



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences Agronomiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : Sciences agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

Thème:

**Les méthodes d'isolement, de purification, d'identification
et de caractérisation des champignons phytopathogènes
du blé dur de la région de Bordj Bou Arreridj**

Présenté par :

- M^{me} LOMRI Ahlam
- M^{lle} MEHTAL Dounya Zad

Soutenu devant le jury suivant :

Présidente : Mme. BENSGHIR Hadjira MAA Univ. BBA
Encadrant: M. ALILI Dahmane MCB Univ. BBA
Examineur : M. LAIB Djamel Eddine MAB Univ. BBA

Année universitaire : 2018 - 2019



Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements en premier lieu à ALLAH le tout puissant pour nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et pour nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre Promoteur **Docteur ALILI Dahmane**, Maître de conférences B à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour le temps qu'il nous a consacré pour achever ce travail, ses précieux conseils et ses encouragements ; merci infiniment Monsieur.*

*Notre reconnaissance et nos remerciements s'adressent également à Mme. **BEN SEGHIR Hadjira**, Maître assistants A à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A., qui a bien voulu présider le jury.*

*Nous tenons à remercier **Dr LAIB Djamel Eddine** de conférences B à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce présent travail.*

*Ce travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel nous bénéficions de l'encadrement, des encouragements et du soutien de plusieurs personnes, à qui nous tenons à dire profondément et sincèrement **MERCI**.*

Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, puissent trouver ici, toute notre reconnaissance.

Ahlam &

Dounya Fad





Dédicace

Je dédie cet humble mémoire aux deux qui j'aime le plus au monde mon père et ma mère, pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué ; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sensé du devoir qu'ils mon enseigné depuis mon enfance, pour leur amour et leur sacrifice. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous.

A mon grand -père et à ma grand-mère, la deuxième plus grande bénédiction de dieu tout-puissant, la source des dons.

*A mes frères : **Aymen** et **Ramzi** que j'aime et à qui je souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.*

Aux parents de mon mari, pour me faire le plus beau cadeau que le cœur souhaite.

*A mon mari **ILYAS**, sans son aide précieuse, sans ses encouragements, ce modeste travail ne serait achevé.*

*A toute la famille **LOMRI** , **BELLOUACHE**.*

A toutes mes amies que j'aime et à tous ceux qui me sont chers.

Ahlam





Dédicace

A la mémoire de mes parents qui pourraient être fiers de moi, ce travail est le fruit de vos sacrifices. J'espère que où ils sont maintenant, ils apprécient cet humble geste comme preuve de reconnaissance de ma part, je prie toujours pour le salut de leurs âmes.

*Puisse Allah, le tout puissant, les avoir en sa sainte miséricorde !
Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce qu'ils méritent.*

*A ma sœur **Saida**, la source de tendresse après ma mère et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils et de prier pour moi. Merci infiniment pour les valeurs nobles et le soutien permanent venu de toi.*

*A mes formidables sœurs **Souhila et Hada**, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*A mes frères **Nouri, Chaouki, Toufik** et surtout à mon précieux frère **Oualid**, sans ton aide morale et matérielle, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.*

A toutes mes amies que j'aime et à tous ceux qui me sont chers.

Dounya Had



Table de matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 01

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le blé dur 03

I. 1. Définition du blé dur 03

I. 2. Origine du blé dur 03

I. 2.1. Origine géographique..... 03

I. 2.2. Origine génétique..... 03

I. 3. Classification du blé dur 04

I. 4. L'importance économique du blé dur 04

I. 4.1. Dans le monde 04

I. 4.2. En Algérie..... 05

I. 5. Caractéristiques botaniques 05

I. 5.1. Description morphologique 05

I. 5.1.1. Le grain..... 05

I. 5.1.2. L'appareil végétatif 06

I. 5.1.2.1. Le système racinaire 06

I. 5.1.2.2. Le système aérien..... 06

I. 5.1.3. L'appareil reproducteur 07

I. 6. Le cycle végétatif du blé dur	07
I. 6.1. La germination et la levée	07
I. 6.2. Le tallage	07
I. 6.3. La montaison - gonflement	08
I. 6.4 . L'épiaison - floraison.....	08
I. 6.5. La maturation du grain.....	08
I. 7. L'effet des facteurs abiotique	09
I. 7.1. La température	09
I. 7.2. L'eau	10
I. 7.3. La lumière	10
I. 7.4 Le sol	11
II. Généralités sur les champignons phytopathogènes	
II. 1 Définition des champignons	12
II. 2 Classification des champignons	12
II. 3 Morphologie et structure.....	13
II. 4 Ecologie des champignons.....	13
II. 5 L'effets des facteurs abiotique	14
II. 5.1 Température	14
II. 5.2. PH.....	14
II. 5.3. Activité d'eau.....	14
II. 5.4. Aération	15
II. 5.5. Lumière	15
II. 6. Multiplication végétative et reproduction	15
II. 6.1. Reproduction asexuée.....	15
II. 6.2. Reproduction sexuée	15
II. 7. Mode de vie.....	16
II. 7.1. Les champignons phytopatogènes	16
II. 7.2. Les champignons saprophytes (libres).....	16

II. 7.3. Les symbiotiques	16
II. 8. Les principales maladies cryptogamiques	17
II. 9. Les principaux champignons d'altération du blé dur	18
II. 9.1. Flore des champs.....	18
II. 9.1.1. Le genre <i>Alternaria</i>	18
II. 9.1.2. Le genre <i>Fusarium</i>	18
II. 9.2. Flore de stockage.....	19
II. 9.2.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	19
II. 9.2.2. Le genre <i>Penicillium</i>	19
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	
I. Etude mycologique des grains de blé dur	21
I. 1. Prétraitement et conditionnement du matériel	21
I. 1.1. Nettoyage de la verrerie	21
I. 1.2. L'étiquetage.....	21
I. 2. Echantillonnage	22
I. 3. Milieu de culture	22
I. 4. Isolement de la flore fongique	23
I. 4.1. Méthode directe	23
I. 4.1.1. Désinfection de la surface des grains	23
I. 4.2. Méthode indirecte	25
I. 4.3. Méthode de filtre en papier stérile (FPS)	27
I. 5. Purification par un repiquage	27
II. Identification des isolats	28
II.1. Identification macroscopique.....	28
II. 2. Identification microscopique.....	29
Chapitre 3: Résultats et discussion	
I. Mise en évidence de la flore fongique contaminant les échantillons de blé dur	30

I. 1. Les isolats A.....	30
I. 2. Les isolats B.....	31
I. 3. Les isolats C.....	31
I. 4. Les isolats D.....	32
I. 5. Les isolats E.....	32
I. 6. Les isolats F	33
I. 7. Les isolats G	34
II. Evolution de la flore fongique dans les échantillons du blé dur	35
III. Discussion	38
Conclusion générale	40
Références bibliographiques	42
Annexes	
Résumés	

