genre *Fusarium* comprend plusieurs espèces, tels que *F.graminearum* Schwabe, *F.avenaceum* Saccardo, *F. culmorum*, ...ect ; parmi lesquelles certaines formes sexuées comme *Gibberella zeae* (Schaweinitez) Petch .(ATCA, 1983)

A- Description- Biologique- Dégâts

Les fusariums sont susceptibles d'occasionner différent types de dégâts, sur épis et sur graines : Les dégâts sur épis et la contamination des graines ont pour origine les conidies qui apparaissent sous forme de coussinets rose saumon sur les débris végétaux et surtout à la base des tiges présentant des attaques de type Piétin. Ces conidies sont libérées et transportées par le vent et la pluie. Des périthèces contenant des ascospores peuvent aussi être produits à la base des plantes (**Figure 05**); on considère qu'il faut alors une T° minimale de 18° c et une humidité relative de l'aire élevant durant 12h consécutive. Les filaments mycéliens pénètrent le plus souvent par les rasters des filets staminaux pour atteindre le jeune caryopse, il peut aussi se développer au niveau de rachis. L'échaudage est d'autant plus marqué que l'infection à lieu entre la période de la floraison et celle de la maturité. Les attaques de l'épi se traduisent le plus souvent par un dessèchement précoce et l'échaudage de certain groupe d'épillets. Des fonctions précoces aboutissent généralement à la stérilité des épillets atteints.

Un taux de contamination élevé des grains par le champignon peut entrainer des risques d'intoxication grave chez l'homme et les animaux. Sur blé, à la base des glumes attaquées on n'observe jamais de zone décoloré cernée de brun, contrairement aux attaques dues à *Microdochiumnivale*.

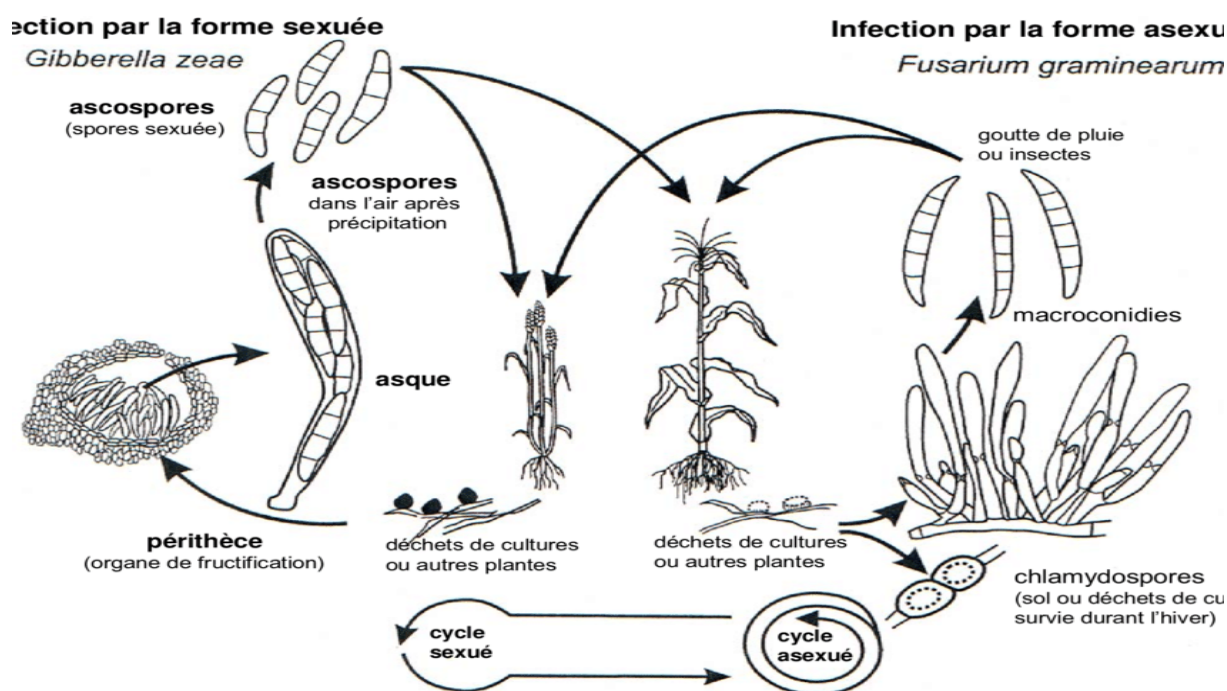


Figure 05: Cycle de vie de *Fusarium graminearum* sur blé tendre (Trail et al, 2002).

B- les facteurs favorables à la maladie

Plusieurs facteurs peuvent être favorables à l'apparition et au développement de la maladie tels que :

- Utilisation des semences infectées.
- Répétition sur même parcelle de culture sensible, en particulier rotation maïs blé dur.
- Utilisation de la fumure azotée excessive sans augmentation des fumures phosphatées et potassique.
- Emploi de techniques de préparation du sol simplifiées laissant des débris végétaux dans la partie superficielle du sol. (ATCA, 1983)

C- Moyens de lutte

C.1. Mesures prophylactique (Bouakaz et Oussaid, 2013)

- Utiliser des semences saines et certifiées.
- Enfouir profondément les débris des végétaux.

- Pratiquer une rotation culturale pour diminuer la qualité de l'inoculum dans le sol et minimiser les risques.
- Eviter les précédents blés durs, avoine et maïs qui sont très favorables à la maladie.

C.2. Mesures chimiques (Bouakaz et Oussaid, 2013)

- Traitement préventif au début de la floraison en cas de forte humidité ou une pluie persistante pendant l'épiaison (plus de 48h à 100% d'humidité).
- Matière active à utiliser (TEBUCONAZOLE, DIFENOCONAZOLE, PROPICONAZOLE).

II-3-1-2-*Alternaria*

Les espèces d'*Alternaria* sont des mycètes dématiacés cosmopolites fréquemment isolés d'échantillons de plantes, de terre, de nourriture et d'air intérieur. Certaines espèces d'*Alternaria* sont reconnues en tant que phytopathogènes importants et comme saprophytes sur plusieurs autres substrats.

Certaines espèces d'*Alternaria*, telle *A. triticina*, déterminent une grave brûlure des feuilles et des épis du blé et du triticale (**figure 06**), mais n'attaquent ni l'orge ni l'avoine. Ces maladies qui ont été signalées d'abord en Inde ont été observées dans l'ouest de l'Asie et en Afrique du Nord. (Zillinsky, 1983)

La plupart des *Alternaria* qui existent sur blé sont des agents phytopathogènes secondaires ou saprophytes, ils causent avec d'autres agents le noir des céréales. Le noir se rencontre fréquemment sur les plantes atteintes d'autres maladies ou de stress, tels les pourritures de la racine, les brûlures de la feuille, les bactérioses, les viroses, la verse, et les pucerons.

Le revêtement gris ou noir se développe à partir du mycélium qui se trouve à l'intérieur ou en partie à la surface des tissus. Les conidiophores sont foncés à brun olive, ils poussent isolés ou fasciculés, sont plus ou moins branchus, et mesurent généralement 3-6 µm de diamètre. Les conidies des *Alternaria* possèdent des caractères morphologiques très distinctifs, ce qui permet de reconnaître facilement ce genre (**figure 06**). Les conidies de la plupart des espèces saprophytiques *Alternaria* qui habitent sur les céréales sont assemblées en chaîne. (Zillinsky, 1983)

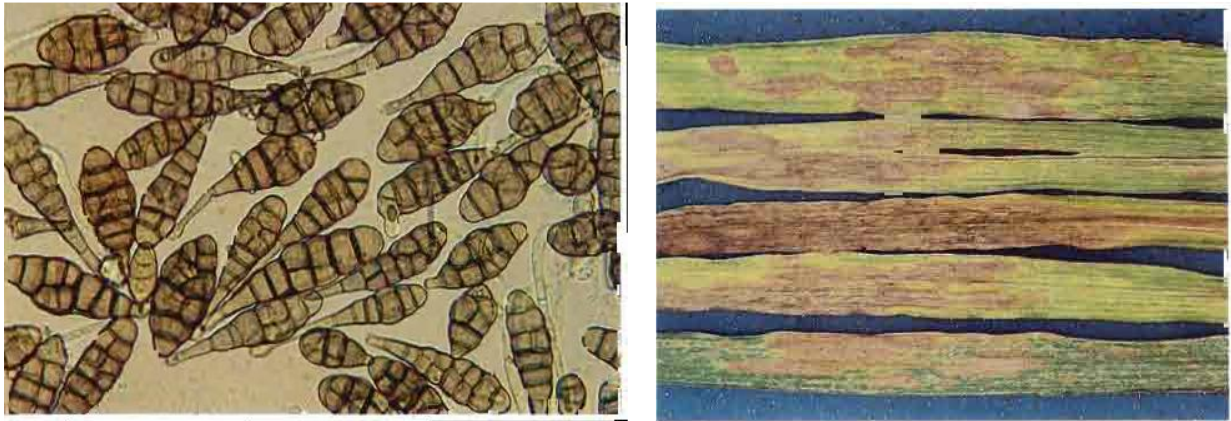


Figure 6: Conidies et symptômes de *Alternaria triticina* sur blé (Zillinsky, 1983).

A- Les facteurs favorables à la maladie

Pour se développer, les *Alternaria* spp. Requièrent une quantité d'eau libre minimale (Aw) variant entre 0,85 et 0,88 selon les espèces; cette exigence en eau fait de l'*Alternaria*, par définition, un colonisateur secondaire. (Ouanzar, 2012)

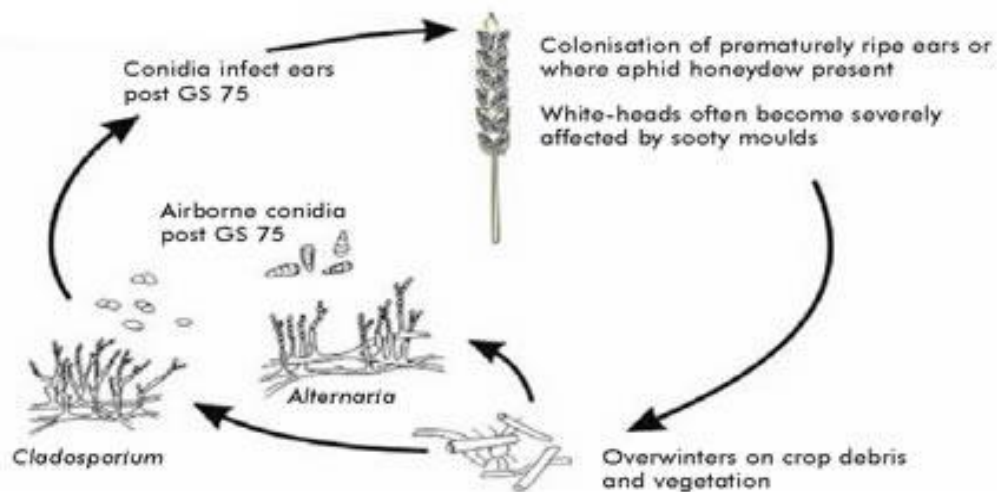


Figure 07 :Cycle de vie d'*Alternaria* spp chez le blé(Creals et Oliseeds)

II-3-1-3- Aspergillus

Ce genre est souvent associé aux *Penicillium* et se distingue de ces derniers par l'aspect des conidiophores qui sont terminés par une tête renflée (Champion, 1997). *Aspergillus* signifie « aspersoir » à cause de la forme de ses têtes aspergillaires (Gelin, 1995). Les *Aspergillus* sont

des contaminants très communs, ce genre comprend de 180 à 250 espèces selon les auteurs dont seules *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, et *A. niger* sont considérées comme thermo tolérantes (Rebouxet *al* , 2010).

A- *Aspergillus niger*

A. niger est un mycète mésophile : sa température de croissance optimale est de 20-40 °C, avec une bonne croissance à 37 °C. Cette espèce est xérophile et exige un A_w (activité de l'eau) de 0,77. Cette espèce peut cependant très bien se développer dans un environnement où l'humidité relative est de 90-100 %. (Rebouxet *al.*, 2010)

Les colonies d'*A. niger* sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle. Sur le milieu Czapek, *A. niger* forme des colonies à mycélium blanc ou jaune, et revers souvent incolore (Figure 08).

Morphologie microscopique: Les têtes conidiennes, bisériées, radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Les conidiophores sont longs atteignant 1,5-3 mm, lisses, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure. Les vésicules sont globuleuses et entièrement fertiles. Les phialides (7-10 x 3-3,5 μm) sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables. Les conidies sont habituellement globuleuses, parfois légèrement aplaties. Elles mesurent 3,5-5 μm de diamètre, sont brunes, échinulées à très verruqueuses. Les sclérotés parfois différenciés, sont crème à chamois foncé au début, puis virent au chamois svinacé. (Rebouxet *al.*, 2010)

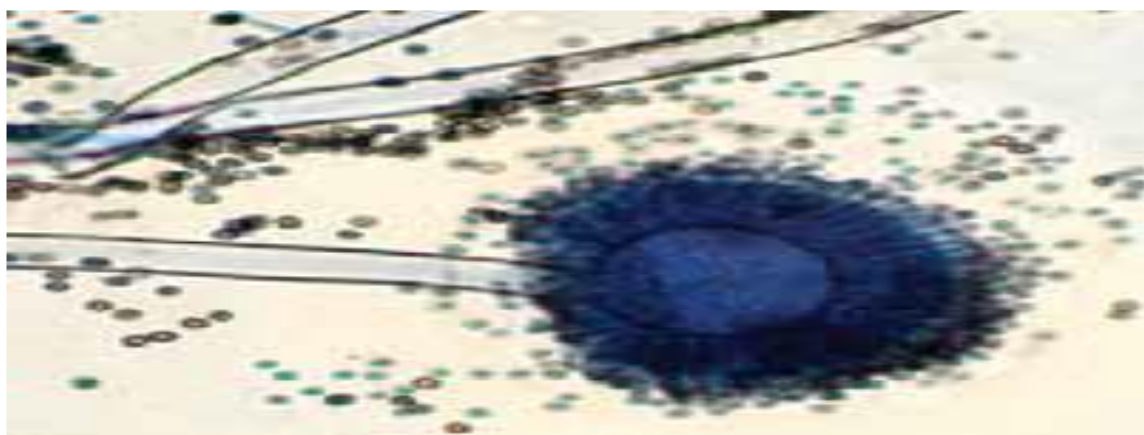


Figure 08: Observation microscopique d'*Aspergillus niger* (Tabuc , 2007)

B- *Aspergillus flavus*

L'*Aspergillus flavus* est un hyphomycète pour lequel on ne connaît pas de formes parfaites ou télé morphes. L'*Aspergillus flavus* est cosmopolite et passe la majeure partie de sa vie comme saprophyte dans le sol. Cet *Aspergillus* infecte également les récoltes et contamine les grains stockés : dans ces derniers substrats, il produit des métabolites cancérigènes des plus toxiques et des plus efficaces, telles les aflatoxines et les autres mycotoxines.

Cette espèce est un phytopathogène s'attaquant à des récoltes économiquement importantes, telles les récoltes de maïs et d'arachides. Il est commun sur les arachides, les épices, les graines de lin, les céréales et parfois sur les fruits secs. *Aspergillus flavus* est souvent étudié en tant que contaminant produisant des mycotoxines comme les aflatoxines. (Ouanzar, 2007)

A.flavus est un mycète mésophile, et sa croissance est optimale entre 25 et 42 °C (minimum de 17-19 °C et maximum de 47-48 °C). La croissance optimale de ce mycète se produit à un pH de 7.5, et le pH optimal pour la production des conidies se situe à 6.5. *A.flavus* se développe mieux lorsque l'activité de l'eau (Aw) se situe entre 0,86 et 0,96, mais, selon d'autres auteurs, il pourrait également se développer à un Aw se situant entre 0,78 et 0,80.

II-3-1-4- *Penicillium* spp

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.

Il y a plus de 200 espèces reconnues de *Penicillium*. Plusieurs espèces s'adaptent facilement aux conditions de croissance présentes à l'intérieur et se développent bien sur des matériaux de construction humides. (Ouanzar, 2007)

Plusieurs *Penicillium* sont des formes imparfaites (anamorphes) d'hyphomycètes hyalins : quelques espèces de *Penicillium* possèdent des formes parfaites (télémorphes) incluses dans les genres *Eupenicillium*, *Talaromyces*, *Hamigera* et *Trichocoma*. (Ouanzar, 2007)

Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles rappelant ainsi la forme d'un pinceau. A la récolte, les grains peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation (**Champion, 1997**).

Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées.

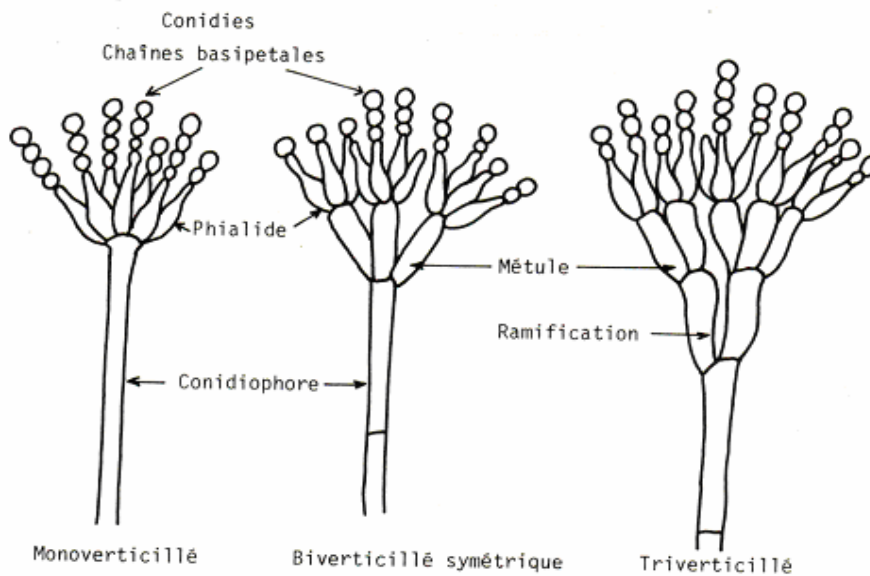


Figure 09 : Caractères morphologiques des *Penicillium*spp (Tabuc, 2007)

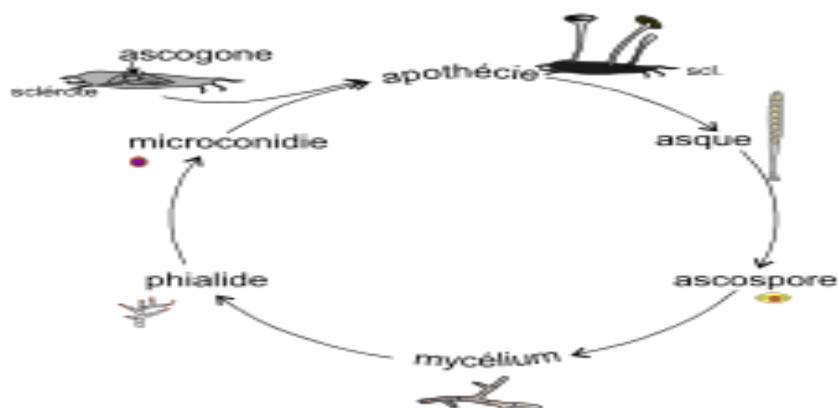


Figure 10 : cycle de vie de penicillium chez le blé (**Champion, 1997**)

II-3-2- Condition de développement des champignons

I-3-2-1- pH

Les micromycètes peuvent se développer dans une large gamme de pH ; elles se développent normalement pour des pH compris entre 3 et 8, leur croissance étant normalement optimale entre 5 et 6. En raison de leur acidité (pH < 6) de nombreux aliments comme les légumes et les fruits sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne. La croissance de champignon était maximale à un pH=5,6 (**Keller et al, 1997**).

II-3-2-2- Présence d'oxygène

Les champignons sont des microorganismes aérobies ; ils ont besoin d'oxygène pour une croissance normale. Toutefois, leur développement est peu affecté par des teneurs de 10 fois plus faibles (2,1%) que celle de l'atmosphère. En conséquence, certaines espèces de moisissures pourront se développer sur les denrées alimentaires conservées dans une atmosphère pauvre en oxygène(**Keller et al, 1997**).

II-3-2-3-Température

Les moisissures sont généralement mésophiles : la croissance des hyphes est optimale à 20-25°C. En dehors de cet intervalle de température les hyphes se développent plus lentement.

Les spores de moisissures mésophiles ne peuvent pas germer à une température inférieure à 5°C, mais elles peuvent résister longtemps aux basses températures allant jusqu'à -20°C (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

Il existe aussi des espèces psychrophiles, comme, par exemple, *Penicillium expansum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum*. Elles peuvent se développer, lentement, à des températures basses, inférieures à 4°C. Ces espèces sont responsables des altérations d'aliments conservés au froid (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

Les espèces thermophiles sont plus rares. C'est le cas de l'*Aspergillus flavus*. La température optimale pour sa croissance est comprise entre 25 et 35°C, mais cette moisissure peut se développer bien dans un intervalle plus large (15-45°C) et parfois jusqu'à 50°C. Ces caractéristiques physiologiques (besoin d'une faible teneur en eau et développement possible dans un large intervalle de température) font que cette espèce très fréquemment impliquée dans la détérioration des matières premières et des aliments, (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

II-3-2-4 - Lumière

La lumière favorise la maturation des conidies et la germination des spores. Les moisissures sont, généralement, indifférentes à l'action de lumière. Toutefois, certaines espèces (**les *Tuberales***) ne supportent pas la lumière et se développent dans des endroits obscurs (grottes); Inversement, d'autres se développent sur les versants de montagne ensoleillés en permanence ou dans les régions désertiques (**les *Discomycetes***) (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

Chapitre II

Matériel et méthode

Cette étude porte sur l'isolement et l'identification des champignons de celles pathogènes de blé tendre et le maïs. Ce travail a été effectué au niveau de laboratoire n°09 de département Agronomie, Université de Akli Mohand Oulhadj, Bouira.

I Matériel

I-1 Matériel végétale

Les échantillons de blé tendre et de maïs sont fournis par CCLS (Coopérative des Céréales et Légumes Secs) de Brouira. Il s'agit de 04 échantillons de blé tendre (02 origine locale ; 02 origine importation) et 01 échantillon de maïs (importation).

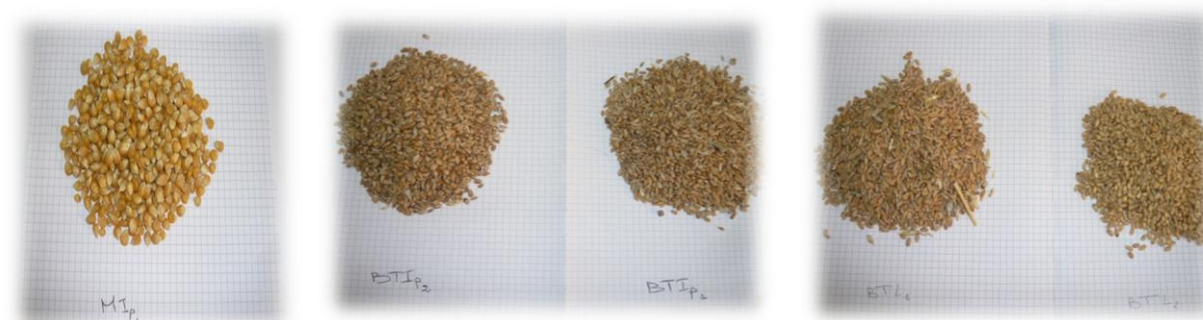


Figure 11 : Les échantillons de céréales utilisés dans cette étude.

Tableau 01 : Présentation d'échantillons utilisés dans la pratique.

Code d'échantillon	Type de l'échantillon	Origine
BTL1	Blé tendre	Local : Ainabid-Bouira
BTL2	Blé tendre	Local : Ain bessam- Bouira
BTIP1	Blé tendre	Importation
BTIP2	Blé tendre	Importation
MIP1	Maïs	Importation

I-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 le premier à base de peptone comme seul source de carbone auxquels nous avons ajouté un antibiotique qui est la Streptomycine c'est le milieu DCPA (DichloranChloramphenicol Peptone Agar)(tableaux02) modifié (**Andrews et Pitt, 1986**) et le deuxième c'est le milieu Malt(tableaux03)(**Tabuc, 2007**).

Tableaux 02: présentation les ingrédients de Milieu DCPA Modifié (1L)

Milieu DCPA Modifié (1L)	
Peptone bactériologique	15.0±1.0 g
K ₂ HPO ₄	1.0±0.1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5±0.1 g
Streptomycine (solution éthanolique)	2.0±0.1 ml
Crystal violet en solution aqueuse :	1.0±0.1 ml
Agar	15.0±1.0 g
H ₂ O distillée.....	1000±10 ml

Tableaux 03: présentation les ingrédients de Milieu Malt (1L)

Milieu Malt (1L)	
Extrait de Malt.....	20.0±1.0 g
Agar	20.0±0.1 g
Streptomycine (solution éthanolique)	2.0±0.1 ml
H ₂ O distillée	1000±10 ml

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
 - Ces solutions sont utilisées pour éliminés le développement d'autres parasites : les Bactéries.

A.2 Préparation des milieux

A.2.1 Préparation de milieu DCPA

Tous les constituants de milieu de culture à l'exception de la streptomycine sont pesés dans un Bécher contenant 500ml d'eau distillée puis homogénéisé sur un agitateur- plaque chauffante. Après homogénéisation, le volume est ajusté à 1l avec de l'eau distillée

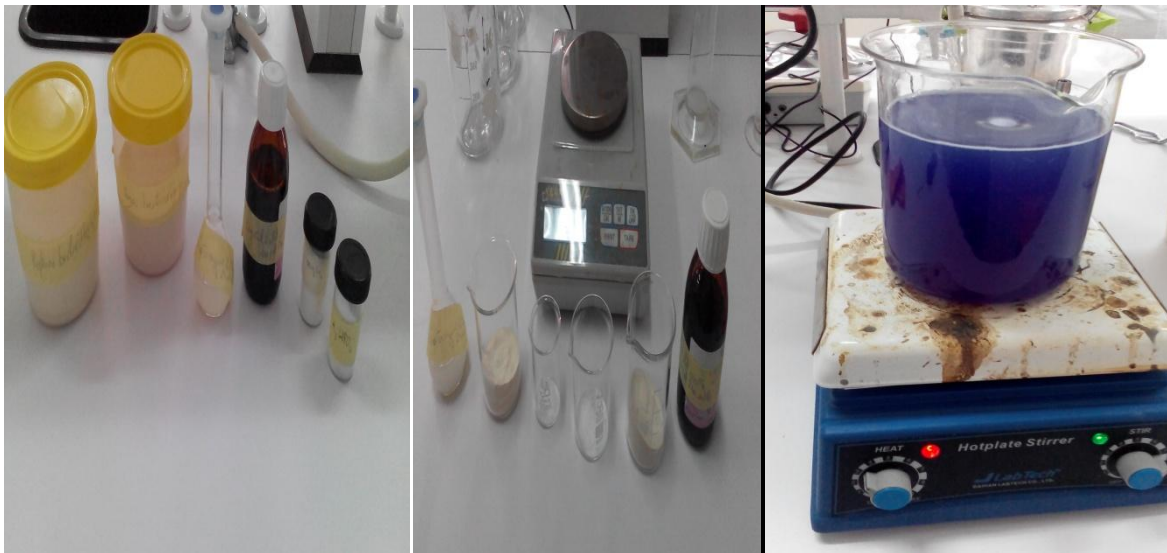


Figure 12 : Préparation de milieu DCPA.

-le milieu ainsi préparé est stérilisé dans un Autoclave à pression de vapeur à 121°C pendant 20 min



Figure 13: Flacons contenant milieu de culture

- Après refroidissement à 60 °C environ, on ajoute les 2ml de la streptomycine à l'aide d'une micropipette et on agite bien. Puis le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire.

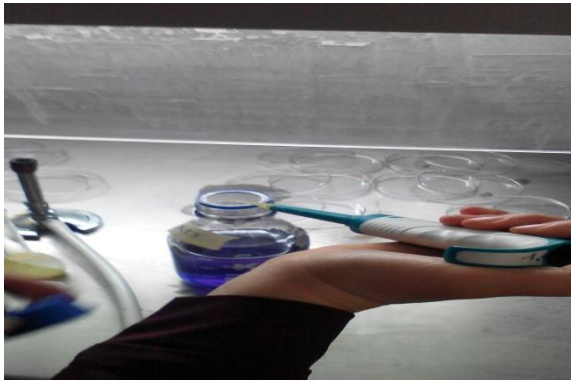


Figure 14 : L'ajout de streptomycine au milieu après refroidissement.



Figure 15: Répartition de milieu gélosé dans des boîtes pétries.

A.2.2. Préparation de milieu Malt

Dans un Bécher on a versé 800ml d'eau distillé, l'extrait de malt (Malt Extract) et l'agar puis homogénéisé sur un agitateur- plaque chauffante. Après homogénéisation le volume est ajusté à 1l avec de l'eau distillée.

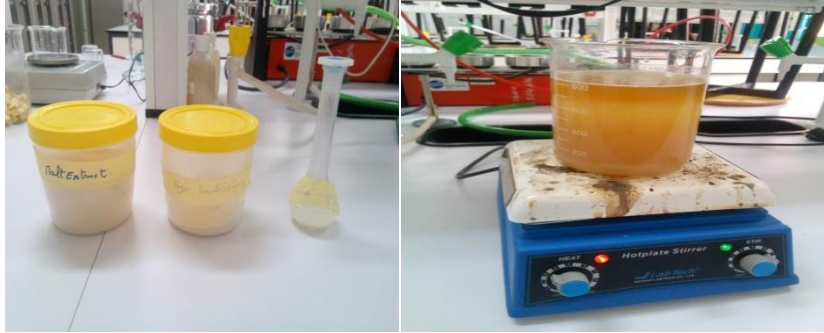


Figure 16 : Préparation de milieu Malt

-le milieu ainsi préparé est stérilisé dans un Autoclave à pression de vapeur à 121°C pendant 20 min. Après refroidissement à 60 °C environ, on ajoute les 2ml de la streptomycine à l'aide d'une micropipette et on agite bien. Puis le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire.

B. Milieux de caractérisation

Pour une étude spécifique et une détermination des espèces fongiques obtenues sur le milieu d'isolement, les colonies sont repiqués sur le milieu SNA et sur le milieu PDA. Le milieu PDA est utilisé également pour la caractérisation culturelle des champignons identifiés sur le milieu d'isolement et le milieu SNA est utilisé pour compléter l'identification des espèces de genre *Fusarium* (LNPV, 2008).

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 de la plupart des champignons microscopiques. Dans notre travail, le PDA est utilisé pour la caractérisation culturelle des champignons et pour l'identification lorsqu'il y a production de conidies (Annexe I)

B-2 SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar (LNPV, 2008))

C'est un milieu minéral composé de sels minéraux, et des faibles quantités du glucose et de saccharose (Annexe I). 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).

I- 3 Autres Matériel**A-Autres Produit utilisés**

- ❖ Eau de javel
- ❖ Solution bleu coton :cette solution est utilisée pour l'observation microscopique des structures fongiques (composition dans l'annexe I).

B-Matériels Verrerie et consommables utilisés (Voir Annexe II)**I-4 Méthodes****A- Détermination de poids de mille (1000) graines**

Le Poids de milles grains est la détermination en grammes de la masse de 1000 grains entiers. 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 la masse (P) de 1000 grains est calculé en multipliant la pesée par 10

Les résultats sont déterminés d'après la formule (**Ait–Slimane Ait-Kaki, 2008**):

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

Avec :

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

B- Détermination de taux d'humidité (teneur en eau)

C'est une méthode qui consiste à effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque échantillon à une température de 105 °C pendant 4h jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Par la suite on calcule l'humidité de chaque échantillon suivant la formule (**Multon, 1982**).

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 pétri en verre et pesées avec une balance analytique.
- Les boites pétries en verre contenant les échantillons sont séchées à une température de 105°C pendant quatre (4) heures.
- Les boites pétri de la prise d'essai sont laissées à refroidir durant 30 mn dans un dessiccateur.

Expression des résultats : la teneur en eau est calculée selon la formule (Multon, 1982) :

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

Avec,

H. Teneur en eau.

M1. La masse de la prise d'essais + la boite de pétri (avant séchage).

M0. La masse de la boite de pétrivide.

M2. La masse de la prise d'essai + la boite de pétri (après séchage)

I-5 Isolement des champignons à partir des grains de céréales

L'isolement des champignons se fait selon deux méthodes et dans deux milieux de culture différents (DCPA et Malt)

A- Méthode indirect (Tabuc, 2007)

Une masse de 20g de grains de chaque échantillon est mise à disperser dans 160 ml d'eau distillée stérile contenant dans un flacon fermant à vis, puis on agite continuellement pendant une demi-heure, après, des dilutions de 1/10 et 1/100 sont préparées à partir du flacon initial :

- Pour la dilution 1/10, on prélève 1ml à partir du flacon initial et on le met dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile
- Pour la dilution 1/100, on prélève 1ml à partir de la dilution 1/10 et on le met dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile

A l'aide d'une micropipette, un volume de 400 μm est prélevé de chaque tube à essai (dilution 1/10 et 1/100) puis mise dans la boîte de Pétri contenant le milieu de culture, le volume prélevé etensemencé grâce à un établiir, on a utilisé deux répétition pour chaque dilution, les boites sont ensuite fermées par le para film et mise à incuber dans un phytotron à 26 °C.

Le but de cette partie de la méthode 1 est d'estimer la mycoflore épiphyte qui reste à l'extérieur du grain (contaminant du surface)

Les grains restants dans le flacon initial sont récupérés à l'aide d'un panier tamis à mailles suffisamment petites pour retenir les grains. Le panier tamis est ensuite égoutté et les grains sont étalés et placés à sécher sur du papier filtre stérile sous un flux stérile.

Parmi les grains parfaitement séchés, au minimum 12 grains sont prélevés de façon aléatoire sur le papier filtre et placés directement sur le milieu de culture à raison de 06 grains par boîte de Pétri. Les boîtes ne sont pas parafilmées, et elles sont ensuite mise à incuber dans un phytotron à 26 °C

Le but de cette deuxième partie de la méthode 1 est d'estimer la mycoflore endophyte et qui reste bien attachée au grain.

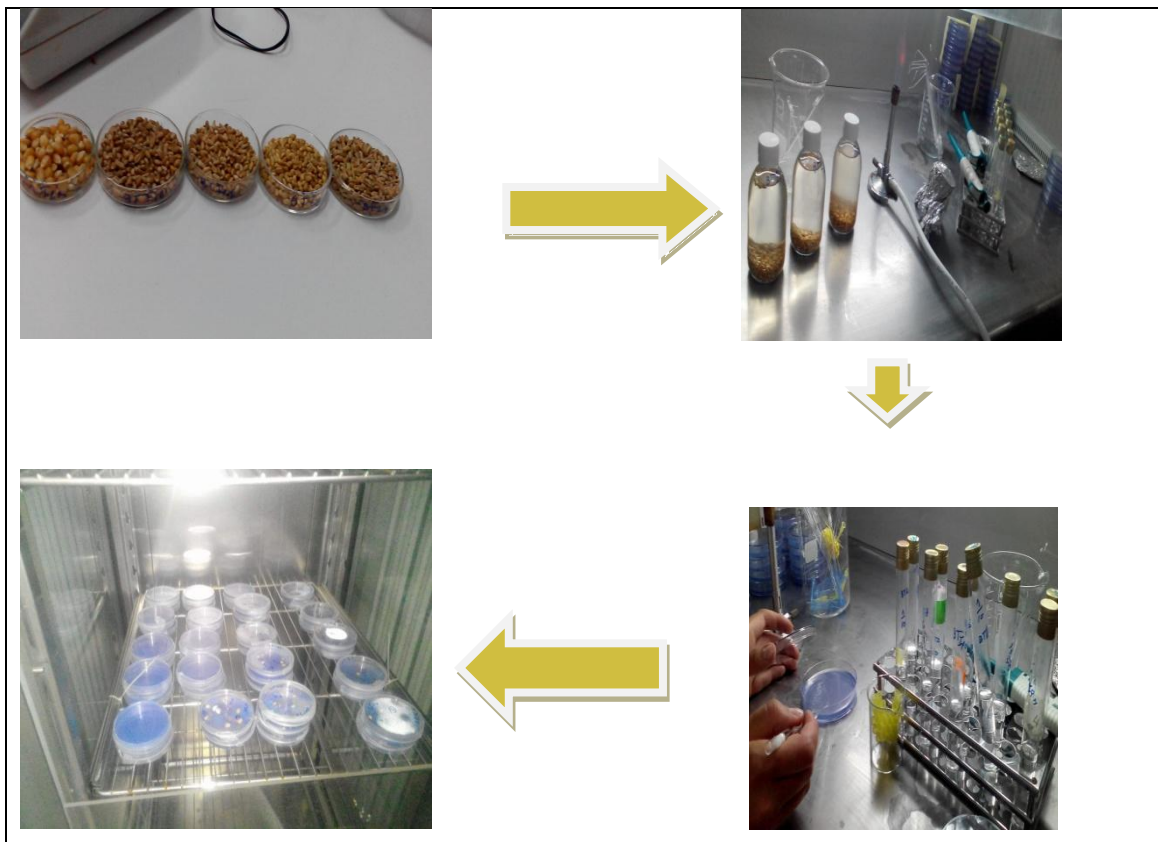


Figure 17:les étapes de la méthode 1

B- Méthode directe (LNPV, 2008 ; Pitt etHoking,1997)

Une masse de 10 g de grains de chaque échantillon sont mise dans un boîte de pétri en verre contenant assez d'eau distillée pour couvrir la totalité des grains , après 15 min , les grains sont égoutté et mis à sécher sur un papier filtre stérile .Parmi les grains parfaitement séchés, au minimum 21 grains sont prélevés de façon aléatoire sur le papier filtre et placés directement sur le milieu de culture DCPA ou Malt à raison de 7 grains par boîte de Pétri. Les boîtes ne sont pas parafilmées.

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées 10 à 12 jours dans le phytotron à 25°C (**Pacinet al.,2002 ; Ghiasianet al., 2004**).