Liste des abréviations

Aw: Activité de l'eau

CCLS: Coopérative de Céréales et de Légumes Secs

FPS : filtre en papier stérile

MBB: Variété Mohamed Ben Bachir

OTA: Ochratoxine A

PDA: Potatoes Dextros Agar

Q : Quintal

Liste des tableaux

Tab I	Position systématique du blé dur.	04
Tab II	La production des différentes variétés du blé dur à B.B.A. en 2018 et 2019.	05
Tab III	Les exigences en température pour les stades de développement.	09
Tab IV	Les maladies cryptogamiques de blé dur.	17
Tab V	Les différents genres fongiques obtenus à partir des quatre variétés de blé dur.	35
Tab VI	Les différents genres fongiques obtenus par les trois méthodes d'isolation à partir des quatre variétés de blé dur.	36

Liste des figures

Fig 1	coupe longitudinale d'un grain de blé.	06
Fig 2	Stades phréologiques du blé.	09
Fig 3	Schématisation de la structure de la paroi fongique.	13
Fig 4	Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée des champignons.	16
Fig 5	Quelques champignons rencontrés dans le grain de blé, observation au microscope optique (x 100).	20
Fig 6	Les variétés de blé dur (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM ET SIMÈTO).	22
Fig 7	Ensemencement des grains de blé sur PDA .	23
Fig 8	Techniques d'isolement des souches fongiques à partir des grains de blé dur par la méthode directe.	24
Fig 9	L'isolement par la méthode indirecte.	25
Fig 10	Techniques d'isolement des souches fongiques à partir des grains de blé dur par la méthode indirecte.	26
Fig 11	Isolement par la méthode de filtre en papier stérile	27
Fig 12	Purification des isolats.	28
Fig 13	<i>Aspergillus flavus</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique .	30
Fig 14	<i>Aspergillus niger</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique .	31
Fig 15	<i>Penicillium sp</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique.	32
Fig 16	<i>Fusarium solani</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique.	32
Fig 17	<i>Fusarium sp</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique.	33
Fig 18	<i>Alternaria alternata</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique.	34
Fig 19	<i>Alternaria sp</i> : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique.	34
Fig 20	Evolution de la flore fongique isolée sur le milieu PDA à partir des grains du blé dur.	37
Fig 21	Evolution du pourcentage de la flore fongique isolée sur le milieu PDA dans les différentes variétés du blé dur.	37



*Introduction
générale*

Introduction générale

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, botaniquement parlant, à la famille des *Poacées* dont les grains présentent par leur abondance et leur composition un intérêt majeur pour l'alimentation de l'homme et des animaux. Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées restent le blé et l'orge (Reed, 1992).

Le blé, constitue l'une des céréales les plus cultivées dans le monde. C'est une source importante de protéine pour l'alimentation humaine (Molkhou, 2007). En Algérie, les produits céréaliers, dont le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). Cependant, la conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo et al ; 2013).

La production du blé dur dans la région de Bordj Bou Arreridj atteignant les 602 milles de quintaux pour la dernière année 2019 /2020, c'est rendement très élevé par rapport aux années précédent (CCLS ,2019).

Cette denrée est généralement attaquée par plusieurs ravageurs dont les insectes et les moisissures. Les dommages causés par les insectes sont loin d'être sous estimés, mais ceux causés par les moisissures ne devraient pas être négligeables (Pitt et Hocking, 1991). La microflore et particulièrement les moisissures constituent en cours de stockage, la cause principale d'altérations diverses et par la suite de pertes inestimables. Ce sont surtout les *Aspergillus* et les *Penicillium*, hôtes normaux et habituels des grains qui sont susceptibles de se développer abondamment au cours de stockage défectueux (Kheladi, 2009). En effet, la contamination qui débute au champ, va se poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et de stockage (Boudra, 2009).

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

Introduction générale

L'objectif de ce présent travail est basé essentiellement sur l'isolement, la purification et l'identification des moisissures à partir des graines de quatre variétés de blé dur locales (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO) provenant de la région de Bordj Bou Arreridj.

Le présent travail est divisé en deux grandes parties, le premier est théorique et le second est à portée pratique.

Le manuscrit présentant ce travail, est structuré comme suit :

- ◆ Une introduction générale dans laquelle est présentée la problématique de notre travail et l'importance du thème abordé tout en exposant clairement l'objectif visé.
- ◆ Une partie bibliographique qui regroupe le nécessaire des connaissances théoriques en rapport avec le thème étudié :
 - ✓ généralités sur le blé dur qui comprend quelques données systématiques et morphologiques ;
 - ✓ généralités sur les champignons phytopathogènes.
- ◆ Le deuxième chapitre matériel et méthodes, qui comprennent trois points essentiels :
 - ✓ analyse et mode opératoire
 - ✓ isolement des souches fongiques par les méthodes d'analyses mycologiques ;
 - ✓ identification macroscopique et microscopique des genres de champignons obtenus.
- ◆ Le troisième chapitre résultats et discussion, comprend les résultats des travaux de laboratoire avec interprétation et comparaison des résultats obtenus.
- ◆ Nous terminerons par une conclusion générale qui récapitule notre travail.



*Synthèse
bibliographique*

I. Généralités sur le blé dur

I.1. Définition du blé dur

Le blé est la céréale la plus cultivée, il compte actuellement quelques 30 000 formes cultivées. La production mondiale, en progression constante, et les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'une des principaux acteurs de l'économie mondiale et justifient les nombreux travaux qui lui sont consacrés (Lesage, 2011).

Le blé dur (*Triticum* desf.) ; est une plante annuelle de la classe de Monocotylédones de la famille des Graminées, de la tribu des *Triticées* et du genre *Triticum*. En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre, leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

I.2. Origine du blé dur

I.2.1. Origine géographique

Selon Cook *et al.* (1991), le centre d'origine géographique du blé semble être l'Ouest de l'Iran, l'Est de l'Irak, et le Sud et l'Est de la Turquie. Toutes les espèces de blé spontanées et cultivées appartiennent au genre *Triticum* et sont distribuées sur un vaste territoire qui s'étale de l'Asie centrale aux régions du bassin méditerranéen (Verville, 2003).

Le blé a gagné l'Europe occidentale par deux grands axes: la Méditerranée et la Vallée du Danube (Naville, 2005).

I.2.2. Origine génétique

Selon Belaid (1996) ; Verville (2003) et Naville (2005) ; les blés constituent le genre *Triticum* qui comporte un certain nombre d'espèces sauvages et cultivées qui se différencient par leur degré de ploïdie et par leur nombre de chromosomes. Génétiquement, ils sont divisés en diploïdes, tétraploïde et hexaploïdes. D'après Cook *et al.* (1991) ; Feillet (2000) et Verville (2003) ; les analyses cytogénétiques ont montré que les espèces de *Triticum* formaient une série polyploïde avec une base chromosomique de sept. Les blés diploïdes sauvages ont 14 chromosomes, les blés tétraploïdes et les blés durs modernes en ont 28. Les blés communs hexaploïdes ont 42.

I.3. Classification de blé dur

Le blé est une monocotylédone de la famille des Poaceae appartenant au genre *Triticum*. D'après Doumandji *et al.* (2003) ; le blé dur appartient à la classification illustrée dans le tableau I.

Tableau I : Position systématique du blé dur (Doumandji *et al.*, 2003).

Règne	végétal
Embranchement	Stomatifères
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumales
Famille	Graminées (Graminacées), (Poacées)
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum turgidum</i> (synonyme : <i>Triticum durum</i>)

I.4. L'importance économique du blé dur

I.4.1. Dans le monde

Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques. Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Ces régions se caractérisent par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse (Nadjem, 2012).

I.4.2. En Algérie

Selon Bencharif et Rastoin, (2007), les céréales constituent la base du modèle de consommation alimentaire algérien, comme dans la plus part des pays méditerranéens. L'Algérie se situe au premier rang mondial pour la consommation des céréales. C'est le troisième pays importateur des céréales dans le monde après le Brésil et l'Égypte (Kellou, 2008). L'Algérie a importé 545.000 t de blé dur à la fin du novembre 2012 contre 527.000 t au cours de la précédente campagne, soit une hausse de plus de 3%. La cause de recul du rendement est la conséquence de la sécheresse qui a frappé les pays (CIC, 2013).

La production du blé dur à la wilaya de Bordj Bou Arreridj se diffère d'une variété à l'autre. Selon les nouvelles données de la CCLS (2018-2019) illustrées dans le tableau II, la variété la plus cultivée est WAHA avec un rendement de 16 quintaux.

Tableau II : La production des différentes variétés du blé dur à Bordj Bou Arreridj en 2018 et 2019 (CCLS, 2019).

Variétés	MBB	Waha	Bousslem	Siméto
Superficie (ha)	1100	6000	3600	1600
Semis (Kg)	1540	8240	5400	2500
Rdt (Q)	10	16	15	14

(Rdt : Rendement)

I.5. Caractéristique botaniques

I.5.1. Description morphologique

I.5.1.1. Le grain

D'après Belaid (1996); Soltner (1999); Feillet (2000) et Ferreira (2011), le grain de blé est un caryopse. C'est un fruit sec indéhiscent, constitué d'une graine et de téguments. Le caryopse de blé est nu (les glumelles n'adhèrent pas le caryopse). Sur l'épi, il est trouvé des glumes et glumelles, lors du battage ils sont éliminés. Sur le plan morphologique, le grain a une forme ovoïde de coloration blanchâtre à brunâtre avec un sillon sur la face ventrale, il est de taille de 6,5 à 8,5 mm de long et son diamètre de 3 à 4mm (Fredot, 2005).

Ce sont des caractéristiques variétales qui varient en fonction des conditions culturales et la position du grain sur l'épi (Evers et Millar, 2002 in Ferreira, 2011).

Histologiquement, le grain de blé dur est formé de trois types de tissus : le germe (3% du poids du grain), les enveloppes (17%) et l'albumen (80%) (Figure 1) (Fredot, 2005).

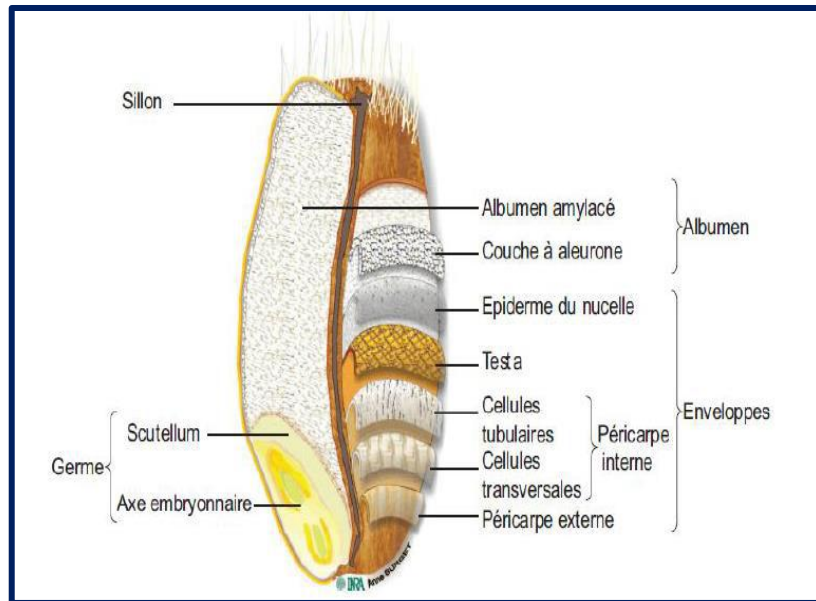


Figure 1 : coupe longitudinale d'un grain de blé
(Bounneche, 2015).

I.5.1.2. L'appareil végétatif

I.5.1.2.1. Le système racinaire

D'après Belaid, (1996), le système racinaire est de type fasciculé. En cours de développement, deux systèmes se forment :

- ✓ **Le système racinaire séminal (primaire)** : fonctionne de la germination au tallage (ramification de la plante).
- ✓ **Le système racinaire coronaire (secondaire)** : apparaît au stade du tallage.

I.5.1.2.2. Le système aérien

Selon Belaid (1996), la tige est cylindrique, séparée par des nœuds formant des entrenœuds, ces derniers sont plaines chez le blé dur, chaque nœud est le point d'attache d'une feuille. La tige principale appelée le maître brin et des tiges secondaires appelées talles qui naissent à la base de la plante (Gate, 1995). Les feuilles sont à nervures parallèles et formées en deux parties : La partie inférieure entourant la jeune pousse ou la tige (la gaine) et la partie supérieure en forme de lame (le limbe) (Belaid, 1996). Les feuilles portent à leur jonction avec la gaine des oreillettes vêtues et une ligule (Moule, 1971).

I.5.1.3. L'appareil reproducteur

Les fleurs sont groupées en inflorescences de type épi, l'épi est composé d'épillets, l'épillet est une petite grappe d'une à cinq fleurs enveloppées chacune par deux glumelles (Moule, 1971). L'épi est constitué d'un axe appelé le rachis sur lequel sont fixés les épillets (Belaid, 1996). Le blé est une plante monoïque à fleurs parfaites (Cook *et al.*, 1991). Elle se reproduit par voie sexuée et par l'autofécondation (espèce autogame) (Soltner, 1999).

Il existe un pourcentage faible (< 3%) de pollinisation croisée (Cook *et al.*, 1991).

I.6. Le cycle végétatif du blé dur**I.6.1. La germination et la levée**

La germination de la graine se caractérise par l'émergence du coléorhize donnant naissance à des racines séminales et de la coléoptile qui protège la sortie de la première feuille fonctionnelle. La levée se fait réellement dès la sortie des feuilles à la surface du sol. Au sein d'un peuplement, la levée est atteinte lorsque la majorité des lignes de semis sont visibles (Gate, 1995).

Durant la phase semis levée, l'alimentation de la plante dépend uniquement de son système racinaire primaire et des réserves de la graine. Les principaux facteurs édaphiques qui interviennent dans la réalisation de cette phase sont, la chaleur, l'aération et l'humidité (Eliard, 1979).