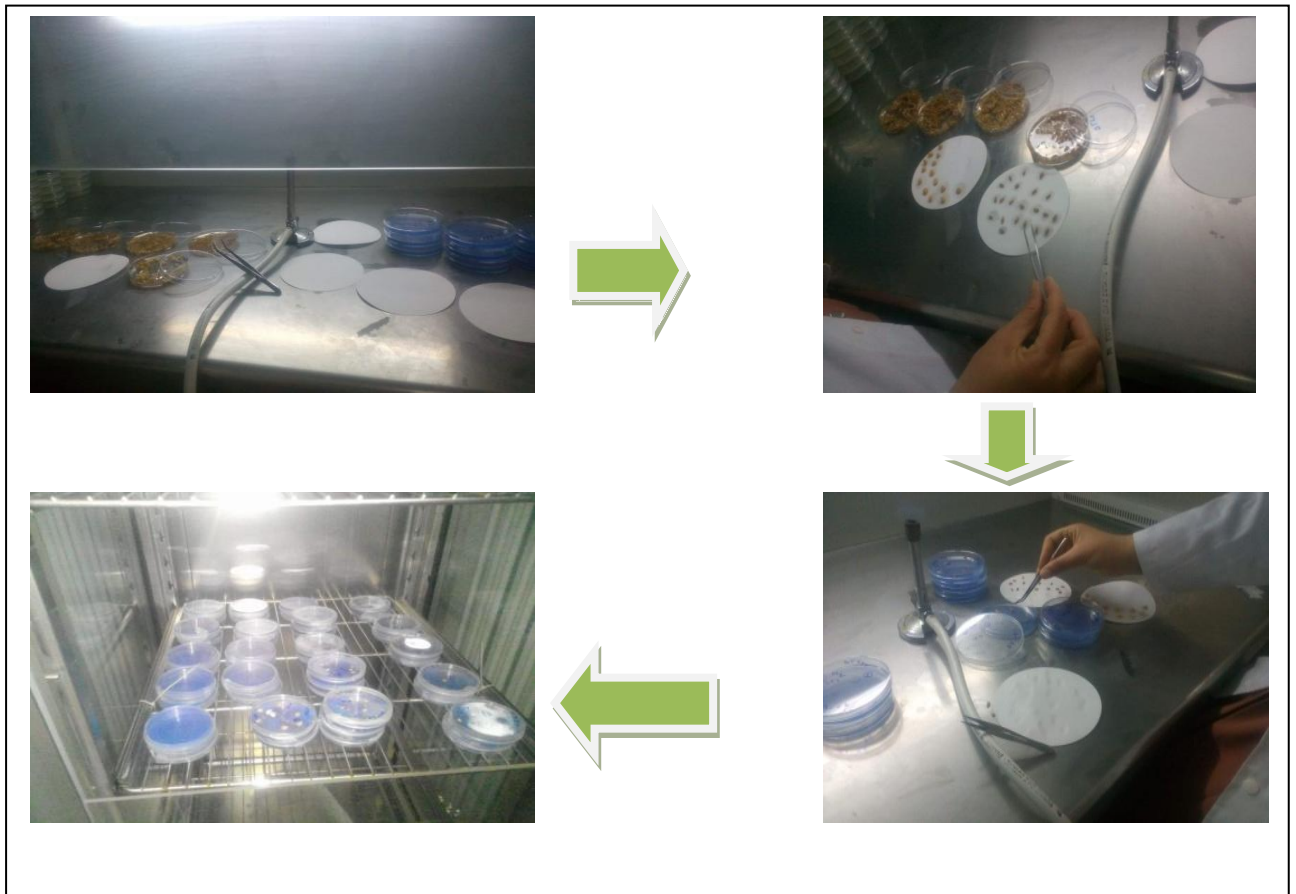


Figure 18 : les étapes de la méthode 2

I-6 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 $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ à l'aide d'un microscope type Motic digital microscope

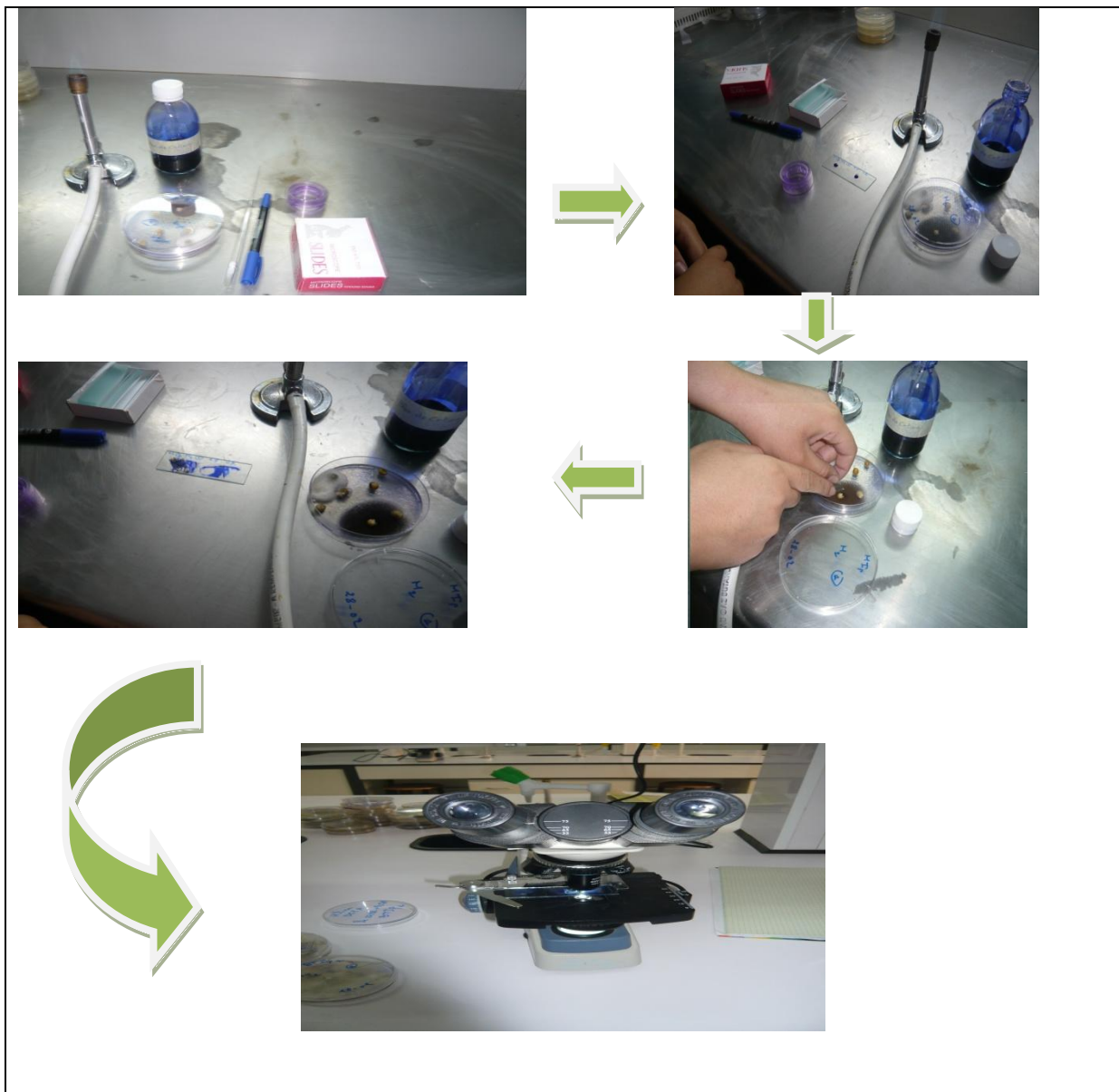


Figure 19 : Préparation des lames parla technique de scotch.

I-7 Caractérisation des champignons isolés

A. Repiquage sur milieu PDA et SNA

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

B. Incubation

Les boîtes pétries PDA et SNA sont placées dans le phytotron à température contrôlée de 26°C pendant 7 à 12 jours pour le développement des champignons.



Figure 20 : Repiquage des champignons sur PDA et SNA.

C. Lecture des boîtes SNA et PDA

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux (Identification macroscopique) et à la morphologie des spores et du mycélium (identification microscopique).

C-1. 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 nue et elle se base essentiellement sur les caractères suivant. D'après **Tabuc, (2017)**

- 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.

C-2 .Etude des caractères morphologiques microscopiques

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, scotch et coloration avec le bleu de coton. Pour le genre *Fusarium*, un second prélèvement sur le milieu SNA est nécessaire afin de pouvoir identifier les espèces, ce prélèvement consiste à recueillir des *sporodochia* à l'aide d'une fine pointe stérile. Dans la majorité des cas, les *sporodochia* se situent à proximité du morceau de gélose qui a servi au transfert de la culture. Ensuite un montage entre lame et lamelle en présence d'une goutte de bleu de coton est réalisé.

Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart et 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.

I-8 Identification des isolats fongique

La détermination microbiologique de l'espèce et ou de genre d'un isolat repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques morphologiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références spécifiques ou générales tels que clés de (Nelson *et al*, 1983), (Nirenberg, 1982) et (Leslie et Summerell, 2006) pour le genre *Fusarium*, clés d'identification de Lanier *et al* (1976) qui sont des clés générales, on a utilisé également les clés de (Pitt, 1988), (Raper et Fennell, 1965) et (Botton *et al*, 1990).

I-9 Expression des résultats

A. Calcule de pourcentage de germination des grains

Le nombre de grains germés est noté pour chaque boîte de pétri après 7 à 8 j d'incubation pour les deux milieux semi-sélectif (milieu DCPA modifié et Malte) 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 boites pour les deux milieux d'isolement :

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

C- Calcule de pourcentage relatif de contamination pour chaque genre fongique

D'après l'observation des grains infectés sous microscopique optique par la technique de scotch, on note pour chaque prélèvement le genre de champignon observé, ensuite on calcule le pourcentage de chaque genre fongique trouvé par échantillon (**Fisher et Petrini, 1987**),

$$\text{PRC} = \text{NGC} \times 100 / \text{NTGC}$$

PRC : Pourcentage relatif de contamination

NGC : Nombre de grains contaminés par un genre fongique

TNGC : Nombre total des grains contaminés

Chapitre III

Résultat et discussion

I- Détermination de poids de mille graines (PMG)

D'après les résultats obtenus dans notre étude de poids de mille graines (**figure 21**), on trouve que ce paramètre varie chez le blé tendre entre 31.25g pour le BTIP1 et 46.08g pour le BTL1. Mais de façon générale les valeurs de PMG chez le blé local sont plus élevées.

Pour le maïs le PMG est de 149.38g.

Les valeurs de PMG mesurées sur blé tendre de Bouira dans notre étude (38,62- 40,76%) sont supérieures à celles observées par (**Mallek ,2017**), cet auteur a calculé le PMG chez les grains de blé tendre provenant de 10 vergers de la wilaya de Bouira et a trouvé des valeurs allant de 30,78% à 38,90%. Cette différence peut être expliquée par la variabilité variétale, mais également par le taux de la pluviométrie, rappelant que pendant la campagne agricole précédente, on a assisté à un printemps très pluvieux (**Feradji et Saada, 2018**), ce qui a permis un bon remplissage des graines.

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**).

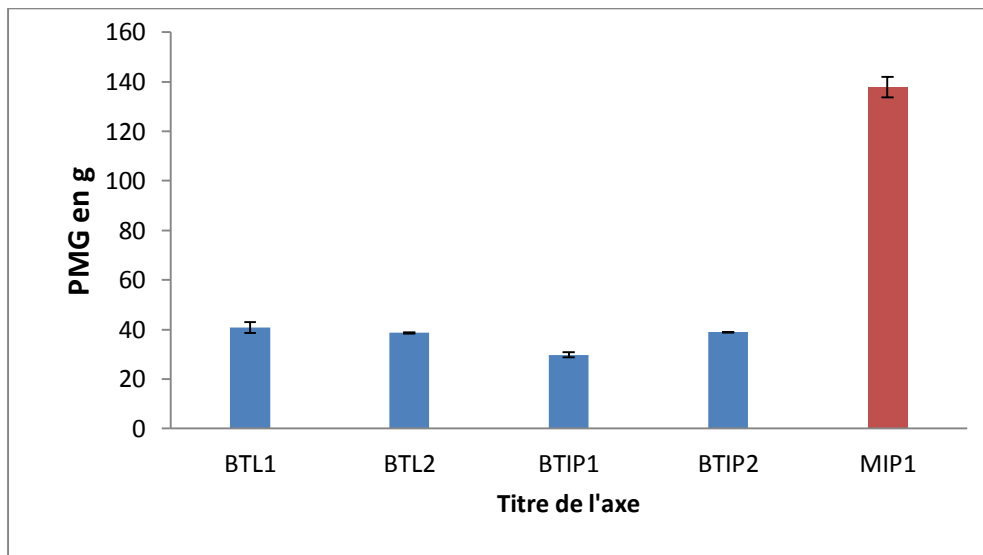


Figure 21 : Le poids de mille graines de différents échantillons de blé et du maïs

II -Détermination de taux d'humidité

Pour les résultats de taux d'humidité les valeurs varient chez le blé tendre entre 7.49 % pour le BTL et entre 8.25% pour le BTIP. Pour le maïs la valeur de taux d'humidité est de 7.78%.

Les valeurs de taux d'humidité mesurées sur blé tendre dans notre étude sont inférieures à celles observées à Bouira par (Mallek, 2017), cet auteur a trouvé des valeurs allant de 7.8% à 9.2%

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. (Nguyen, 2007)

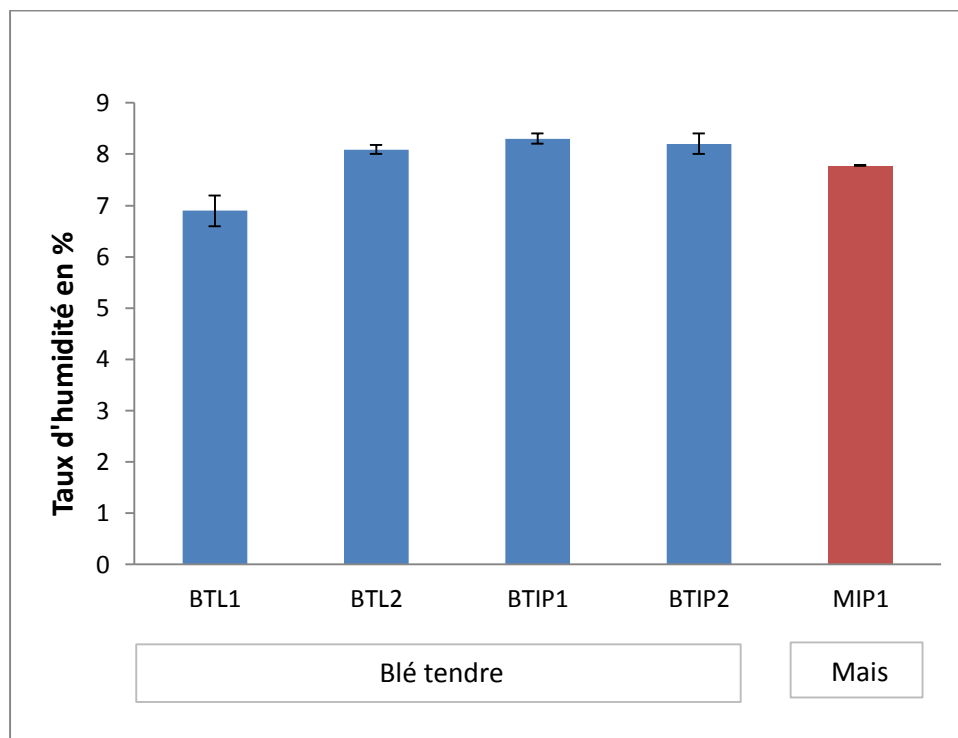


Figure 22 : Le taux d'humidité de différents échantillons de blé et du maïs.

III -Taux de germination des graines

D'après les résultats de taux de germination (Tableau 04), on trouve que le pourcentage de germination est élevé pour tous les échantillons de blé tendre. La valeur la plus élevée est observée pour les grains de BTL1 alors que la moins élevée est observée pour le BTI2. Pour le maïs, le taux de germination est nul.

Tableaux 04 : Taux de germination de différents échantillons de blé et du maïs.

Echantillon	BTL1	BTL2	BTI1	BTI2	Mais
Taux de germination	97.77%	95.55%	95.55%	94.47%	00%

IV-Taux de grains contaminés

Dans la présente étude 298 graines de blé tendre et de maïs ont été ensemencées pour la recherche de contamination fongique. 285 graines du total était infectées par les champignons, ce qui représente un taux d'infection d'environ 95.63%. Le taux de contamination détaillé pour chaque échantillon dans les deux milieux de culture est présenté dans la **figure 24**.

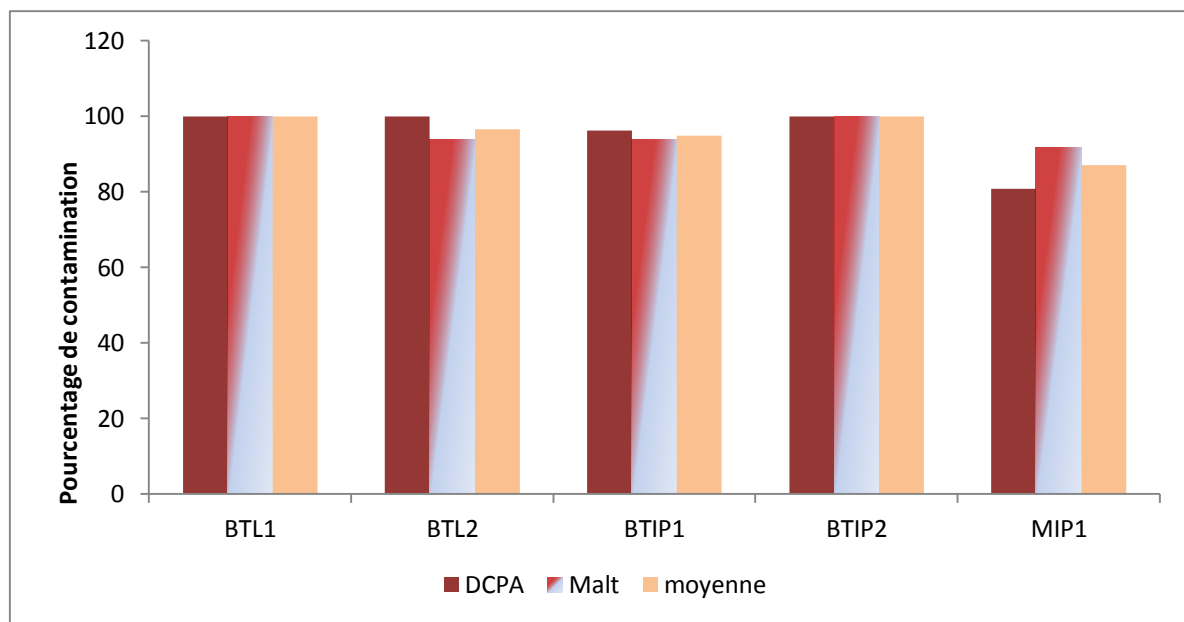


Figure 23: Pourcentage de contamination des graines.

Le taux d'infection dans les échantillons de blé tendre varie entre 93.93% et 100% avec une moyenne de 99.0% de contamination pour le milieu DCPA et de 97% pour le milieu Malt ; Donc, le milieu de culture ne semble pas avoir un effet sur contamination générale des graines de blé tendre. Pour le maïs le milieu Malt semble être plus favorisant pour le développement des contaminants fongiques (taux de contamination moyenne : DCPA = 80,77% ; Malt = 91,67% ; moyenne=87,09%).

Le pourcentage d'infection enregistré dans notre étude est très élevé. 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 (*Triticumaestivum 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.

V - Dénombrement des contaminants fongiques par gramme de grains

Le dénombrement des colonies fongiques formées sur les échantillons de blé tendre et du maïs dans les milieux de culture selon la méthode 1 est résumé dans le **tableau 5** : Les résultats d'analyses montrent que les grains de maïs sont plus contaminés que les grains de blé avec 4000 UFC/g pour le milieu DCPA et 4400 UFC/g pour le milieu Malt. D'autre part le milieu Malt s'avère plus efficace pour le dénombrement des contaminants fongiques que le milieu DCPA (une moyenne de 3352 UFC/g pour le milieu Malt contre 1540 UFC/g pour le milieu DCPA) ; En effet le milieu Malt contient 20 g d'extrait de malt qui une bonne source de carbone et de facteurs de croissance favorisant le développement des champignons.

Tableau 05 : Dénombrement des colonies fongiques formées selon la méthode 1 dans les deux milieux de culture (UFC/g)

Echantillon	Nombre de colonies sur DCPA (UFC/g) ^o	Nombre de colonies sur Malt (UFC/g)
BTL1	2100	2900
BTL2	200	2600
BTIP1	600	3660
BTIP2	800	3200
MIP1	4000	4400
Moyenne	1540	3352

VI- Identification de la mycoflore associée aux deux types de céréales

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse des critères culturels et morphologiques. Ces derniers sont constitués par des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopiques tel que l'aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores (Tabuc, 2007).

A l'occasion de ce travail, on a pu obtenir plusieurs isolats fongiques. L'analyse de ces isolats a permis l'identification de 12 genres fongiques, la plupart de ces genres a pu être identifié directement sur les deux milieux d'isolement (DCPA et Malt) sans avoir besoin du recours au milieu SNA et PDA. Dans le cas de l'absence des spores sur les milieux d'isolement, les colonies sont repiqués sur le milieu SNA qui provoque la sporulation des champignons et le milieu PDA pour la caractérisation macroscopique.

Ainsi, on a pu isolé et identifié douze 12 genres fongiques sur les deux milieux de culture. Les genres fongiques isolés sur le milieu DCPA sont en nombre de (08) et qui sont : *Alternaria*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Absidia*, *Cunninghamella* et *Phoma*. Alors que les genres isolés sur le milieu Malt sont en nombre de dix (10) et qui sont : *Alternaria*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Ulocladium*, *Absidia*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Phoma* et *Penicillium*.

Les figures 25 jusqu'au 38 présentent les champignons isolés dans cette étude, leurs aspects macroscopiques sur milieu PDA et leurs morphologies microscopiques après montage et coloration par le bleu de coton à partir du milieu d'isolement et/ou milieu SNA.