Les caractéristiques propres à la graine comme la faculté germinative et la quantité de réserves (taille des graines) jouent aussi un rôle déterminant. En effet, les plus grosses graines lèvent les premières et donnent des plantules plus vigoureuses (Masle-Meynard, 1981).

I.6.2. Le tallage

La production de talles commence à l'issue du développement de la troisième feuille (Moule, 1971). L'apparition de ces talles se fait à un rythme régulier à celui de l'émission des feuilles. A partir des bourgeons situés à l'aisselle des talles primaires initiées à la base du brin maître, les talles secondaires peuvent apparaître et être susceptibles d'émettre des talles tertiaires. Le nombre de talles produites dépend de la variété, du climat, de l'alimentation minérale et hydrique de la plante, ainsi que de la densité de semis (Masle-Meynard, 1981).

Quand le tallage est excessif, les besoins en eau sont très importants, alors que la plupart des talles restent stériles. La fin du tallage représente la fin de la période végétative, elle marque

le début de la phase reproductive, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entre-nœuds (Gate, 1995).

I.6.3 La montaison - gonflement

Elle se distingue par la montée de l'épi sous l'effet de l'élongation des entre nœuds qui constituent le chaume. Les talles montantes entrent en compétitions pour les facteurs du milieu avec les talles herbacées qui de ce fait n'arrivent pas à monter en épis à leur tour. Ces dernières régressent et meurent (Masle, 1982). Ce phénomène se manifeste chez les jeunes talles par une diminution de la croissance puis par un arrêt de celle-ci (Masle, 1981).

I.6.4 L'épiaison - floraison

Une fois l'épi émerge de la gaine de la feuille étendard, c'est le stade épiaison, au cours duquel la formation des organes floraux se termine. La floraison débute 4 à 5 jours plus tard. Durant la floraison, les fleurs demeurent généralement fermées (fleurs cléistogames), et les trois anthères éclatent et libèrent le pollen (anthèse). Les fleurs s'ouvrent rarement avant la libération du pollen. La floraison dure de trois à six jours, selon les conditions météorologiques. Elle débute au centre de l'épi, puis se poursuit vers les deux extrêmes de l'épi. La durée de réceptivité du stigmate de blé dépend de la variété et des conditions du milieu, mais se situe entre 3 à 13 jours. Une fois fécondée, l'ovaire grossit rapidement. Au bout de deux semaines après la fécondation, l'embryon est physiologiquement fonctionnel et peut produire une nouvelle plantule (Bozzini, 1988).

I.6.5. La maturation du grain

Au cours de cette phase, l'embryon se développe et l'albumen se charge de substances de réserve. On observe une augmentation du volume du poids des graines. La phase se termine par le stade laiteux. En suite, le poids frais des grains continue à augmenter alors que celui des tiges et des feuilles diminue. La phase se termine par le stade pâteux. Puis les grains deviennent durs et leur couleur devient jaunâtre (Boufnar-Zaghoune et Zaghouane, 2006).

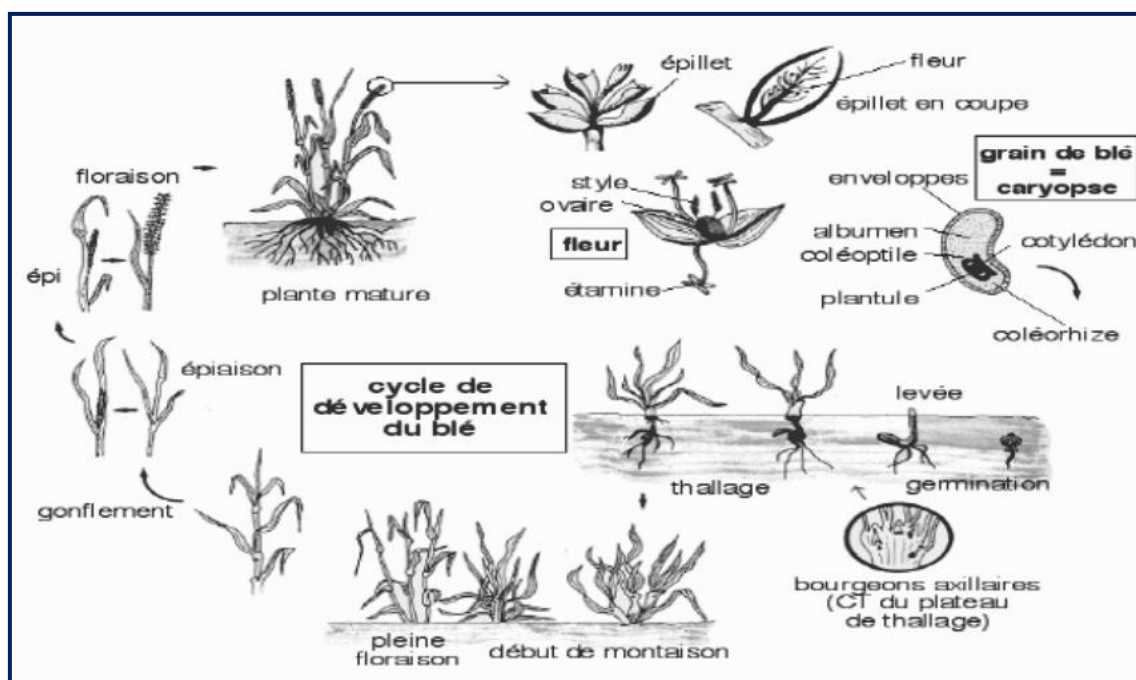


Figure 2 : Stades phénologiques du blé (Nedjah, 2015).

I.7. L'effets des facteurs abiotique

I.7.1 Température

Les fortes températures provoquent une levée trop rapide et parfois un déséquilibre entre la partie aérienne et la partie souterraine : Les températures entre 25 et 32 °C défavorisent l'allongement racinaire l'optimum se situe entre 5 et 12 °C (Baldy, 1974).

Tableau III : Les exigences en température pour les stades de développement (Mekhlouf *et al.*, 2006).

Stade de développement	La somme des températures (°C)
Stade levée	120
Stade tallage	450
Stade plein tallage	500
Stade épi 1 cm	600

Clement et Prats (1970), voient que la température journalière intervient à divers moments du cycle du blé de plusieurs manières :

- ✓ Elle détermine la rapidité de la germination et le début du développement de la jeune plante.
- ✓ Elle intervient au moment de la montaison dans l'élaboration de la quantité de matière sèche, mais elle a un effet défavorable sur l'évolution des talles vers l'épiaison (conditions de déficit hydrique).
- ✓ En excès et au cours de la maturation du grain, elle peut conduire à l'échaudage (Mekhlouf *et al.*, 2006).

I.7.2 Eau

Le blé consomme en moyenne 500 litres d'eau par kilogramme de matière sèche élaborée. Sa culture est très aléatoire pour des pluviométries annuelles inférieures à 450 mm. La destruction des adventices, un enracinement profond, permettra à la plante de mieux supporter les périodes sèches.

Les périodes d'alimentation en eau se situent :

- a. Dans les 20 jours qui précèdent l'épiaison.
- b. Durant la période d'enrichissement du grain en matière sèche correspondant à la maturation. Un déficit en eau lié à des fortes températures est responsable de l'échaudage des grains.

D'une manière générale une céréale a besoin d'une quantité importante d'eau pour assurer un rendement intéressant (Simon *et al.*, 1989).

I.7.3 La lumière

Une certaine durée du jour (photopériodisme) est nécessaire pour la réalisation du stade précédant la montaison (Soltner, 2005). Ce même auteur note que l'intensité lumineuse, et l'aération, agissent directement sur l'intensité de la photosynthèse, dont dépend à la fois la résistance des tiges à la verse et le rendement. 12 à 14 heures selon l'espèce et la variété ; sont nécessaires pour permettre le démarrage de la phase reproductrice (Ruel, 1996).

I.7.4 Le sol

Le blé prospère sur une gamme assez variée de sols, les meilleures terres de blé sont les terres de limon argilo-calcaires et argilo-siliceuses (Moule, 1980). Selon Soltner (2005), détermine trois caractéristiques pour une bonne terre à blés :

- **Une texture fine, limono-argileuse**, qui assurera aux racines fasciculées du blé une grande surface de contact, et partant une bonne nutrition.
- **Une structure stable**, qui résiste à la dégradation par les pluies d'hiver. Le blé n'y souffrira pas d'asphyxie et la nitrification sera bonne au printemps.
- **Une bonne profondeur**, et une richesse suffisante en colloïdes, afin d'assurer la bonne nutrition nécessaire aux gros rendements.

II. Généralités sur les champignons phytopathogènes

II.1 Définition des champignons

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important. Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...) (Tabuc, 2007).

II.2 Classification des champignons

D'après Hawksworth *et al.* (1995), le règne des champignons est divisé en quatre « phylum »: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota et Basidiomycota.

Les champignons se caractérisent par une croissance sous forme de mycélium et sont hétérotrophes vis à vis des sources de carbone. Les champignons peuvent se classer dans différentes familles :

- a. **Les chytridiomycètes** ; sont caractérisés par la présence d'un flagelle unique au niveau de la zoospore.
- b. **Les zygomycètes** ; possèdent un mycélium non septé et sont caractérisés par leur aptitude à fusionner leur mycélium pour former une gamétangie qui donnera des zygospores.
- c. **Les ascomycètes et les basidiomycètes** ; produisent des spores sexuées, respectivement dans des sacs appelés asques ou à l'extérieur des sacs appelés basides.

II.3 Morphologie et structure

En générale, le thalle forme le corps végétatif des champignons. Il est composé de filament ou hyphes tubulaires et fins avec un diamètre compris entre 2 et 10 μm et sont plus ou moins ramifiés, et l'ensemble des hyphes constituent un réseau appelé mycélium. Généralement, les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septa contenant un seule noyau, on les appelle des hyphes cloisonnés ou « septés » alors que chez d'autres, les cellules ne sont pas séparées par une cloison transversale, l'hyphe est alors dit coenocytique ou « siphonné ». Les champignons filamenteux possèdent une paroi cellulaire, elle représente 20 à 30% du poids sec du mycélium, la composition peut varier en fonction des espèces et des conditions environnementales. Elle est majoritairement composée de microfibrilles de glucanes et de chitine, un polysaccharide très résistant. Chez certains chytridiomycètes, elle est remplacée par la

cellulose. La paroi est souvent recouverte de mannoprotéines, formant une matrice autour de la paroi. Des glycoprotéines peuvent aussi être présentes et assurent l'adhérence (Figure 3) (Aurélié ,2013).

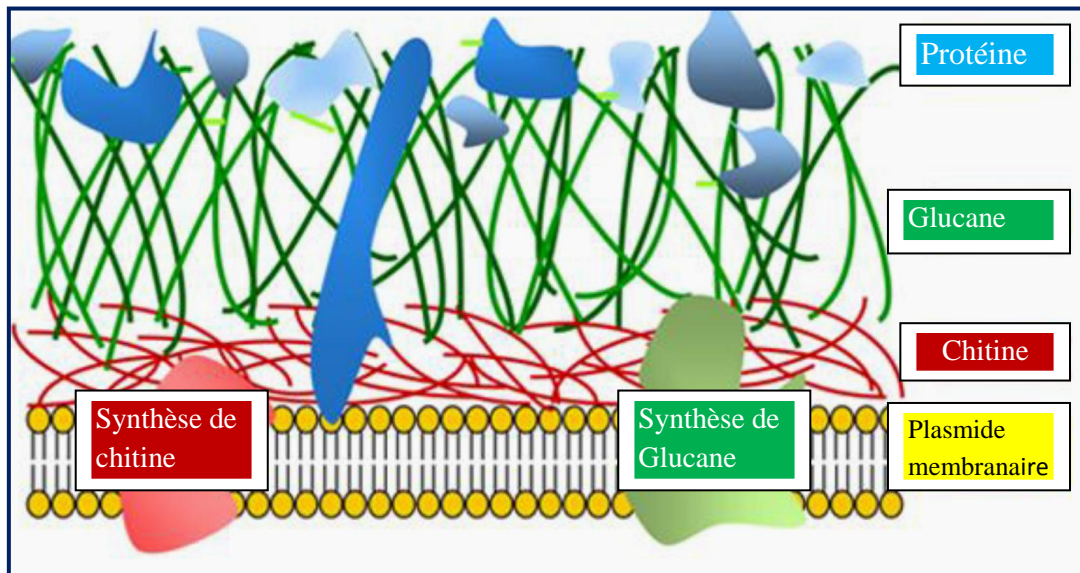


Figure 3 : Schématisation de la structure de la paroi fongique (Aurélié ,2013).

II.4 Écologie des champignons

Dans la nature, les champignons se développent le plus souvent comme des microorganismes saprophytes. Ils participent à la dégradation et au recyclage de la matière organique et minérale. Ces caractéristiques confèrent aux champignons, la possibilité de coloniser et d'explorer de nouveaux habitats et ainsi, d'occuper tous les environnements possible ; terrestres et aquatiques, régions tropicales et polaires (Dix et Webster, 1995).

Quelques espèces sont adaptées à la sécheresse, d'autres vivent au contraire dans l'eau (eaux douces, océans, ou eaux usées). Certaines supportent bien des pressions osmotiques élevées (dans les milieux très salés, ou très sucrés, par exemple) et arrivent à contaminer les salaisons, le miel, ou les confitures. Des champignons aimant la chaleur se trouvent dans les composts (à 70-75°C). Mais on trouve aussi des champignons dans les toundras arctiques; en haute montagne l'hygrophore printanier se récolte à la fonte des neige (2°C); et certains champignons peuvent encore pousser dans les chambres réfrigérées (*Sporotrichum carnis*) peut altérer des viandes pourtant conservées à -5°C (Locquin, 1984).