. *A-Cunninghamella echinulata*

Les colonies ont montré une croissance rapide sur le PDA, atteignant un diamètre de 9 cm après 7 jours à 26°C. La couleur de la colonie était initialement blanche avec mycélium très abondant, puis légèrement jaunâtre dans les cultures très âgées (**figure 24 1 ;2**)

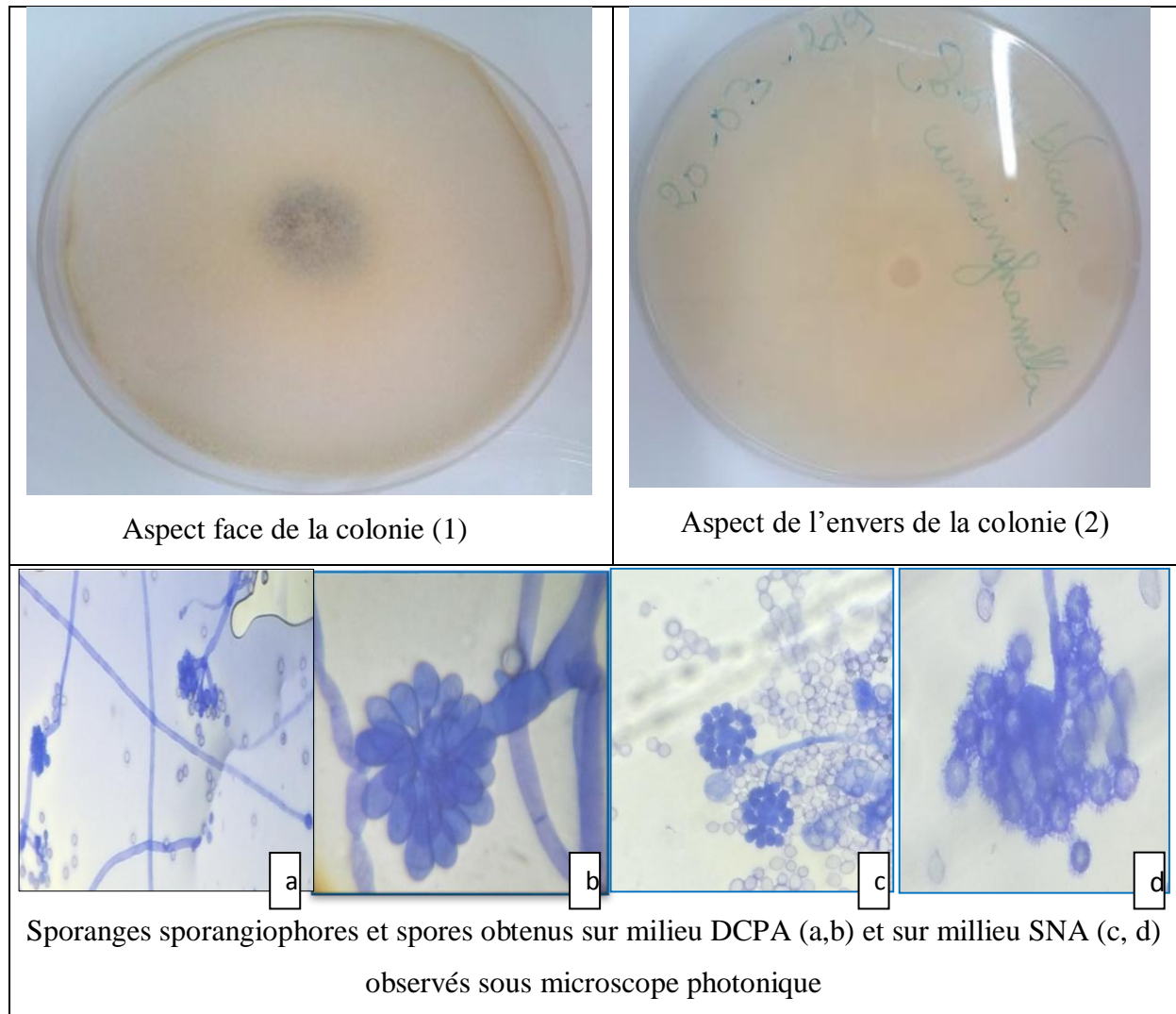


Figure 24: Observation macroscopique et microscopique de *Cunninghamella echinulata*

Les sporangioles sont ovales, globuleuses. Les vésicules terminales sont globuleuses à sous-globuleuses. Les vésicules latérales ont une forme similaire à celle des vésicules terminales, mais sont de taille plus petite. Ce genre se caractérise par la reproduction asexuée de sporanges avec des spores uniques pédicellés qui recouvrent généralement la surface de vésicule. Les sporangioles obtenues sur milieu DCPA sont lisse alors que sur milieu SNA elles sont couvertes d'épines allongées ; ces caractéristiques correspondent à celles rapportées par plusieurs auteurs (Alvarez et al., 2009 ; Nguyen et al., 2017). Ce champignon a été isolé uniquement à partir de grains de maïs sur le milieu DCPA. Ce genre fongique est fréquemment isolé à partir des grains de céréales (Soliman, 2003).

B -*Aspergillus niger*

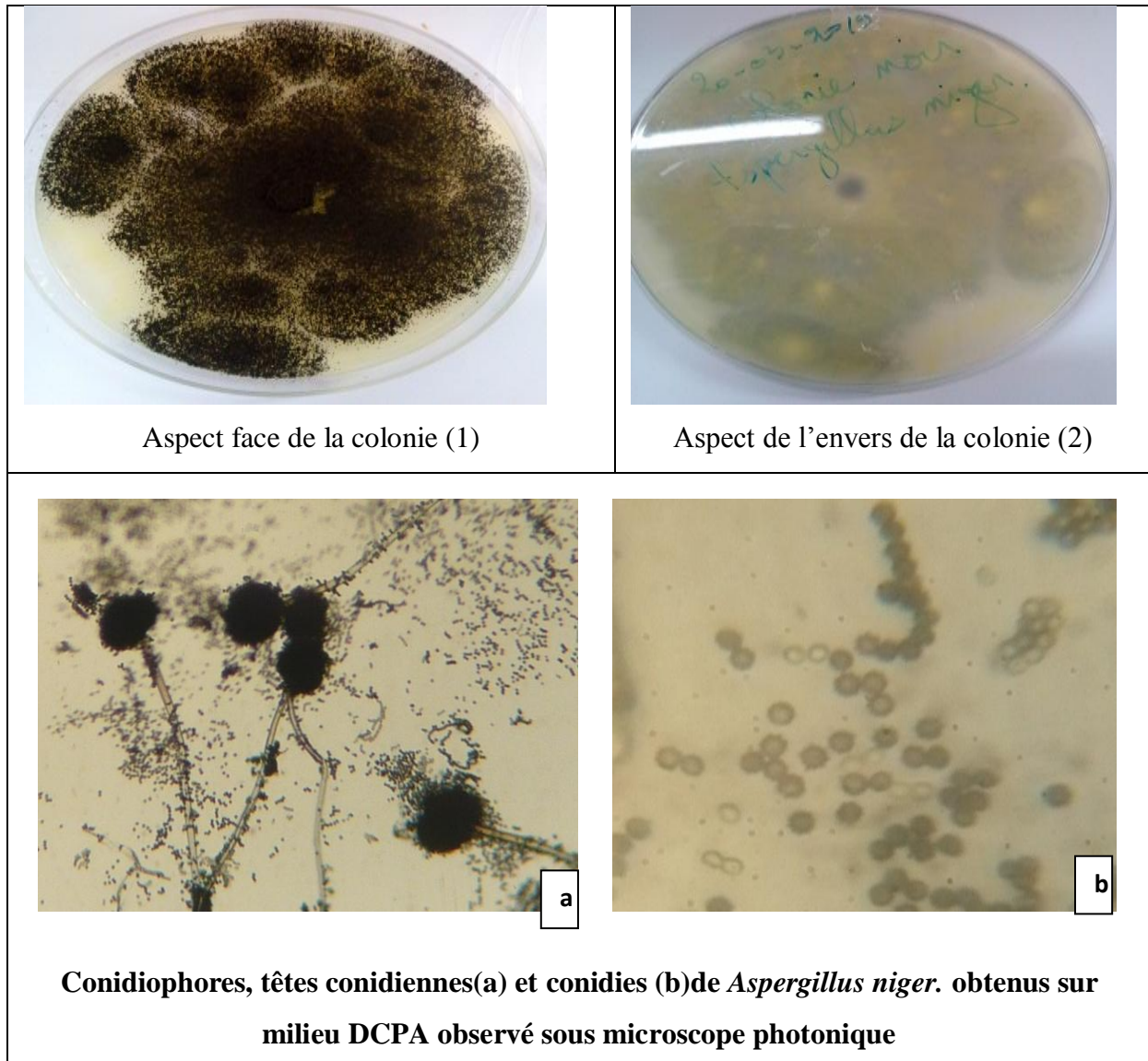


Figure 25: Observation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus niger*.

Sur milieu PDA, les colonies d'*A. niger* sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore à jaune pâle (**figure 25 [1,2]**).

Les têtes conidiennes, bisériées, radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres ou noires. Les conidiophores sont longs, lisses, brunâtres dans leur moitié supérieure. Les vésicules sont globuleuses et entièrement fertiles (**figure 25 a**). Les phialides sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables. Les conidies sont habituellement globuleuses et sont brunes, échinulées à très verruqueuses (**figure 25 b**). Cette description est en accord avec celle rapporté par **Nyongesa et al (2015)**.

C -Aspergillus sp

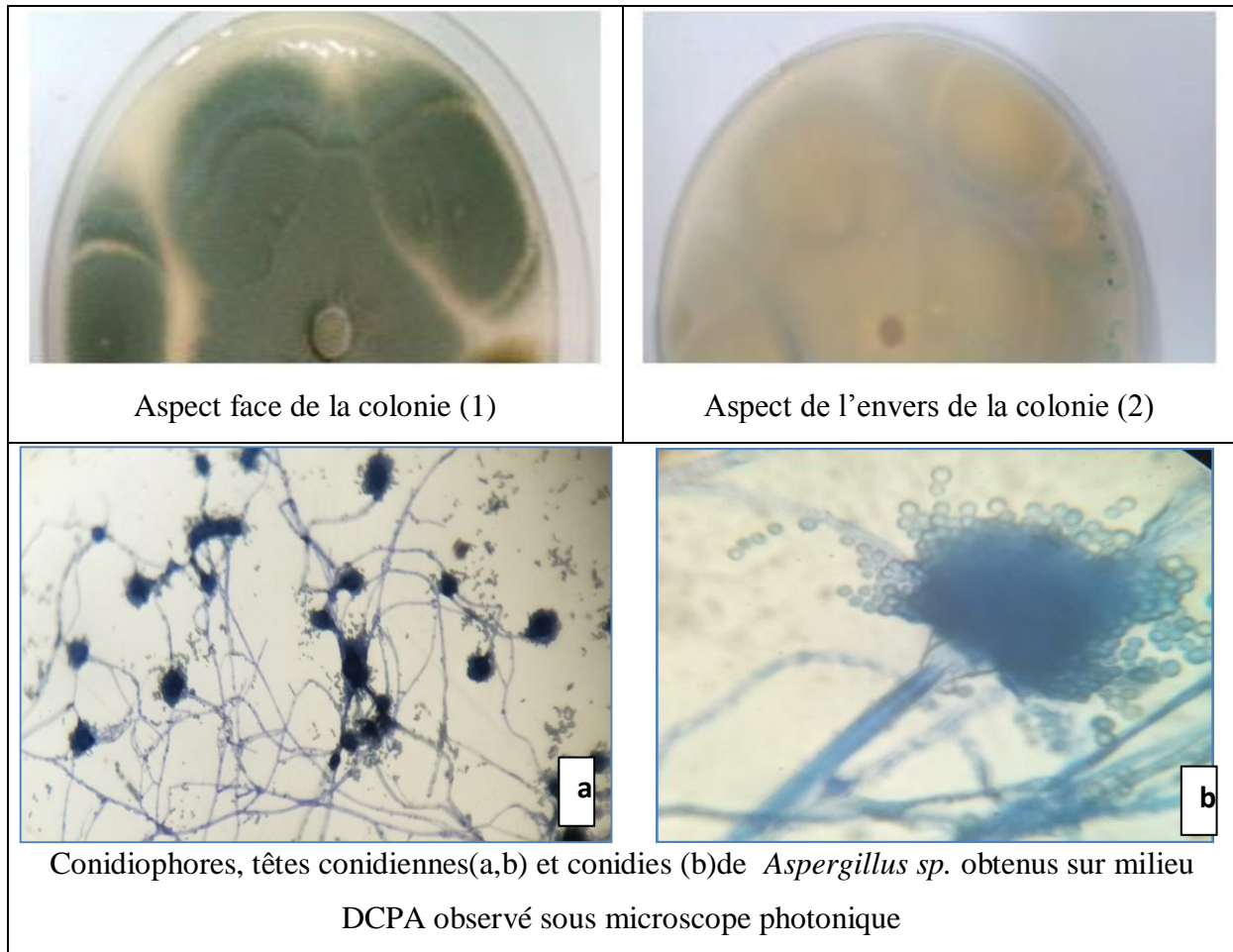


Figure 26: Observation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus sp*

Sur milieu PDA, Les colonies d'*Aspergillus sp* sont plates, poudreuses blanches au début, puis deviennent vertes à maturité. Le revers des colonies est incolore à jaune très pâle (**figure 26 [1,2]**). Sous microscope, le mycélium apparaît hyalins et septés, les conidiophores sont hyalins et non septés (**Figure 26, b**), les têtes conidiennes sont unisériées alors que les conidies sont globuleuse et hyalins. Cette description correspond au genre *Aspergillus* décrit par plusieurs auteurs (**Badillet et al.,1987 ; Raper et Fennell, 1965**). Cette espèce a été isolée sur les grains de blé tendre locaux et importés.

D-Aspergillus flavus

Sur la PDA, les colonies sont granuleuses, plates, souvent avec des rainures radiales, jaunes au début, mais deviennent rapidement jaune-vert foncé avec l'âge (**figure 27 1, 2**).

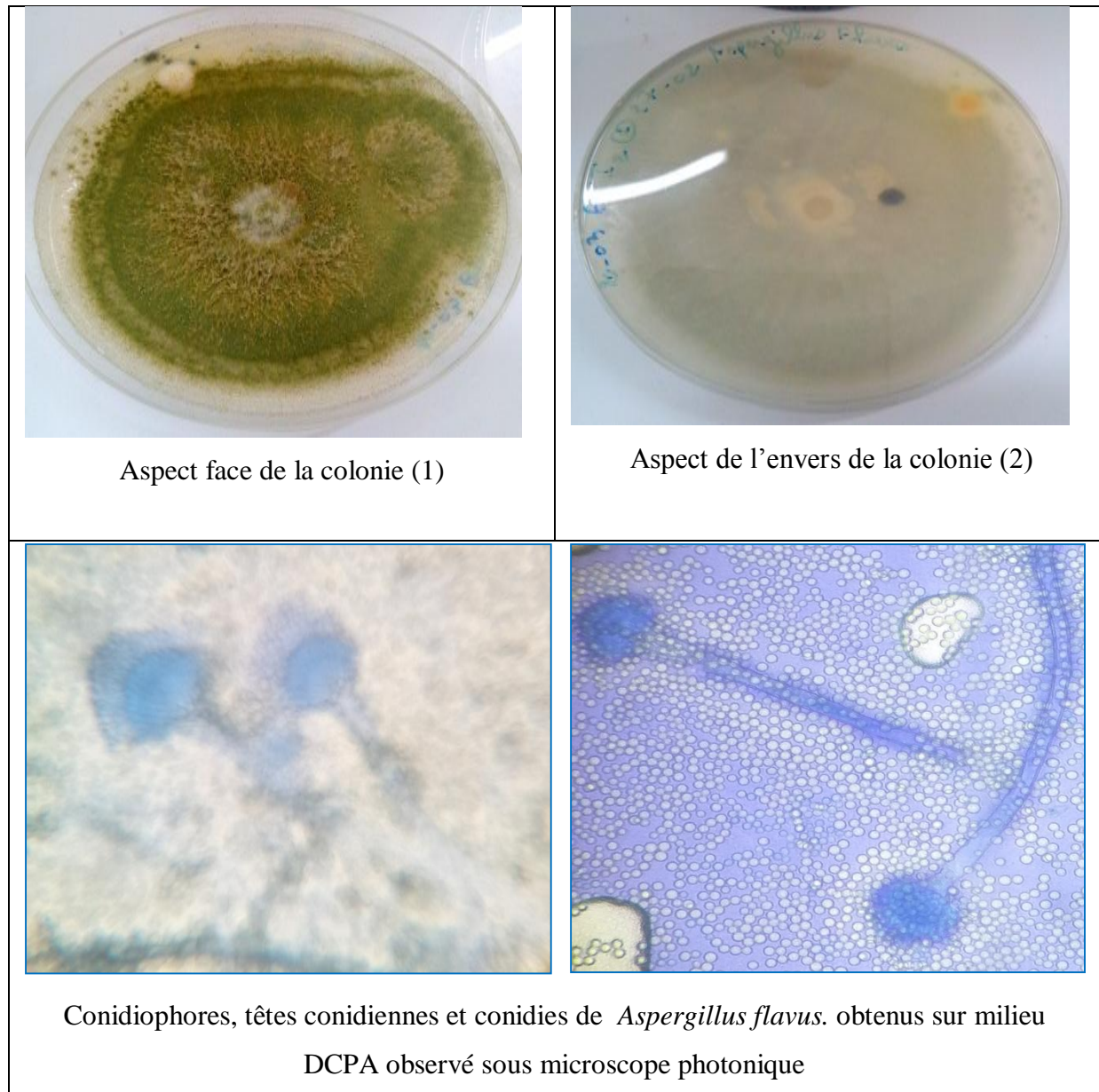


Figure 27 : Observation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus flavus*

Les têtes conidiales sont généralement radiées, se divisant plus tard pour former des colonnes lâches, bisériées mais présentant certaines têtes avec des phialides directement sur la vésicule (unisériées). Les conidiophores sont hyalins. Les conidies sont globuleuses à sous-globuleuses. Ces observations sont en concordance avec celles rapportées par **Tabuc, (2007)**.

E- Verticillium lecanii

Sur milieu PDA les colonies apparaissent blanches, veloutées à cotonneuses, le revers de la colonie est pale à incolore, sous microscope photonique, ce champignon présente des conidiophores dressés portant des phialides solitaire ou surtout verticillés portant. Les phialides sont généralement en forme de poinçon et les conidies sont à paroi lisse, hyalines et

unicellulaires.de forme cylindriques à ellipsoïdales, Les conidies sont produites en en fausse têtes .cette description correspond à celle rapportées par plusieurs auteurs (**Watanabe, 2002; Sumalatha et al., 2017**). *V. lecanii* est l'un des champignons hyphomycètes entomophages les plus courants et les plus importants sur les pucerons, les thrips, les diptères, les homoptères, les hyménoptères, les lépidoptères et les acariens. Les autres substrats importants de *V. lecanii* sont les rouilles et autres champignons (**Alavo, 2015**).

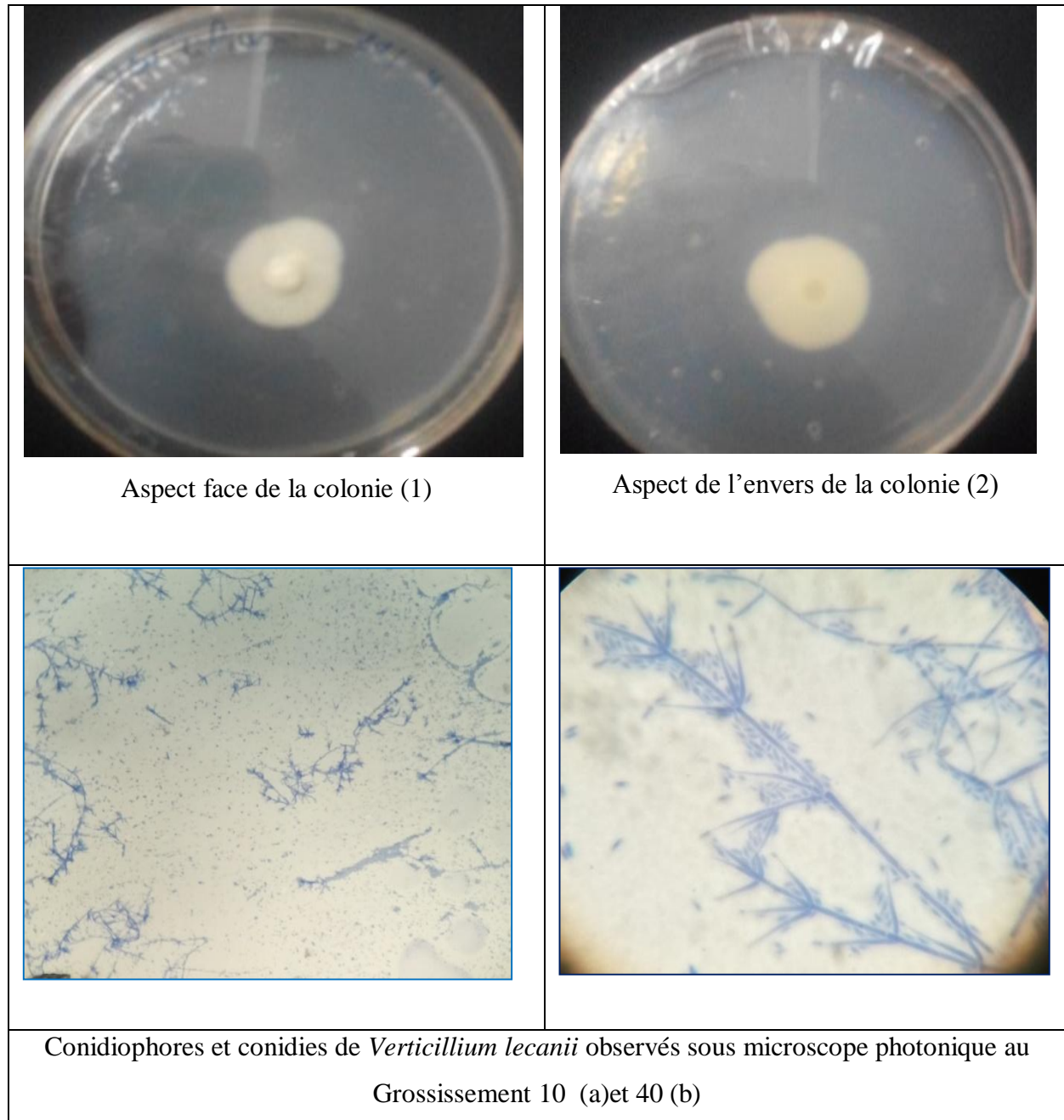


Figure 28: Observation macroscopique et microscopique de *Verticillium lecanii*

F- Cladosporium

Les espèces de *Cladosporium* produisent des hyphes foncés septés, des conidiophores érigés et pigmentés et des conidies. Deux espèces ont été isolées dans cette étude :

- *C. cladosporioides* : Sur gélose pomme de terre (PDA), le taux de croissance du *Cladosporium* est modéré à 25 °C , et la texture des colonies varie également de veloutée à poudreuse. La couleur des colonies est de vert olivâtre à noire; le revers de la colonie est noir. Les conidies sont en général de forme elliptique unicellulaire, sont brun. . Les conidies sont produites en chaîne ramifiée qui se désarticule facilement à maturité. Les parois des conidies sont lisses ; ces observations sont en accord avec **Bensch et al (2012)**. Cette espèce produit des conidies en abondance sur milieu PDA (**figure 29**)

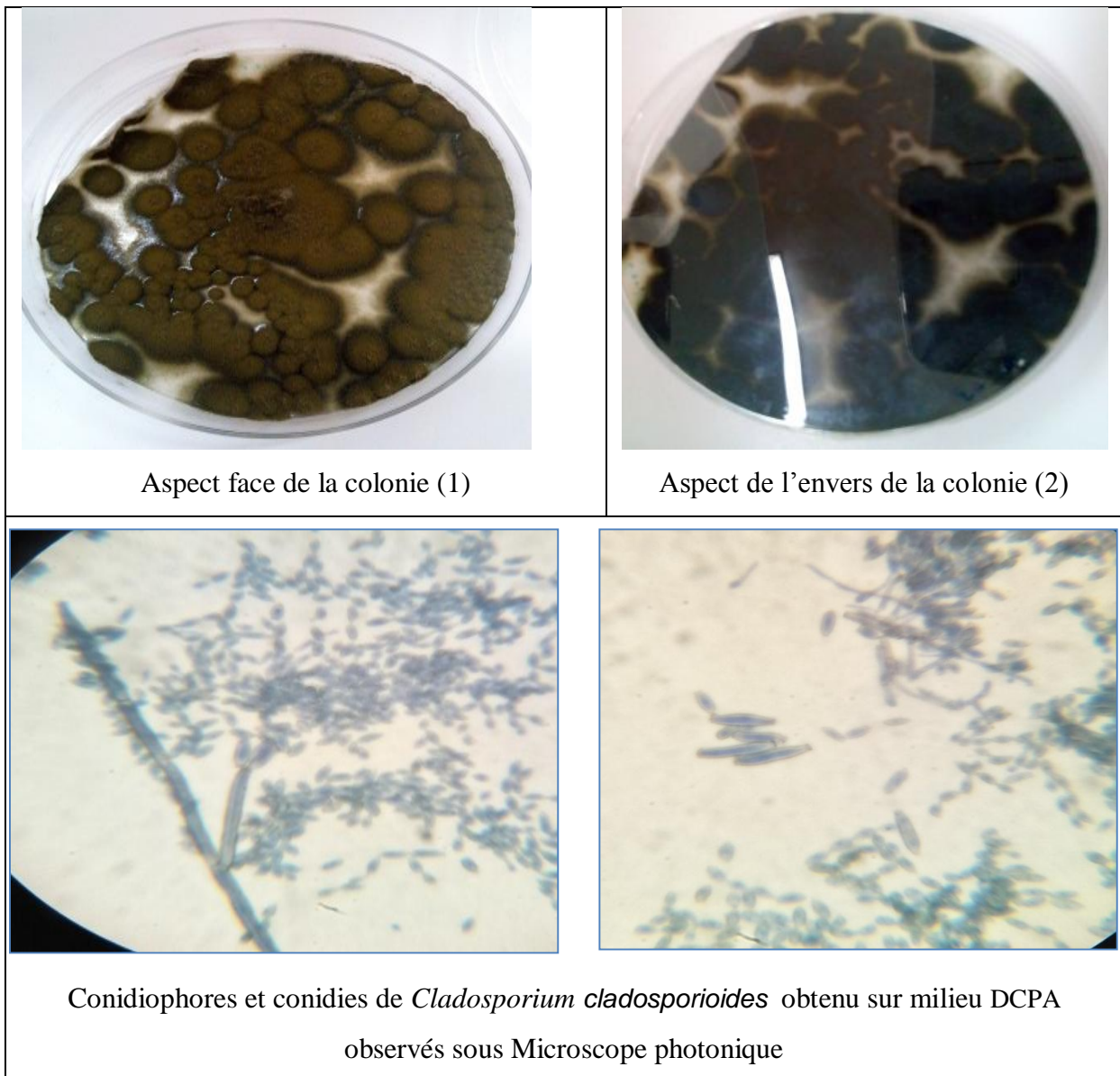


Figure 29 : Observation macroscopique et microscopique *Cladosporium cladosporioides*

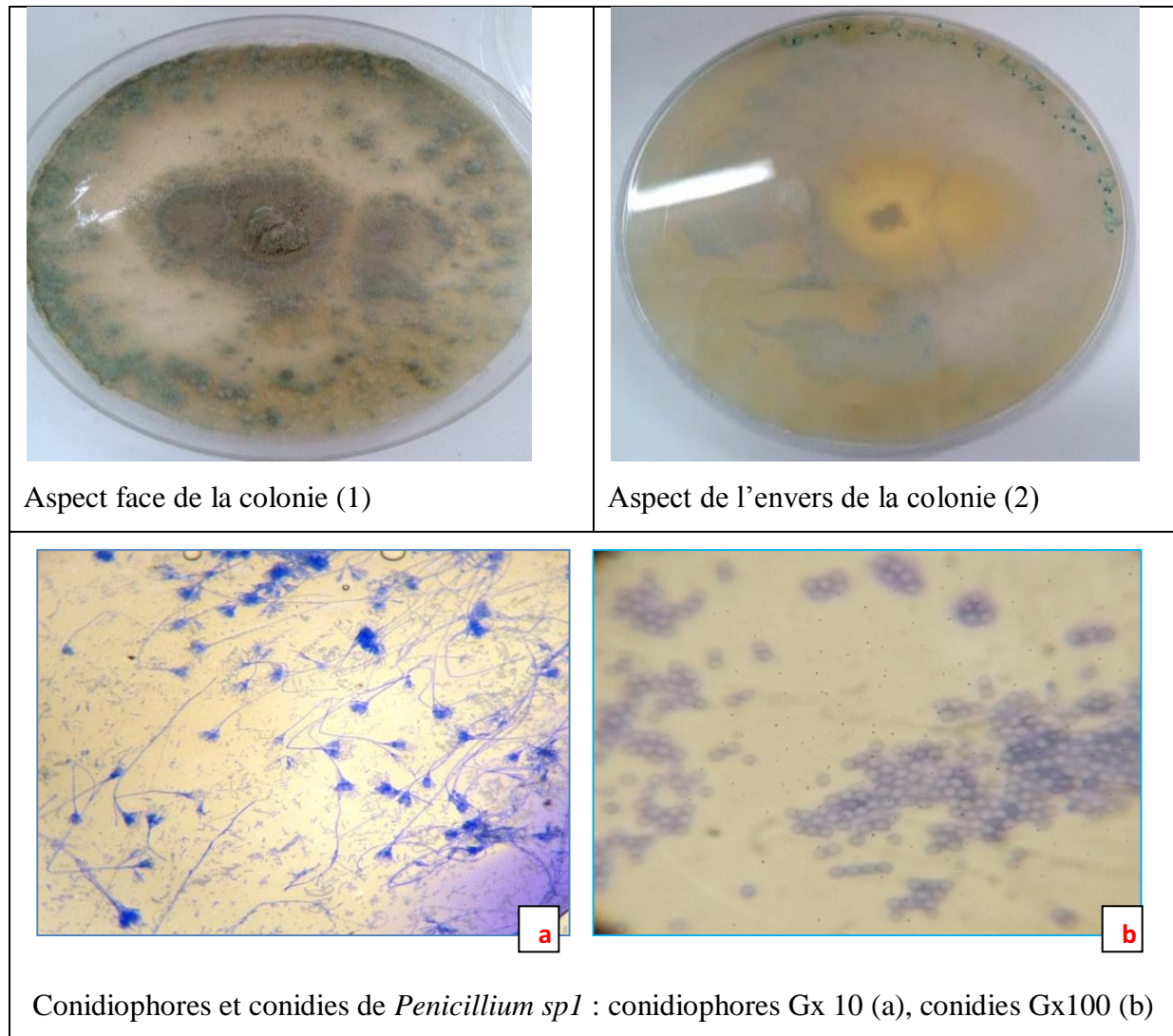
- *Cladosporium sp* : caractérisé par une croissance lente sur milieu PDA, les colonies sont vert olivâtres et le revers est noir verdâtre, cette espèce sporule peu sur milieu PDA. Mais sporule de façon satisfaisante sur milieu SNA (**Figure 30**)



Figure 30: Observation macroscopique et microscopique *Cladosporium sp*

G- *Penicillium sp1*

La colonie de *Penicillium sp.* est de couleur verte. Le mycélium est septé hyalins, porte des conidiophores lisses. Le conidiophore est droit, généralement non ramifié, avec des verticilles au sommet (.organisation en pinceau) Les conidies sont en chaînes, avec une forme globuleuse et sont à paroi lisse, cette description correspond au genre *Penicillium* (Tabuc,2007)



Conidiophores et conidies de *Penicillium sp1* : conidiophores Gx 10 (a), conidies Gx100 (b)

Figure 31 : Observation macroscopique et microscopique de *Penicillium sp1* (sur milieu DCPA) de *Penicillium sp1*

H- Alternaria sp1

Sur milieu PDA, cette espèce présente des colonies de couleur brune à noire. Les conidiophores sont solitaires ou formant de petits groupes, simples ou ramifiés de couleur brun clair. Les conidies se forment en chaîne, ovoïdes, de couleur à brun foncée, verruqueuses, avec des cloisons transversales, et longitudinales. Cette description correspond au genre *Alternaria* (Rémi et al., 1997)

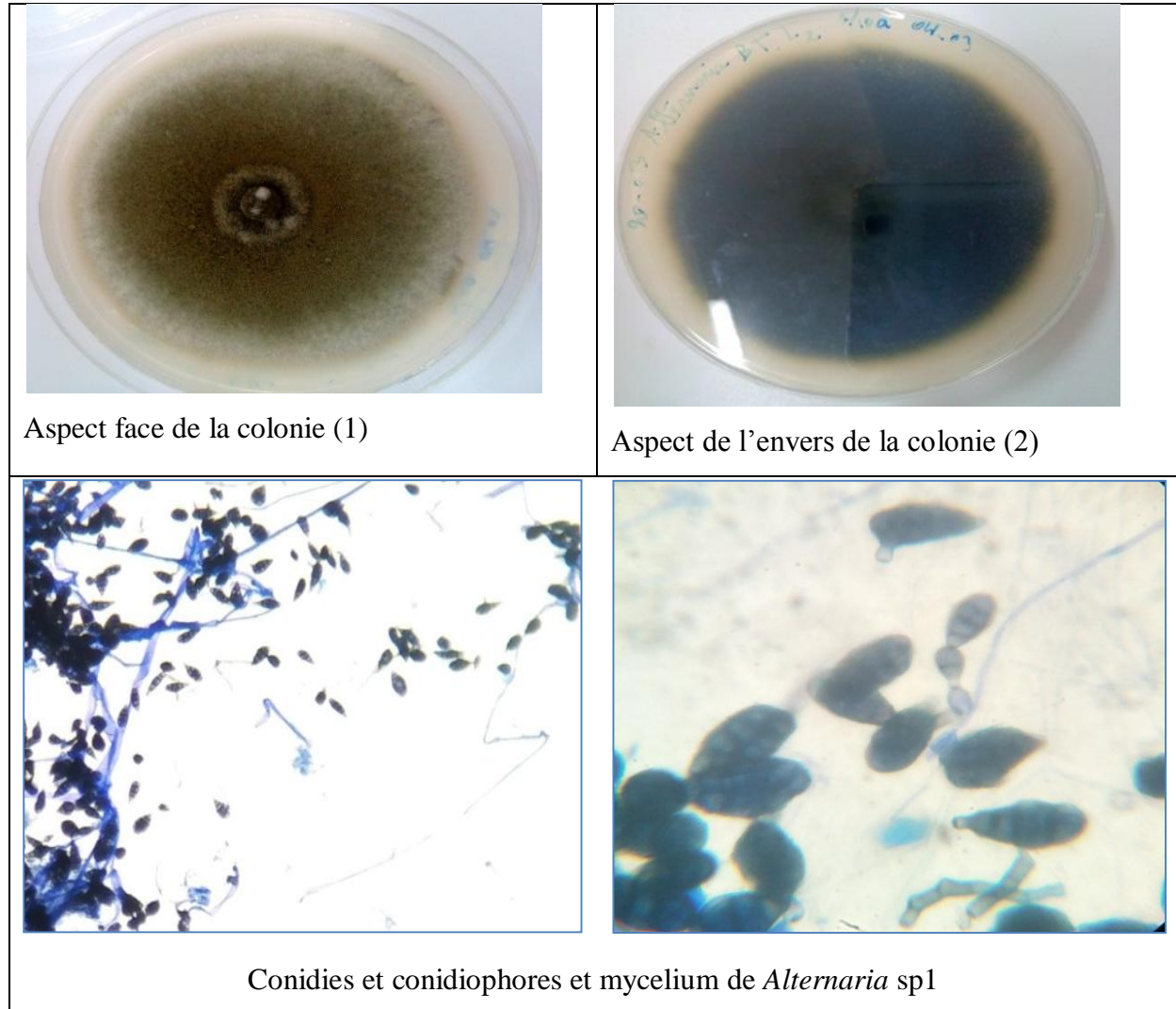


Figure 32 : Observation macroscopique(1) et microscopique (2) de *Alternaria* sp 1

I- Fusarium

Ce champignon se développe vite sur les géloses PDA. Les colonies, cotoneuses, le mycelium est abondant aérien, blanc à jaune et rosé, «. Le revers est rouge carmin. Le pigment diffuse dans la gélose. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies sont fusiformes, courbées, et présentent 3 à 7 septum. La cellule apicale des macroconidies est en forme de bec et la cellule basale est pédiforme. Cette description correspond à celle de **Nelson et al (1983)** et **(Leslie et summerell, 2006)**.

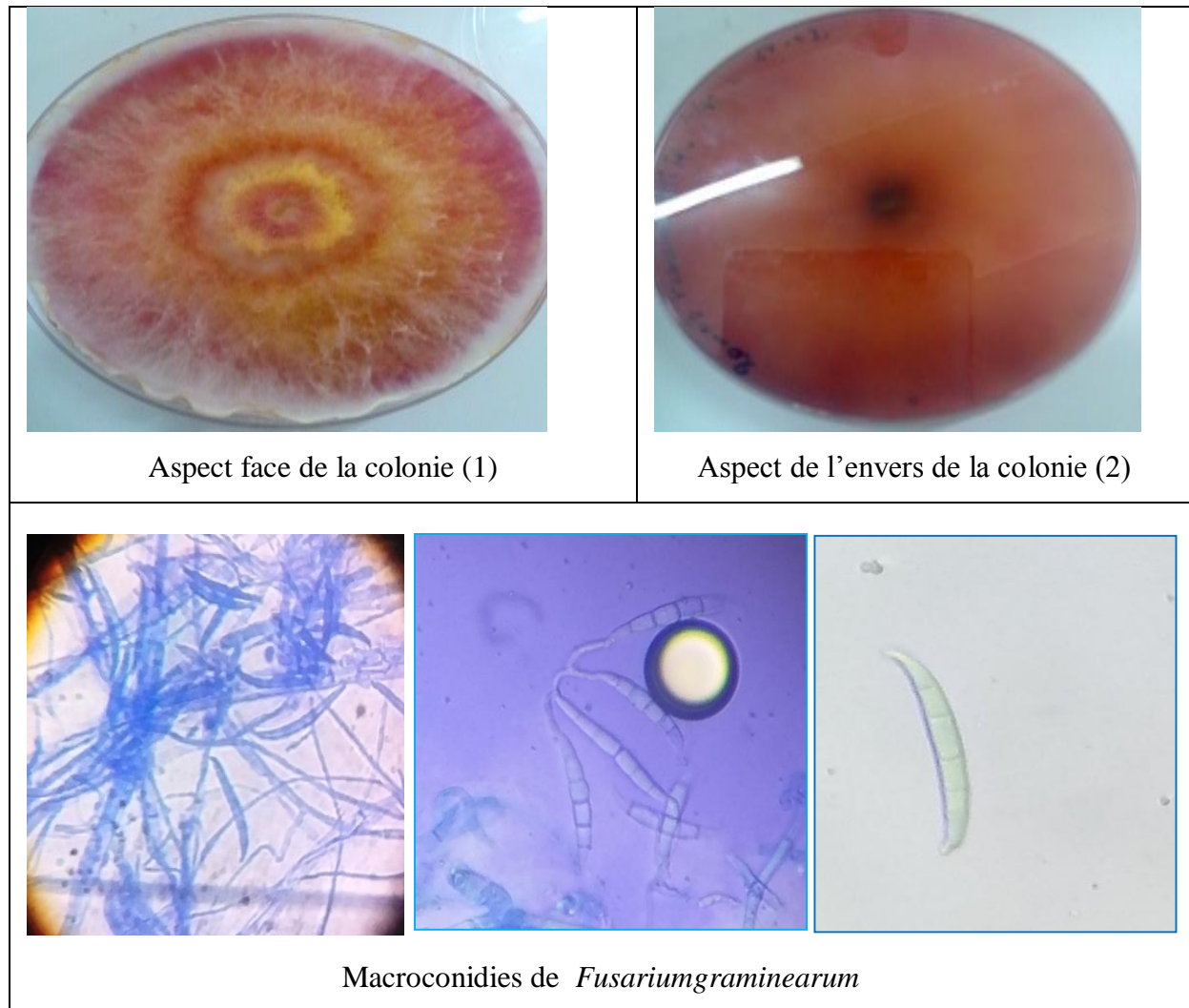
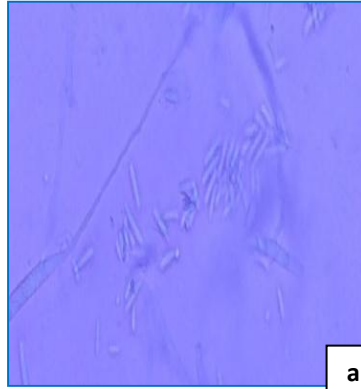


Figure 33 : Observation macroscopique (1) et microscopique (2) de *Fusariumgraminearum*

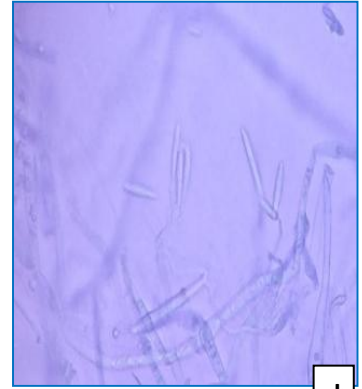
D'autres espèces de *Fusarium* ont été isolées à partir de l'échantillon de blé tendre d'importation, leurs aspects macro et microscopiques sont illustré dans la figure 35, leurs morphologies est comparé à la clé d'identification de **Nelson et al (1983)** ; et **Leslie et summerell (2006)**, deux espèces correspondait à *F solani* et *F avenaceum*, la 3^{ème} espèce n'a pas été déterminée.