II.5. L'effets des facteurs abiotique

II.5.1 Température

La température optimale de toxinogénèse est, en général, voisine de la température optimale de croissance. A l'image du champignon producteur, les mycotoxines peuvent être produites sur une large gamme de température. Par exemple, les aflatoxines peuvent être synthétisées entre 12-42°C avec un optimum entre 24-28°C (Reiss *et al.*, 1998). À 5°C, *Aspergillus* ne peut produire ni les aflatoxines, ni l'OTA, alors que *Penicillium* et *Fusarium* sont capables de produire les mycotoxines (Northolt *et Bullerman*, 1982; Weidenbörner, 1998).

II.5.2 pH

La plupart des champignons peuvent croître entre pH 2,5 et 9,5 avec un optimum de 4,5 à 6,5 et la production des mycotoxines à lieu aux voisinages des pH optimum de croissance (Weidenbörner, 1998).

II.5.3 Activité d'eau

La teneur en eau libre dans un substrat, appelée activité de l'eau (*aw*), est l'un des facteurs déterminants dans la production des mycotoxines. Certains facteurs, tels que la pression osmotique, le substrat et la température, en réduisant l'humidité relative, peuvent conditionner l'*aw* dans le milieu. La plupart des champignons se développent à un *aw* de 0,8.

En général, l'*aw* optimal pour la production de mycotoxines est supérieur à celle de la croissance du champignon.

Les champignons xérophiles peuvent se multiplier à des *aw* allant de 0,75 - 0,65 et peuvent sporuler dans les produits de faibles *aw* (grains, noix, fruits secs, herbes, etc.) (Weidenbörner, 1998).

II.5.4 Aération

La majorité des champignons sont aérobies. Quelques espèces sont micro-aérophiles et d'autres espèces sont anaérobies strictes (Alexopolus *et al.*, 1996).

II.5.5 Lumière

Les radiations du spectre visible n'ont en générale pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. Beaucoup de champignon n'exigent pas de lumière pour sporuler (Larpent *et Larpent-Gourgaud*, 1990).

II.6 Multiplication végétative et reproduction

II.6.1 Reproduction asexuée

Le mode le plus commun de reproduction asexuée, est la production de spore.

Les spores asexuées sont produites chez un mycète par une mitose suivie d'une division cellulaire (Prescott *et al.*, 2003).

Il y a trois mécanismes principaux (Leyral et Vierling, 2003) :

- Des spores produites par transformation des cellules du thalle ; thallospores (arthrospores). Un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent de mycélium.
- Des cellules fongiques se multiplient et se différencient pour former le conidiophore, sur lequel se forment les conidies.
- Les sporangiospores sont des cellules flagellées ou non ne provenant pas d'une fraction préexistante du thalle.

II.6.2 Reproduction sexuée

La reproduction sexuée implique la production d'organes sexués et de gamètes, la fusion des gamètes ou des organes sexués suivie par la fusion nucléaire (caryogamie), la méiose et le développement des organes de fructification (Larpenet et Larpenet-Gourgaud, 1990).

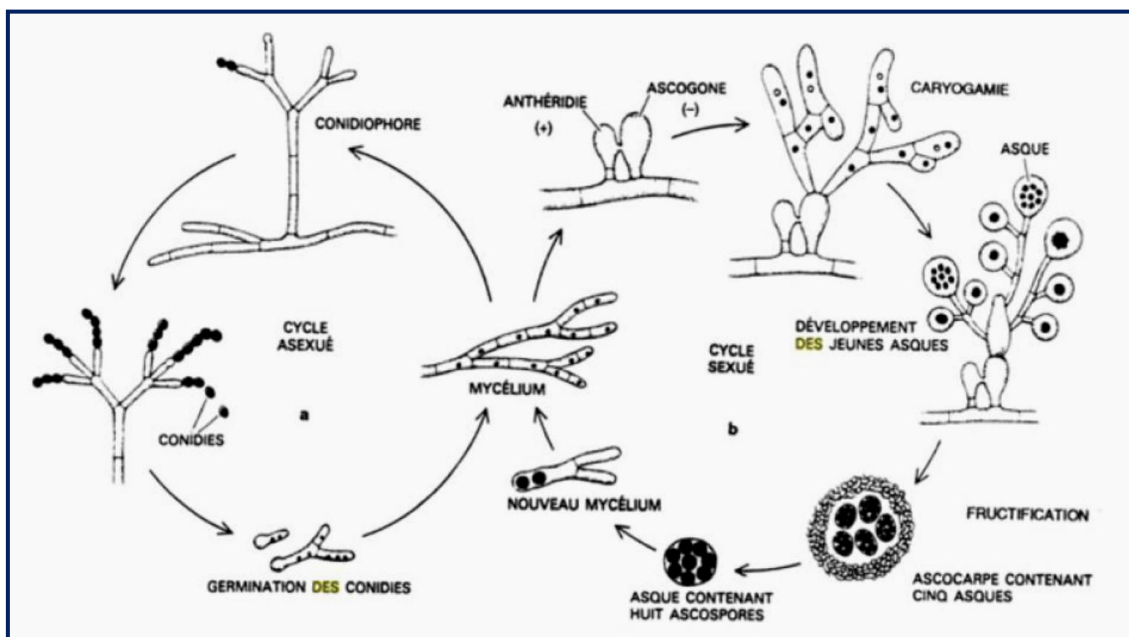


Figure 4 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée des champignons (Aurélié, 2013).

II.7 Mode de vie

En raison de leur caractère hétérotrophe, les champignons se développent sur des milieux organiques et sont donc parasites, symbiotes ou saprophytes.

II.7.1 Les champignons phytopathogènes

Ils établissent des interactions antagonistes avec les plantes (Vander, 2003).

II.7.2 Les champignons saprophytes (libres)

Ils participent notamment aux processus de décomposition des matières organiques, d'immobilisation des éléments minéraux et établissent des interactions neutres avec la plante (Klein et Paschke, 2004).

II.7.3 Les symbiotiques

Vivent, par contre en symbiose avec un autre microorganisme, ce dernier les supporte sans en souffrir, ou même bénéficie de leur présence. Les cas les plus connus sont les lichens et les mycorhizes (Bouزيد, 2006).

II.8 Les principales maladies cryptogamiques

Le blé, comme toutes les céréales, est menacé par de nombreuses maladies dont les principales sont classées dans le tableau IV:

Tableau IV : Les maladies cryptogamiques de blé dur (Soltner, 1990).