Fusarium sp

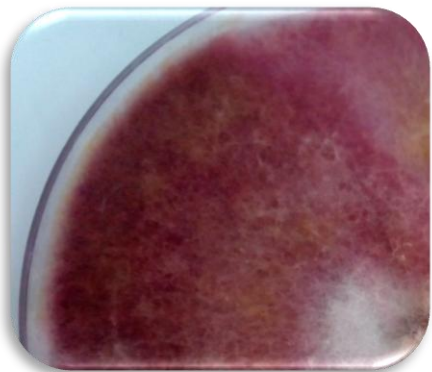


a

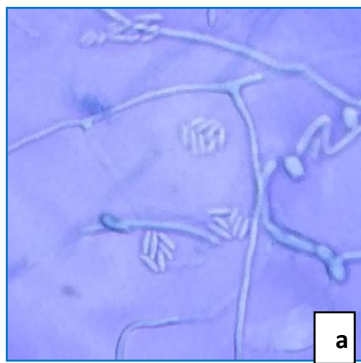


b

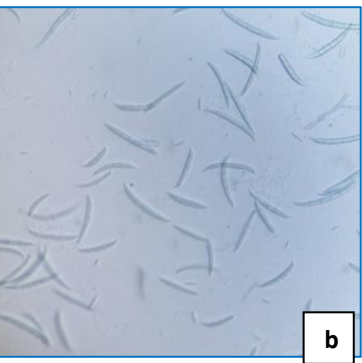
Microconidies (a) et macroconidies (b) de *Fusarium sp*



Fusarium solani

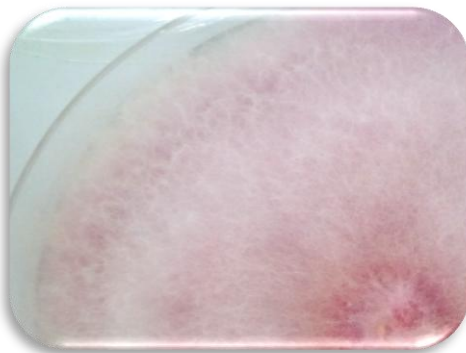


a

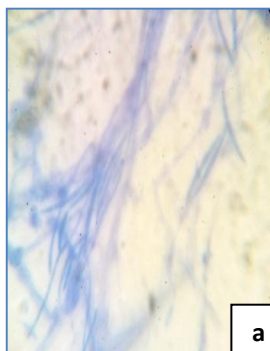


b

Microconidies (a) et macroconidies (b) de *Fusarium solani*



Fusarium avenaceum



a



b



c

Macroconidies (a, b) et microconides (c) de *Fusarium avenaceum*

Figure 34 : Aspect microscopique et macroscopique des *Fusarium sp*, *Fusariumsolani* et *Fusariumavenaceum*

K- *Phoma sp*

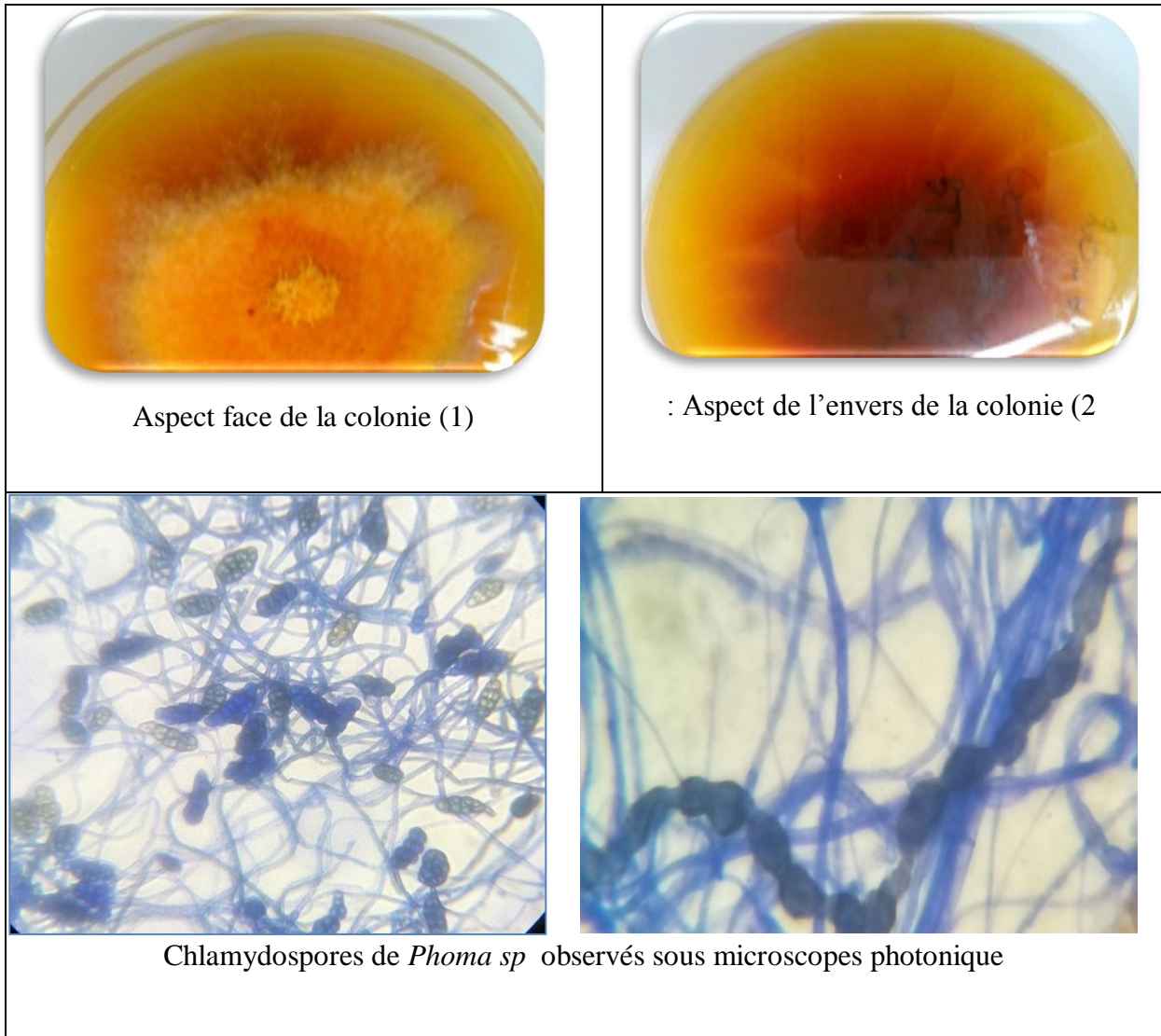


Figure 35: Observation macroscopique (1) et microscopique (2) de *Phomasp*

Sur PDA les colonies sont à croissance moyenne et de couleur jaune orangé à orange, duveteuse, le revers est orange foncé. Les chlamydospores de cette espèce ressemblent beaucoup aux spores produites par le genre *Alternaria*. Ces observations sont proches de description de **Watanabe (2002)**.

L- Absidiasp

Les colonies ont une croissance rapide, de couleur blanche devient brun à gris pâle avec un mycélium siphonné très abondant. Les sporangiophores sont hyalins à faiblement pigmentés, simples ou parfois ramifiés

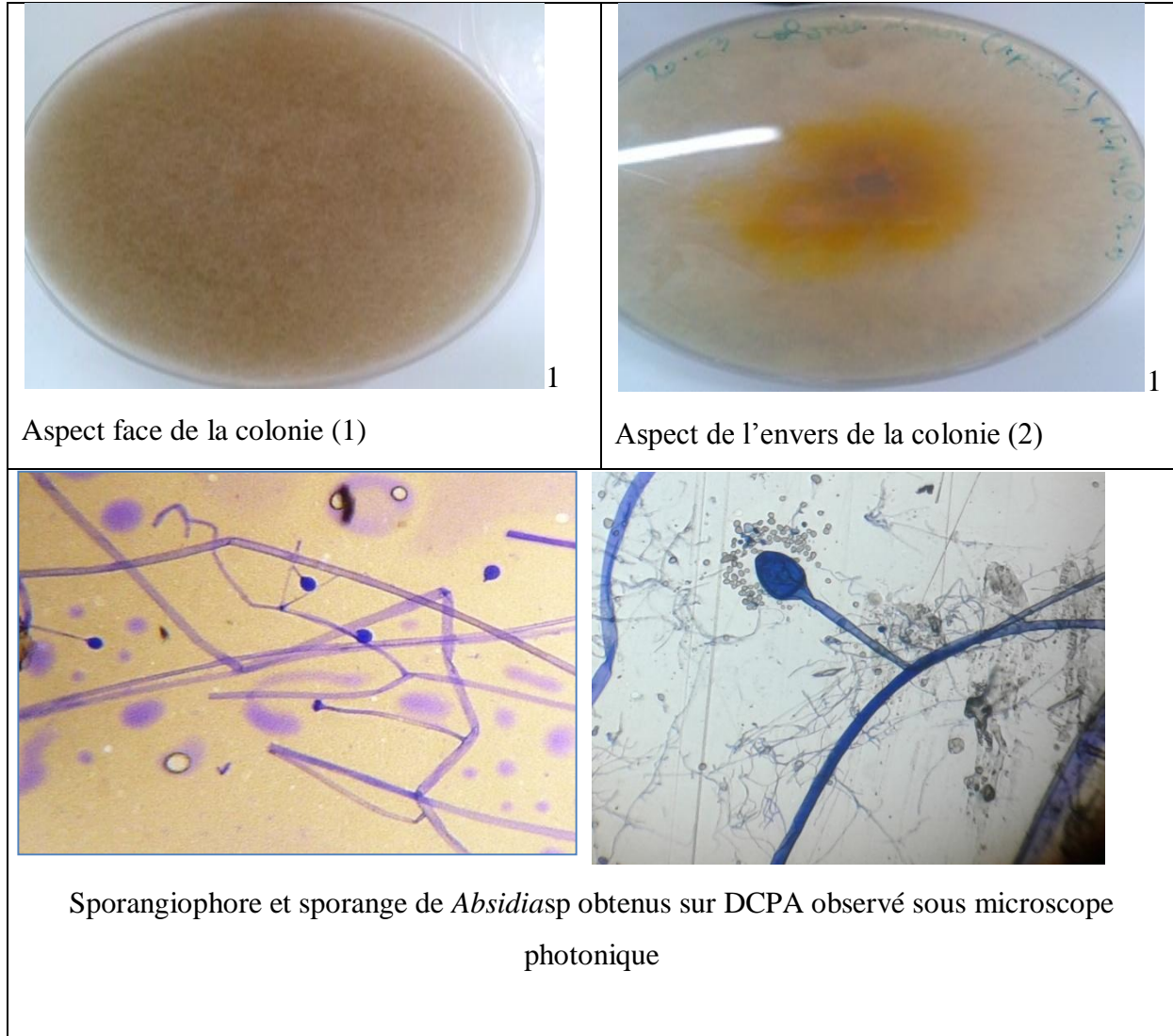


Figure 36 : Observation macroscopique (1) et microscopique (2) *Absidiasp*

Les sporanges sont petits et ont une forme typiquement pyriforme avec une columelle de forme conique caractéristique et une apophyse prononcée. Les sporangiospores varient de globuleuses de couleur brun gris clair et à paroi lisse (**Chabasseet al., 2002, watanabe, 2002**).

M- Autres espèces

Autres espèces ont été observés directement sur les deux milieux d'isolement, ces espèces n'ont pas été caractérisés sur les deux milieux PDA et SNA ; il s'agit de *Rhizopus sp*, *Alternaria sp2*, *Ulocladium sp*, *Paecilomyces sp*

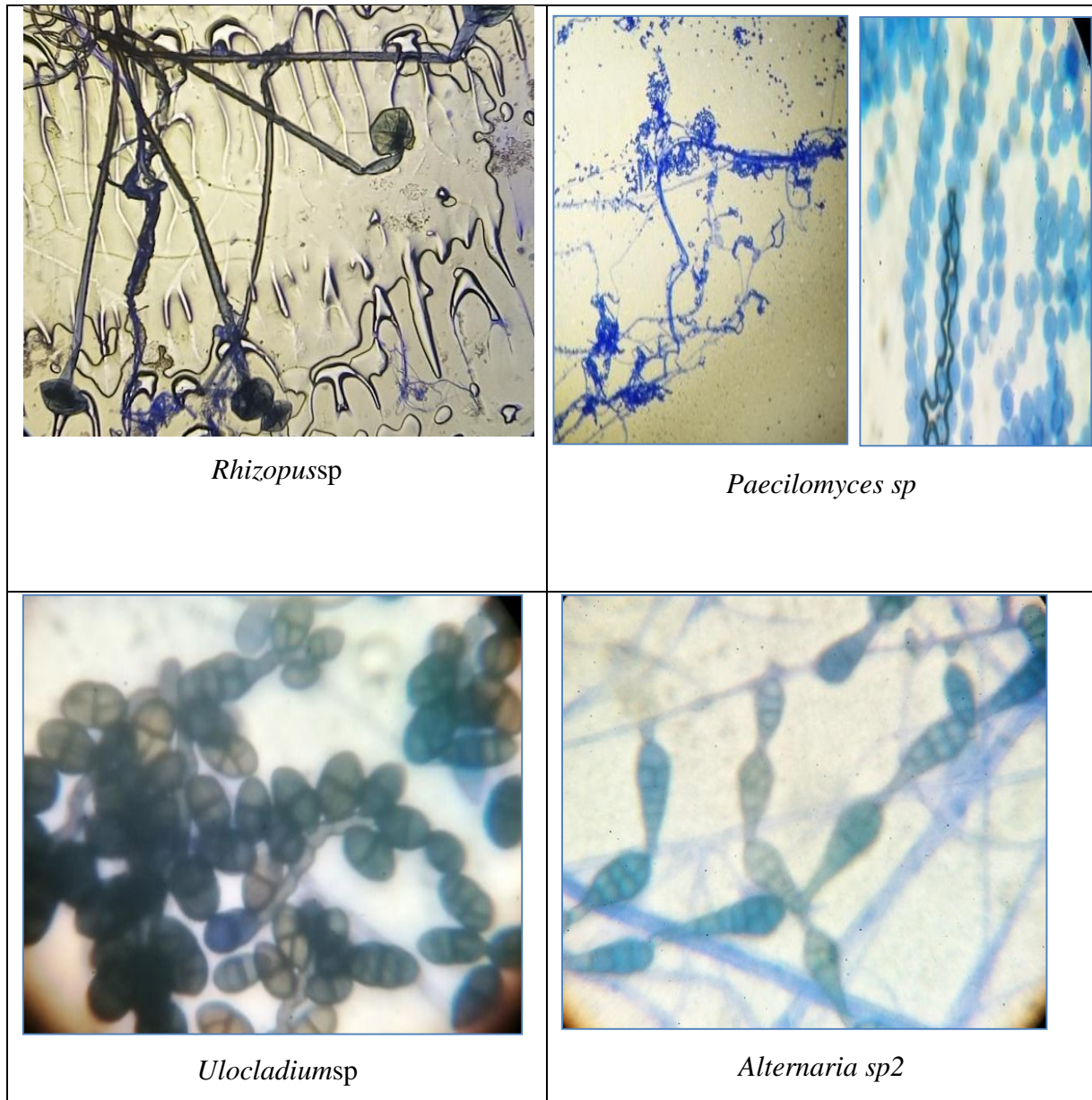


Figure 37 :Autres espèces observées sous microscopes photonique

A l'occasion de notre étude, on a constaté une grande diversité de la mycoflore associée au grain des céréales étudiées, la même constatation a été faite par (**Gonzalez et al., 1997, et Soliman, 2003**)

La plupart des genres suivant *Rhizopus*, *Alternaria* et *Fusarium*, *Cladosporium*, *Verticillium*, *Ulocladium*, *Phoma*, sont naturellement présentes sur les cultures en plein champs et dans le sol autant que saprophyte ou phytopathogènes (**Withlow et al., 2001, Zillinsky, 1983**). Alors que d'autres genres tels que *Aspergillus* et *Penicillium* sont des moisissures de stockage. Ces derniers sont capables de se développer sur des substrats faiblement hydratés tels que les grains.

La plupart des genres fongiques rencontrés dans notre travail appartiennent au phylum Ascomycota (*Fusarium*, *Alternaria*, *Ulocladium*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Phoma*), alors que les autres appartiennent au phylum zygomycota (*Absidia*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*).

Une grande partie des genres fongiques rencontrés dans nos études ont été également isolés sur céréales en Algérie (**Gacem et al., 2011, Mansouri, 2011**)

VI-Fréquence d'isolement de différents genres fongiques

La fréquence d'isolement de différents contaminants fongiques à partir des cinq échantillons de blé tendre et de maïs dans est présentée dans la **figure 38**.