Nom de maladie / Agent causal	Organe touché	Description de la maladie
Charbonneuss Caries (<i>Tilletia caries</i>)	Grain	Grain vert olive, rempli de spores noires à odeur de poisson pourri.
Charbon foliaire (<i>Urocystis agropyri</i>)	Feuilles	Stries longitudinales le long des feuilles qui se tordent et s'enroulent. Des masses sporifères noirâtres apparaissent au niveau des stries entre les veines de la feuille.
Charbon nu (<i>Ustilago tritici</i>)	L'épi	Les fleurs sont remplacées par une masse de spores noires. Le mycélium pénètre à la floraison et se conserve à

		l'intérieure des téguments du grain.
Les fusarioses (<i>Fusarium roseum</i>)	Epis	Dessèchement précoce. Echaudage. Les grains contaminés sont toxiques.
Les rouilles (<i>Puccinia triticina</i>)	Feuilles (faces supérieure)	Pustules brunes, dispersées.
Les septorioses (<i>Septoria tritici</i>)	Feuilles Rarement les épis.	Taches provoquant un dessèchement des feuilles.
Helminthosporiose (<i>helminthosporium</i>)	Feuilles	Taches chlorotiques et nécrotiques sur les limbes des feuilles jeunes ou adultes, losangiques, bordées par des zones chlorotiques.
Oïdium (<i>Erysiphe graminis</i>)	Gaines Feuilles Glumes	Feutrage blanc sale.
Jaunisse nanisant (<i>Rhopalosiphum pad</i>)	Feuilles Tiges	Jaunissement et rougissement. Au début de la montaison, on observe un nanisme plus ou moins important. Développement racinaires très ralenti. Dégâts graves.
Les pourritures racinaires (<i>Fusarium culmorum</i>)	Racines Collet	Dessèchement des jeunes plantes Taches nécrotiques ou noirâtre sur le collet, et les racines.

II.9 Les principaux champignons d'altération du blé dur

II.9.1 Flore des champs

Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage (Dendy *et al.*, 2000).

Les genres rencontrés sont: *Alternaria* (le plus fréquent), *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium* (moins fréquents), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (Sauer *et al.*, 1982 ; Zillinsky, 1983). Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions dans le champ. Elle exige des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale (Adams *et al.*, 2008).

En fonction des conditions précises, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à basse température et à faibles niveaux d'humidité (Roberts, 2005).

II.9.1.1 Le genre *Alternaria*

Il est fréquent, même dans le blé cultivé dans les zones arides (Dendy *et al.*, 2000). Les espèces les plus fréquentes sont : *Alternaria alternata* est connue par la production des mycotoxines ; *Alternaria tenuissima* est capable de produire des toxines tel que l'acide ténuazonique (Figure 5 : A et B) (Andersen *et al.*, 2002) et *Alternaria infectoria* cause la décoloration et la dévalorisation du grain mais elle est non toxino-génique (Webley *et al.*, 1997).

II.9.1.2 Le genre *Fusarium*

Il comprend les espèces qui ont à la fois des pouvoirs pathogènes et saprophytes. Les espèces rencontrées sont surtout : *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium poae* (Figure N° 5 : C, D, E) (Van der Burgt *et al.*, 2009).

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

II.9.2 Flore de stockage

Les facteurs environnementaux peuvent exercer une pression sélective influençant la structure de la communauté et la dominance de quelques espèces mycotoxigéniques (Magan *et al.*, 2003). Les moisissures des grains de blé stockés sont présentes sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe ou spores en dormance sur la surface du grain. Cependant, un certain nombre de moisissures sont superficiellement associées aux grains stockés. Les principaux genres rencontrés sont : *Aspergillus* et *Penicillium* en raison de leurs capacités de

se développer sur tous substrats possibles et dans une large gamme de température et d'humidité (Mathew *et al.*, 2011).

II.9.2.1 Le genre *Aspergillus*

Chaque espèce de moisissures de stockage a ces conditions de développement (Christensen *et al.*, 1969). Dans le blé stocké, les moisissures du genre *Aspergillus* se multiplient d'autant plus rapidement que la température (jusqu'à 40°C) et l'activité de l'eau sont élevées (Feillet, 2000).

Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées dans le grain de blé stocké sont surtout : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* (Figure N° 5 : I, J et K) (Mathew *et al.*, 2011).

Si le blé est stocké à une teneur d'humidité de 14 à 15% et à une température d'environ 70°C, il sera lentement envahi par d'autres espèces notamment *Aspergillus restrictus*. Cette dernière représente l'espèce qui prédomine dans le blé stocké pendant quelques mois si l'humidité est inférieure à 15%. Au dessus de 15% d'humidité, d'autres espèces peuvent apparaître telles que : *Aspergillus repens*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus ruber* prédominant et conservent leurs prédominances même à des teneurs d'humidité supérieures à 18%. (Christensen *et al.*, 1969).

II.9.2.2 Le genre *Penicillium*

Les moisissures de ce genre sont moins fréquentes avant la récolte mais commencent à croître rapidement pendant le stockage, quand les conditions appropriées sont réunies. Elles se développent même lorsque la teneur en eau est relativement basse, mais elle doit être au dessus d'un seuil de 14% environ et d'un taux d'humidité de 75% (Neergaard, 1977 ; Boudreau *et al.*, 1992).

Les espèces les plus communes sont essentiellement : *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium hordei*, *Penicillium freii*, *Penicillium melanoconidium*, *Penicillium polonicum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, *Penicillium crustosum* (Figure N° 5 : F, H, G) (Dijksterhuis *et al.*, 2007).

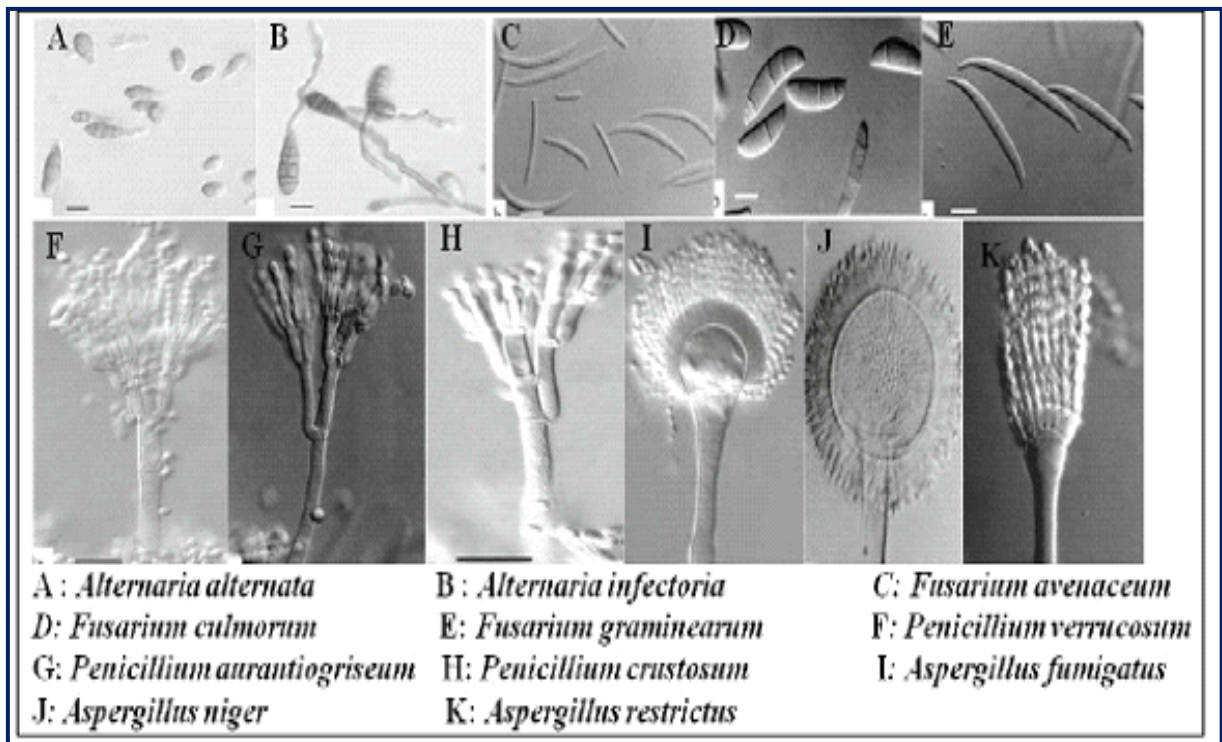


Figure 5 : Quelques champignons rencontrés dans le grain de blé, observation au microscope optique (x 100) (Pitt *et al.*, 2009).