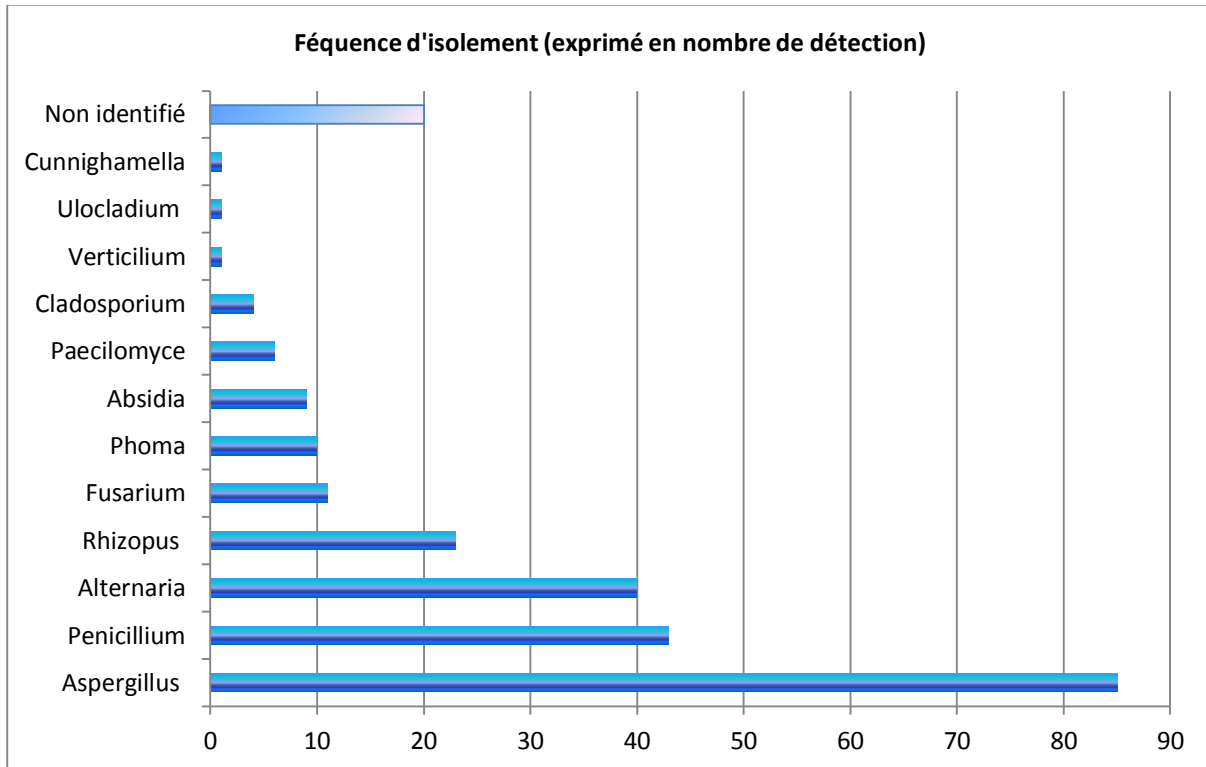


Figure 38 : fréquence d'isolement des différents genres fongiques dans les cinq échantillons de céréales

Les résultats montrent que le genre fongique le plus dominant dans les milieux d'isolement et avec les deux méthodes (Méthode 1 : méthode indirecte ; Méthode 2 : méthode directe) est le genre *Aspergillus* avec 85 détections suivi de genre *Alternaria* et *Penicillium* avec 43 et 40 détections respectivement ; le genre *Rhizopus* est présent avec 23 détections et le genre *Fusarium* avec 11 détections. Pour les autres genres fongiques, une fréquence de détection égale ou inférieure à 10 est enregistrée.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapporté par **Nguyen (2007)** cet auteur analysé 50 échantillons de grains de riz et a trouvé également que le genre *Aspergillus* est plus dominant suivi de genre *Penicillium*. **Tabuc (2007)** a analysé des grains de blé, maïs et orge sur trois années consécutives (2002, 2003, 2004) et a trouvé également que le genre *Aspergillus* est le

dominant sur les trois années suivi soit de genre *Penicillium* soit de genre *Fusarium* selon l'année.

VII-Effet de l'origine de l'échantillon sur nature des contaminants fongiques

La **figure 40** présente la contamination relative des différents genres fongiques de blé tendre local et importé.

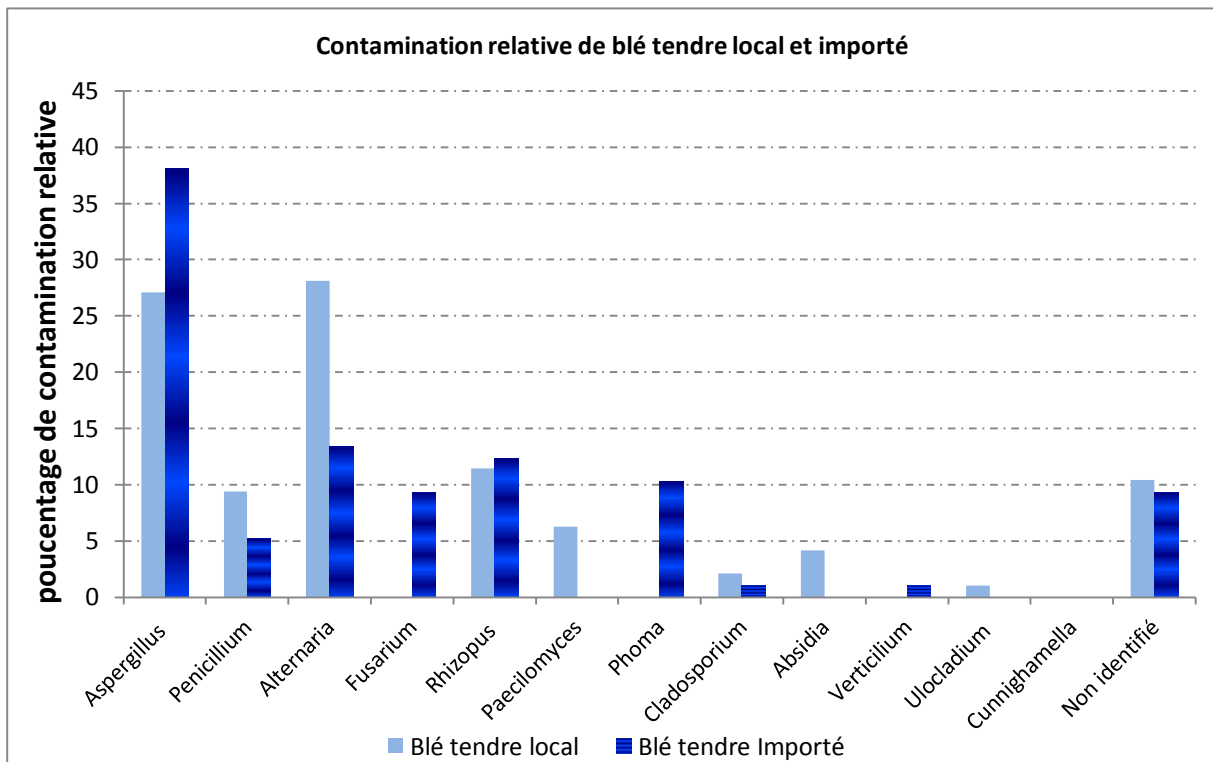


Figure 39: Présentation graphique de la contamination relative de blé tendre local et importé

Les résultats montrent qu'un même nombre de genres fongiques a été isolé à partir de deux types de blé tendre (08 genres). Les résultats montrent également que pour le blé tendre importé le genre *Aspergillus* est le dominant avec un pourcentage de contamination relative égale à 38.1% suivi d'*Alternaria* (13.4%) et de de *Rhizopus* (12.4%). Alors que pour le blé tendre local, le genre *Alternaria* (28.1%) est le dominant suivi du genre *Aspergillus* (27.1%) et de *Rhizopus* (11.4%)

Il y a lieu de signaler que certains genres ont été isolés seulement sur le blé tendre importé, il s'agit de genres : *Fusarium* (9.3%), *Phoma* (10.3%) et *Verticillium* (1%). Alors que d'autres

genres ont été isolés seulement à partir de grains de blé local, il s'agit de *Paecilomyces* et *Ulocladium*

Les travaux de **Mallek (2017)** sur la mycoflore associée à 22 échantillons de grains de blé récoltés dans la wilaya de Bouira ont montré la prédominance de genre *Alternaria* suivi de genre *Ulocladium* et *Aspergillus*. **Mansouri (2011)** a montré également la dominance de genre *Alternaria* dans les grains de blé dur local.

Pour les grains de Maïs importés, une faible diversité de genres fongiques est observé (05 genres) avec la prédominance de genre *Penicillium* (50%) suivi de genre *Aspergillus* (36,2%), le genre *Absidia* est présent avec un pourcentage de 8% ; les deux autres genres (*Cunninghamella* et *Cladosporium*) représente ensemble un pourcentage de 3.4% .

VIII-Effet de la méthode d'isolement sur la nature des contaminants fongiques

Dans notre travail, on a étudié l'influence de la méthode d'isolement dans les deux milieux sur la diversité des genres fongiques détectés (**Figure 40**) ; le nombre de genres fongiques isolé ne semble pas être influencé par la méthode d'isolement (09 genres dans les deux méthodes); mais par le milieu d'isolement ; ainsi pour la méthode 1 : quatre genres seulement ont été isolés sur le milieu DCPA modifié (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Cladosporium*) , contre huit genres sur le milieu Malt (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Verticillium* et *Cladosporium*)

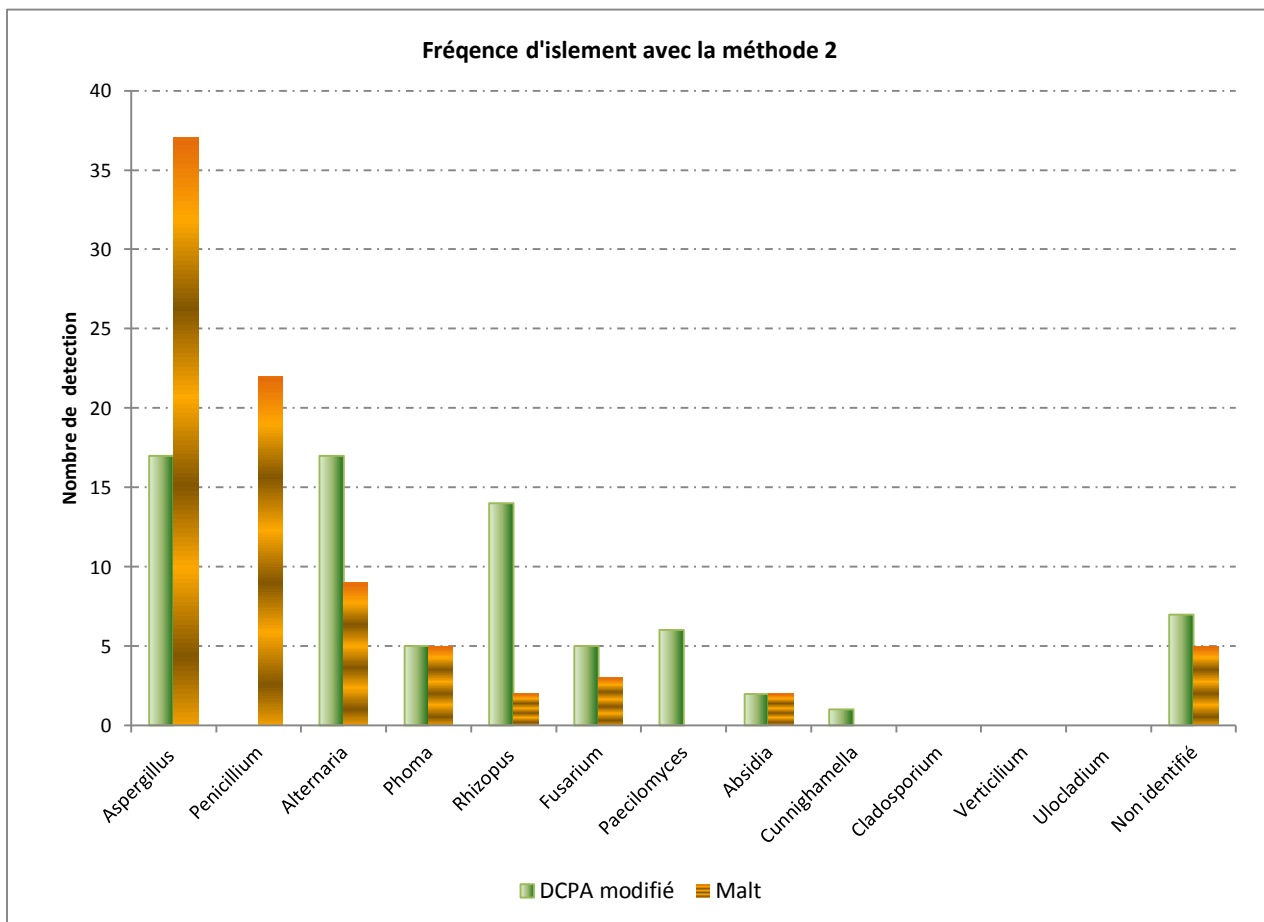
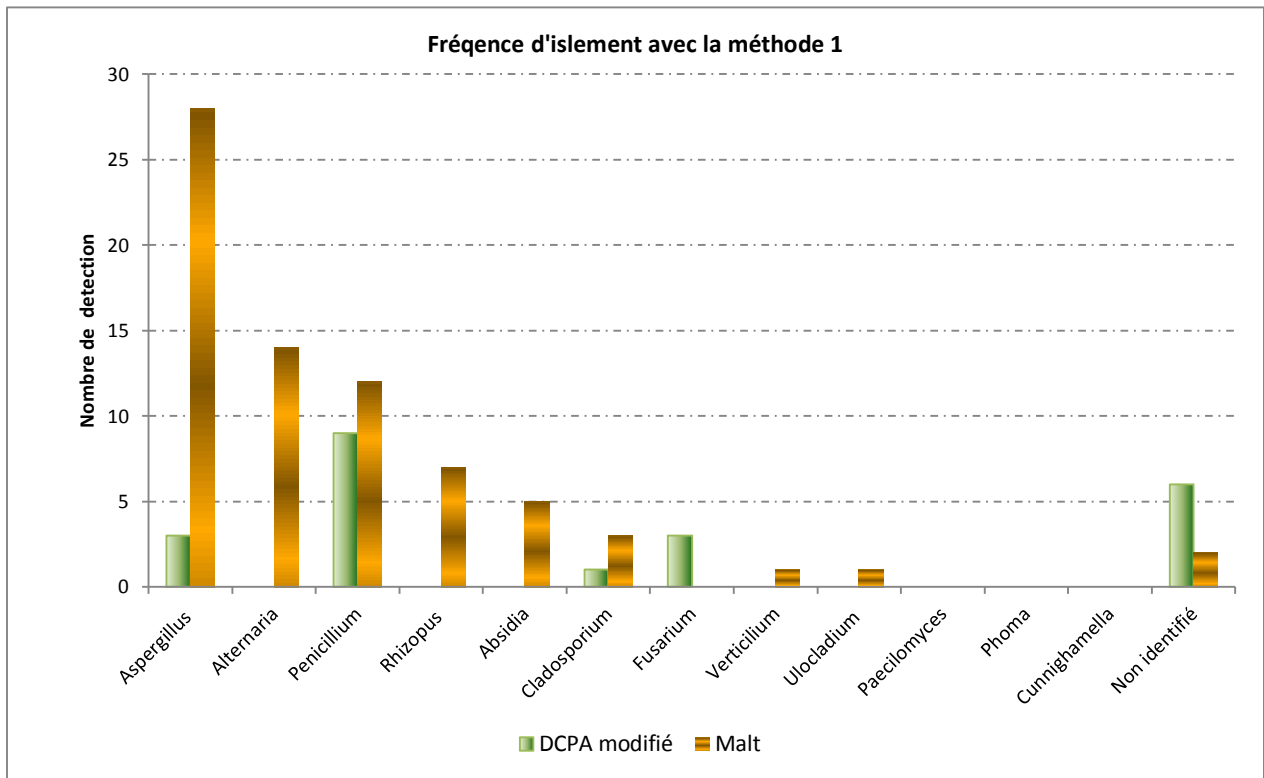


Figure 40 :Fréquence d'isolement des différents genres fongiques selon la méthode

Pour la méthode 2, le nombre de genres fongiques isolés sur DCPA modifié (08) est plus élevé que celui isolé sur le milieu Malt (07).

D'un autre côté, la fréquence totale de détection des genres fongiques dans les deux milieux est influencée par la méthode d'isolement ; ainsi on a enregistré 159 détections avec la méthode 2 contre seulement 95 détections avec la méthode 1.

On a constaté également que le milieu de culture influence la fréquence de détections générale, Ainsi pour le milieu DCPA modifié, le nombre de détection totale pour les deux méthodes est de 96, alors que pour le milieu Malt ce nombre est de 158.

Selon **nguyen(2007)**, la méthode directe est la méthode préférée pour détecter, évaluer et isoler des mycètes des nourritures particulières telles que des grains et des noix, cette méthode ne permet pas le dénombrement des moisissures associés aux grains les résultats sont exprimés en taux de grains contaminés. La technique ne fournit aucune indication directe de nombre exacte de champignons présents par gramme de grains. Cependant, il est raisonnable de supposer qu'un taux de contamination élevé des grains est corrélé à un nombre élevé de contaminants fongiques. (**Tabuc ,2007**) a utilisé la méthode indirecte pour l'isolement et le dénombrement de la mycoflore associée aux grains de céréales, les résultats sont exprimés par nombre de champignons par gramme de céréales.

Par ailleurs, on peut conclure que le milieu DCPA modifié est plus approprié à la méthode 2 (ensemencement directe des grains) que le milieu Malt car il a permis l'isolement d'une plus grande diversité de genres fongiques. Alors que le milieu Malt est plus adapté à la méthode I (méthode indirecte) car il a permis d'isolement d'un plus grand nombre de genres fongique et a permis également d'avoir des fréquence de détections plus élevé, donc il est plus approprié pour le dénombrement des champignons sur grains de blé.

Conclusion

Conclusion

Nous avons essayé dans ce travail modeste d'étudier la flore fongique associée aux grains de blé, et de voir l'influence de la méthode d'isolement sur cette mycoflore ; pour cela on a utilisé des échantillons de blé tendre d'origine différente (locale ou bien importé) et un échantillon de maïs à titre comparatif. Deux méthodes d'isolement (directe et indirecte) et deux milieux de culture (DCPA et Malt) ont été utilisées.

Les essais réalisés au cours de ce travail ont permis de tirer plusieurs résultats dont les plus importants sont :

- Le taux des grains contaminés par les champignons très élevée pour le blé tendre (entre 93.93% et 100%) et pour le maïs (87,09%)
- Les genres fongiques rencontrés et identifiés sur les échantillons de grains blé tendre local et importé et le maïs sont en nombre de 12, il s'agit de : *Cunninghamella*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Phoma*, *Absidia*, *Penicillium Rhizopus*, *Paecilomyces* et *Ulocladium*.
- Un même nombre de genres fongiques a été isolé à partir de deux types de blé tendre local et importé (**08 genres**). Avec prédominance de genre *Aspergillus* pour le blé tendre importé ; et le genre *Alternaria* pour le blé tendre local. Les genres fongiques isolés ne sont pas les mêmes pour les deux types de blé.
- Cinq genres fongiques seulement ont été isolé et identifié à partir des grains de maïs avec la prédominance de genre *Penicillium*
- Le nombre de genres fongiques isolé ne semble pas être influencé par la méthode d'isolement (9 genres dans les deux méthodes) ; mais par le milieu d'isolement.
- Le milieu de culture influence sur la fréquence de détections générale, pour le milieu DCPA modifié, le nombre de détection totale de 96, alors que pour le milieu Malt, ce nombre est de 158.

En fin, on peut conclure que le milieu DCPA modifié est plus approprié à la méthode 2 (ensemencement directe des grains). Alors que le milieu Malt est plus adapté à la méthode I (méthode indirecte), il est plus approprié pour le dénombrement des champignons sur grains.

Table des matières

Table des matières

Introduction générale	01
Chapitre I: Synthèse bibliographies	
II-Données bibliographique sur le blé	03
II-1 Description agro morphologie:	03
a. Définition et origine	03
b. Structure et composition du grain de blé	03
1- Le péricarpeouenvelope	03
2- L'albumenoul'endosperme	03
3- Le germeouembryon	04
c. Composition chimique des grains	04
1- Les glucides	04
2- Les protéines	04
3- Les lipids	04
4- L'eau	05
5- Les vitamins	05
6- Les minéraux	05
d. Biologie et cycle de la culture du blé	05
e- les élémentsnutritifs	06
1- l'azote	06
2- le phosphore	07
3- le potassium	07

4- le soufre	07
II-2- Importance du blé	07
A- l'échelle mondiale	07
B- L'importance à l'échelle nationale	08
B-1 Culture et production en Algérie	08
B -2- Culture et production de Bouira	09
II- Données bibliographiques sur la flore fongique du blé	11
II-1-1- Principaux genre fongique	11
II-1-1-1- Fusarium	11
A- Description- Biologique- Dégâts	11
B- les facteurs favorables à la maladie	12
C- Moyens de lutte	12
C.1 Mesures prophylactique	12
C.2 Mesures chimiques	13
II-3-1-2- <i>Alternaria</i>	13
A- Les facteurs favorables à la maladie	14
II-3-1-3- <i>Aspergillus</i>	14
A- <i>Aspergillus niger</i> :	15
B- <i>Aspergillus flavus</i>	16
II-3-1-4- <i>Penicillium</i> spp	16
II-3-2- Condition de développement des champignons	18
I-3-2-1- pH	18
II-3-2-2- Présence d'oxygène	18

II-3-2-3- Température	18
II-3-2-4 - Lumière	19
Chapitre II: Matériel et méthodes	
I-Matériel	20
I-1 Matériel végétale	20
I-2 Milieu de culture	21
A. Milieu d'isolement	21
A.1. choix des milieux	21
A.2 Préparation des milieux	22
A.2.1 Préparation de milieu DCPA	22
A.2.2 Préparation de milieu Malt	23
B. Milieux de caractérisation	24
B-1 PDA (Milieu de Potato Dextrose Agar)	24
B-2 SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar)	24
I-3 Autres Matériel	25
A-Autres Produits utilisés	25
B-Matériels Verrerie et consommables utilisés (Voir Annexe I)	25
I-4 Méthodes	25
A- Détermination de poids de mille (1000) graines	25
B- Détermination de taux d'humidité (teneur en eau)	25
I-5 Isolement des champignons à partir des grains de céréales	26
A- Méthode Indirecte	26
B- Méthode directe	28
I-6 Observation des champignons par la technique de scotch	29

I-7 Caractérisation des champignons isolés	30
A. Repiquage sur milieu PDA et SNA	30
B. Incubation	30
C. Lecture des boîtes SNA et PDA	30
C-1. Etude des caractères cultureux macroscopiques	30
C-2 Etude des caractères morphologiques microscopiques	31
I-8 Identification des isolats fongique	31
I-9 Expression des resultants	31
A- Calcule de pourcentage de germination des grains	31
B- Calcule de pourcentage des grains infectés	32
C- Calcule de pourcentage relatif de contamination pour chaque genre fongique	32
Chapitre III : Résultats et discussion	
I- Détermination de poids de mille graines (PMG)	33
II- Détermination de taux d'humidité	33
III- Taux de germination des graines	34
IV- Taux de grains contaminés	35
V- Dénombrement des contaminants fongique par gramme de grains	36
VI- Identification de la mycoflore associée aux deux types de céréales	37
A- <i>Cunninghamella echinulate</i>	37
B- <i>Aspergillus niger</i>	39
C- <i>Aspergillus sp</i>	40
D- <i>Aspergillus flavus</i>	40
E- <i>Verticillium lecanii</i>	41

F- <i>Cladosporium</i>	43
G- <i>Penicillium spl</i>	44
H- <i>Alternaria spl</i>	45
I- <i>Fusarium</i>	46
J- <i>Phoma sp</i>	49
K- <i>Absidia sp</i>	50
L- Autres espèces	51
VI- Fréquence d'isolement de différents genres fongiques	53
VII- Effet de l'origine de l'échantillon sur nature des contaminants fongiques	54
VIII- Effet de la méthode d'isolement sur la nature des contaminants fongiques	55
Conclusion générale	58
Références	59

Références

Liste des références

1. **Abbassenne F., H. Bouzerzour, L. Hachemi. 1998.** Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride d'altitude. *Ann. Agron. INA*. **18** : 24-36.
2. **ACTA Association de Coordination Technique Agricole. (1983).** Ravageurs et maladies des céréales. Paris : Codex 12.3^{ème} édition .35 planches .
3. **Ahn S., JA. Adderso, ME. Sorrells, SD. Tanksley. 1993:** Homologue relationships of rice, Wheat and maize chromosomes. *Mol. Gen. Genet* 241.483-490
4. **Ait-Slimane Ait-Kaki S, 2008.** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba ,170p.
5. **ALAVO T B C, 2015.** The insect pathogenic fungus *verticillium lecanii* (zimm.) *viegas* and its use for pests control: a review; *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, ; Volume – 3(4): 337-.345
6. **Alvarez E, Sutton DA, Cano J, Fothergill AW, Stchigel A, Rinaldi MG, Guarro J. 2009.** Spectrum of zygomycete species identified in clinically significant specimens in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 47:1650–1656.
7. **Ammar M. 2014.** Organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective. thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier : p17-20.
8. **Andrews S, Pitt JI. 1986 .** Selective medium for isolation of Fusarium species and dematiaceous Hyphomycetes from cereals. *Microbiology*.1235-1238.
9. **Badillet G., de Briève C., Guého E. 1987.** Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, *Atlas clinique et biologique*, vol II, Ed VARIA, Paris
10. **Bahlouli F., H; Bouzerzour. A; Benmahamed; KL; Hassous. 2005 .** Selection of high yielding and risk efficient durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars under semis arid conditions. *Pak. J. Agron.* 4: 360-365
11. **Barbottin A., C. Lecomte, C. Bouchard; M. Jeuffroy .2005.** Nitrogen Remobilization during Grain Filling in Wheat. *Crop science* 45:1141–1150.
12. **Battais F ; Richard C ; Leduc V .2007.** Les allergènes du grain de blé Wheat grain allergens. *Van deuil France Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* 47 : 171–174.

13. **Beatrice Wabusya; Nyongesa; Sheila Okoth, Vincent Ayugi . 2015** .Identification Key for *Aspergillus* Species Isolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya; *Advances in Microbiology*, 2015, 5, 205-229.
14. **Belkherchouch. H., Fellah.S ; Bouzerzour.H ; Benmahammed.A ; Chellal.N . 2009.**Vigueur de la croissance, translocation et rendement grain du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Courrier du savoir*9:17-24.
15. **Bensch.U; Braun, J.Z; Groenewald and P.W. Crous .2012.** The genus *Cladosporium*; *Studies in Mycology* 72: 1–401.
16. **Berhaut .P., Le Bras. A., Niquet. G., Griaud .P. 2003.**Stockage et conservation des gains de blé
17. **Bneder . 2017.**(Bureau nationale des études et développement rurale) études des potentialités et carte des zonage de la wilaya de Bouira .
18. **Botton.B et al .1990.** Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle, 2ème éd. Masson éd, Paris.
19. **Bouakaz et Oussaid .2013.** Reconnaissance et identification des principales maladies cyptogamique de blé et de l'orge, Edition : Hacene Badi-El-Harrache . Alger 31 p.
20. **Chabasse.D . 2002.** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologiemedicale, pp. 25-27.
21. **Chaker.A . 2003.** Etude de l'effet des stress thermique (chaleur et froid) sur quelques paramètres physiologiques et biochimiques de blé dur (*Triticum durum* Desf.).Mémoire magister. Université Badji Moktar d'Annaba (UBMA).78p
22. **Champion. R ; 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Eds. INRA, Paris. 398P.
23. **Chapman. G.P. 2009.** Grass evolution and domestication. Grass evolution and
24. **Chapman.G.P.2009.** Grass evolution and domestication. Grass evolution and domestication. xviii + 390 p.
25. **Chen. P.D et al. 1984.**The origin of chromosome 4A and the B and G genomes of Conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p.
26. **Creals et Oliseeds**, https://www.google.com/search?q=alternaria&tbm=isch&tbs=rimg:CVFh11AVb3iFIjh-cCa HfEFYY7ZfQdOE17bYD0byDoIzFZWIR6pdzGnKsxqEuJUfnNaRKe6BoysO5IHNINgT7J6CoSCX5wJr4d8QVhEQU_1uXNyNSsmKhIJjtI9B04TXtsRvZHWsiGBC0qEglgPRvIOgjMVhG3GWxRgYSdioSCVaJHql3MacrEePdXZ

wDCqOxKhIJ6zGoS4lc0RXxfzcpVfkpsqEgIpEp7oGjKw7hFBCqPSDsGxbioSCUgc2
U2BPsnEQ36v-iR31 2 &tbo=u&sa=X&ved=2-
EwiTp9y61rHhAhXyz4UKHenCB7AQ9C96BAgBEBg&biw= 1366
&bih=608&dpr=1#imgdii=SY2GVgDQZK-qpM:&imgrc=6zGoS4lR-c0y5M.,
consulté le 26/03/2018.

27. **Djelti. H. 2014.** Etude de la qualité du blé tendre utilise en meunière algérienne. Mémoire de magistère présenté à l'Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen : 25-27p.
28. **DSA ,Bouira .2016.**
29. **El hadef el okki .L .2015.**Valeurs d'appréciation de la qualité technologique et biochimique des nouvelles obtentions variétales de blé dur en Algérie. Magister en agronomie : Génétique et Amélioration des Plantes. Sétif :Université Ferhat Abbas Sétif 1.65p.
30. **El-watan.**<https://www.elwatan.com/edition/economie/cereales-lalgerie-a-produit-plus-de-60-millions-de-quintaux-01-09-2018> .01 septembre 2018 vue le 21-02-2019 .
31. **eponen T. A., Gazenko S. V., Grinshpun S. A., Willeke K; and Cole .E. C.1998.** Characteristics of airborne actinomycete spores . *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10), 3807-3812p.
32. **Feillet .P.2000.**Le grain de blé : Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 154p
33. **Feradji. k et Saada I. 2018,** Diagnostique des maladies cryptogamiques rencontrés chez le blé durant la campagne agricole 2017-2018 dans la région de Bouira : Etude de mycoflore associée à la semence de blé . 70p
34. **Fisher .MJ ., Paton. RC; Matsuno.K.1998.** Intracellular signaling proteins as smart agents in parallel-distributed processes.*Bio-Systems*50: 159-171p.
35. **Fisher P. J, Petrini, O. Lappin Scott, H. M 1992.** The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist*, 122:299-305
36. **Fredot .E. 2012.**Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 613p.
37. **Fritas. S. 2012.**Etude bioécologique du complexe des insectes liés aux cultures céréalières dans la région de Batna (Algérie).thèse de Magister en Ecologie et biologie des populations. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, 115p.
38. **Gacem., M. A. 2011.**Contribution à l'étude de l'activité antifongique et anti mycotoxinogène des extraits méthanoliques et aqueux des graines de *Citrulluscolocynthis*sur la croissance de quelques moisissures d'altération de blé tendre stocké (Doctoral dissertation).

- 39. Gelinas. P., 1995.**Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.
- 40. Gerlach et Nirenberg H. I .1982.** A simplified method for identifying *Fusarium spp.* occurring on wheat. Can. J. Bot. 59. 1599-1609.
- 41. Ghiasian. S.A., Bacheh .P.K., Rezayat. S.M. ;Maghsood.A.H., Tahertkhani,H. 2004.** MycofloraOf Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. Mycopathologia, 158, 113-121p
- 42. Gill.B.S., Kimber, G. 1974.** Giemsa c-banding and evolution of wheat. Proceedings .
- 43. Gonzalez .H.H.L., Martinez. E.J.et Resnik.S.L. 1997.**Fungi associated with sorghum grain from Argentina; Mycopathologia139: 35–41.
- 44. González-Curbelo. MÁ; Herrera. AV ; Ravelo-Pérez. LM; Hernández- Borges .J.2012.** Sample-preparation methods for pesticide-residue analysis in cereals and derivatives.*TRAC-Trend Anal Chem.* 38: 32–51.
- 45. Gwimer.J., Harnisach.R ; and Mück.O .1996.** Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p.
- 46. Hamel.L . 2010.** Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques. Thèse de Magister en génomique et techniques avancées des végétaux. Université Constantine 1. 83 p.
- 47. Henry .Y., Buysen.J .2000.**L'origine du blé. *Pour la Science* **26** :60-62.
- 48. Hocine.L . 2018.** Céréales : L'Algérie a produit plus de 60 millions de quintaux de blé. https://www.researchgate.net/figure/Cycle-de-vie-de-Fusarium-graminearum-sur-ble-tendre-dapres-Trail-et-al-2002_fig6_287999727 consulté 24/03/2019 .
- 49. Hoda. M; Soliman. 2003.** Mycoflora and Mycotoxins of Cereal Grains in Delta, Egypt.*Mycobiology* 31(4): 183-190p.
- 50. Jacquemin. Leslie . 2012 .** Production d'hémicelluloses de pailles et de sons de blé à une échelle pilote Etude des performances techniques et évaluation environnementale d'un agro-procédé. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 345 p.
- 51. Joil. A et Jacques-Eic. B .2010.** Les filières céréalières : Organisation et nouveaux défis. Quas :INRA .189p.
- 52. Keller S.E., Sullivan.T.M., Chirtel . S. 1997.**Factors affeting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH, *Indust. Microbiol, Biotechnology*, 19, 305-309p.

- 53. Lanier. L., Joly .P., Bondoux P. et Bellemère .A. 1976.** Mycologie et Pathologie Forestière, Volume II: Pathologie forestière. Edition Masson. 478 p.
- 54. Larran. S; Perelló. A. Simón.,M.R; et Moreno.V . 2007.** The endophytic fungi from wheat (*Triticumaestivum*L.). World J Microbiol Biotech 23 :565-572p.
- 55. Leslie. J.F., Summerell B.A. 2006.** The *Fusarium* laboratory Manual. Blackwell publishing, Ames, USA.388 p.

Liste des Références

- 56. Liu .Z; Qi P, Wang. X; Chen. W; Zhang. H. 2017.** Multi-pesticides residue analysis of grains using modified magnetic nanoparticle adsorbent for facile and efficient cleanup.Food Chem. 230: 423–431p.
- 57. LNPV [Laboratoire national de la protection des végétaux], 2008.** Toutes céréales, detection et identification des especes de Fusarium spp. Et Microdochium nivale sur grains de céréales par isolement mycologique semi-selectif et etude microbiologique. Réf. MH-03.16 : version B, 28 p.
- 58. Mallek .H. 2017.** Contribution a l'étude de la mycoflore associée aux grains de blé et d'orge dans la wilaya de Bouira , mémoire de fin d'étude université : Akli Mohand Oulhadj – Bouira
- 59. 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 universite de Hadj Lakhdar Batna 127p.
- 60. Meziani .2014.** Catalogue culture céréales, Edition : Profet., BEDJAIA, 50 p.
- 61. Michel.M .2013.** Produire du blé tendre de qualité en agriculture biologique .ARVALIS :Institu du végétal.Paris ;2013.35p.
- 62. Multon.J.L .1982.** Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés ; Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, 576p.
- 63. Ndiaye D.S.B. 1999-.** Manuel de stockage et de conservation **des céréales .**
- 64. 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 p.
- 65. Nguyen I.T ; Thuong.T ., Young-Joon and HyangBurm.L. 2017.** Isolation and Characterization of Three Unrecorded Zygomycete Fungi in Korea:

- Cunninghamellabertholletiae, Cunninghamellaechinulata, and Cunninghamellaelegans. Mycobiology, 45(4): 318-326p.
- 66. Ouanzar .S. 2012.** Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Université Ferhat Abbas Setif Faculté des sciences de la nature et de la vie. 49p.
- 67. Pacin.A.M., Gonzalez. H.H.L., Etcheverry. M., Resnik.S.L; Vivas. L., Espin.S. 2002.** Fungi associate with food and feed commodities from Ecuador. Mycothologia, 156, 87-92p
- 68. Pfohl-Leszkowicz. A. 2001.** Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, 3-14
- 69. Pitt.J.I., Hoking.A.D. 1997.** Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic & Professional, London- Weinheim- New York- Tokyo- Melbourne- Madras
- 70. Pitt.J.L. 1988.** Laboratory guide to common *Penicillium* species. Academic Press, London.
- 71. Rapper, K.B., and Fennel.D.I. 1965.** The genus *Aspergillus*, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland.
- 72. Reboux.G., Bellanger.A., Roussel. S., Grenouillet.F., et Million .L. 2010.** Pollution atmosphérique, Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées, Revue française d'allergologie 50 : 611–620p.
- 73. Rémi .C . 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. *INRA*, Paris.
- 74. Sumalatha.J; Rahman.S.N; Tabassum. F and Nagaswathi.K .2017.** Evaluation of Type of Growth Media on Biological Attributes and Virulence of *Verticillium lecanii* (Zimmermann) Viegas against Mealy Bug. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 6(7): 2222-2229.
- 75. Surget .A ; Barron .C .2005.** Histologie du grain de blé. industrie des céréales 145 : 3-7.
- 76. Tabuc. 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, Thèse de docteur : Université Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti. 190 p.
- 77. Teasdale.J.R., Coffmann.C.B and Ruth ;Magnum.W. 2007.** Potential Long-Term Benefits of No-Tillage and Organic Cropping Systems for Grain Production and Soil Improvement. Agronomy Journal: 99, 1297-1305p.

- 78. Trail et al. 2002.** Cycle de vie de *Fusarium graminearum* sur blé tendre. Tetraploid wheat. *Acta Agronomica Sinica* 10, 146-153P.
- 79. Watanabe. 2002.** Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Second Edition, CRC Press, 486p
- 80. Withlow. L.W; and Hagler. W. M. 2001.** Mycotoxin contamination of feedstuffs-An additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec
- 81. Zahri .S ; Farih.A et Douira.A.2014.** Statut des principales maladies cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. Université IbnTofaïl. *Journal of Applied Biosciences* 77:6543 – 6549, 7 p, ISSN 1997–5902.
- 82. Zillinsky. F.J. 1983.** Maladies communes des céréales à paille. Guide d'identification. Mexico, D.F. CIMMYT, 141 p.
- 83. Zouaoui. G .1993.** Etude en F1 et F2 de 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.

Annexes

Annexe

Annexe I :

Le milieu (PDA)	
Pomme de terre	200g
Agar.....	20g
Dextrose	20g
Ph.....	6.8
L'eau distillée	1000 ml

Le milieu (SNA)	
K ₂ HPO ₄	0.25g
KNO ₃	0.25g
MgSO ₄	0.13g
KCl.....	0.13g
Glucose	0.05g
Saccharose	0.05g



Bleu de coton	
Bleu de méthyle.....	1g.
Acide acétique glacial.....	2ml
SDS.....	0.5g
Eau distillée	100 ml.

Annexe II

Matériels Verrerie et consommables utilisés :

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



Résumé

Notre étude a pour objectif d'étudier la flore fongique du blé tendre à partir de 02 échantillons locale et 02 importé, et de voir l'influence de la méthode d'isolement et l'origine des échantillons sur cette mycoflore; Deux méthodes d'isolement (directe et indirecte) et deux milieux de culture (DCPA modifié et Malt) ont été utilisées. Les résultats ont permis l'identification de 12 genres fongiques qui sont *Fusarium*, *Alternaria*, *Ulocladium*, *Cladosporum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Phoma*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*, *Paecilomyce*. Les résultats montrent que le genre fongique le plus dominant est le genre *Aspergillus* avec 85 détections suivi de genre *Alternaria* et *Pencillium* avec 43 et 40 détections respectivement ; et que le milieu DCPA modifié est plus approprié à la méthode d'ensemencement directe. Alors que le milieu Malt est plus adapté à la méthode indirecte,

Mots clés : Blé tendre ; Flore fongique ; Isolement; Identification.

ملخص

تهدف دراستنا إلى دراسة النباتات الفطرية للقمح التي تزرع من 02 عينة محلية و 02 مستوردة، وإلى معرفة تأثير طريقة العزل وأصل العينات على هذه الفطريات؛ واستخدمت طريقتين للعزل (المباشرة وغير المباشرة) واثنين من الأوساط الحيوية (تعديل DCPA وMALT). سمحت النتائج بتحديد 12 أجناس فطرية هي *Fusarium* و *Alternaria* و *Ulocladium* و *Cladosporum* و *Penicillium* و *Aspergillus* و *Verticillium* و *Phoma* و *Absidia* و *Rhizopus* و *Cunninghamella* و *Paecilomyce*. أظهرت النتائج أن جنس الفطريات الأكثر هيمنة هو جنس *Aspergillus* مع 85 اكتشافاً تليها جنس *Alternaria* و *Pencillium* مع 43 و 40 اكتشافاً على التوالي؛ وأن وسط DCPA المعدل أكثر ملاءمة لطريقة البذر المباشرة. في حين أن وسط MALT أكثر ملاءمة للطريقة غير المباشرة.

الكلمات المفتاحية: قمح لين؛ النباتات الفطرية؛ العزل.

Abstract

Our study aims to study the fungal flora of wheat grown from 02 local samples and 02 imported, and to see the influence of the isolation method and the origin of the samples on this mycoflora; Two isolation methods (direct and indirect) and two culture media (modified DCPA and Malt) were used. The results allowed the identification of 12 fungal genera that are *Fusarium*, *Alternaria*, *Ulocladium*, *Cladosporum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Phoma*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*, *Paecilomyce*. The results show that the most dominant fungal genus is the *Aspergillus* genus with 85 detections followed by *Alternaria* and *Pencillium* genus with 43 and 40 detections respectively; and that the modified DCPA medium is more suitable for the direct seeding method. While the Malt medium is more suited to the indirect method.

Keywords: Soft wheat; Fungal flora; Identification; Isolation, Fungi.