*Matériel et
méthodes*

I. Etude mycologique des grains de blé dur

L'étude mycologique du blé dur *Triticum durum* a pour but d'évaluer les types de champignons pathogènes présents dans les différentes variétés (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO). Pour cela, l'échantillonnage, l'isolement de la flore fongique et l'identification macroscopique et microscopique des isolats doivent être représentatifs, en respectant l'enchaînement des étapes et le conditionnement du matériel.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie (Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arreridj).

I.1. Prétraitement et conditionnement du matériel

Il est nécessaire de respecter un certain nombre de règles avant d'effectuer l'échantillonnage et les analyses microbiologiques et mycologiques telles que : le prétraitement et conditionnement du matériel, un flaconnage correct et l'étiquetage précis ; afin d'assurer une conservation, traçabilité des échantillons et par conséquent l'optimisation des résultats.

I.1.1. Nettoyage de la verrerie

Il convient de nettoyer le matériel avec de l'eau et du détergent, puis le rinçage à l'eau courante de robinet, puis à l'eau distillée ; afin de réduire au minimum le risque de contamination et enfin le séchage dans l'étuve à 60° - 70°C pendant quelques heures.

Tout le matériel utilisé après les analyses au laboratoire, doit subir le même traitement effectué avant son utilisation et on le place à l'étuve pendant au minimum une nuit, puis on le range. Ainsi, toutes les indications portées sur la verrerie ou les éventuelles étiquettes doivent être supprimées lors du nettoyage.

I.1.2 L'étiquetage

Il s'agit d'indiquer : l'origine de l'échantillon, la date du prélèvement et le type d'analyse auquel l'échantillon a été destiné. Ces informations mentionnées sur les sacs stériles du prélèvement, permettent leur identification facile une fois arrivés au laboratoire sans ambiguïté.

I.2 Echantillonnage

L'échantillonnage représente une phase primordiale dans l'acquisition des résultats.

Les analyses effectuées ont porté sur les grains de blé dur des variétés de (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO) de la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des sacs en papier stériles où ils sont soumis à des analyses microbiologiques (Figure 6).



Figure 6: Les variétés de blé dur (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM ET SIMÈTO)
(Photographie originale).

I.3 Milieu de culture

Un milieu synthétique (composition en annexe num d'annexe) qui a été utilisé pour l'isolement des champignons à partir des grains (PDA) :

Milieu de Potato Dextrose Agar (PDA)

Ce milieu est recommandé pour l'isolement et le dénombrement des moisissures et des levures des produits alimentaires. Il est à noter que la stérilisation, destinée à détruire tous les germes présents au départ dans le milieu, est réalisée dans un autoclave par de la vapeur d'eau sous pression, à haute température. La stérilisation a été pratiquée à 121°C pendant 15 min (Botton *et al.*, 1990) (*voir composition en annexe*).

I.4 Isolement de la flore fongique

Pour isoler la mycoflore des échantillons de blé dur considérés, nous avons utilisé deux méthodes :

I.4.1 Méthode directe

I.4.1.1 Désinfection de la surface des grains

Les grains de chaque échantillon de blé ont été désinfectés en surface par l'eau de javel puis dans l'éthanol pendant une minute, après deux rinçage à l'eau distillée stérile, les grains ont été séchés avec du papier filtre stérile pour être, ensuite, ensemencés (Pacin *et al.*, 2002 ; Ghiasian *et al.*, 2004).

Sous des conditions aseptiques, les grains désinfectés ont été placés directement, à l'aide d'une pince stérile, dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Figure 7) (3 boîtes pour chaque variété). L'ensemble est incubé à $28 \pm 4^\circ\text{C}$ pendant 4 à 6 jours (Pacin *et al.*, 2002 ; Ghiasian *et al.*, 2004).

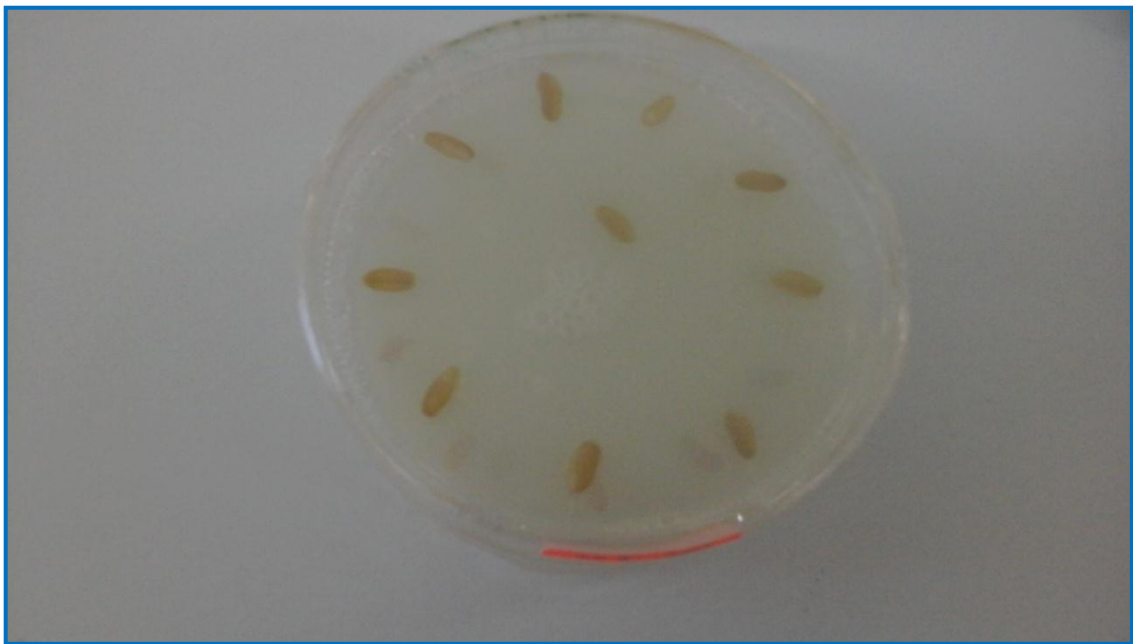


Figure 7 : Ensemencement des grains de blé sur PDA (**Photographie originale**).

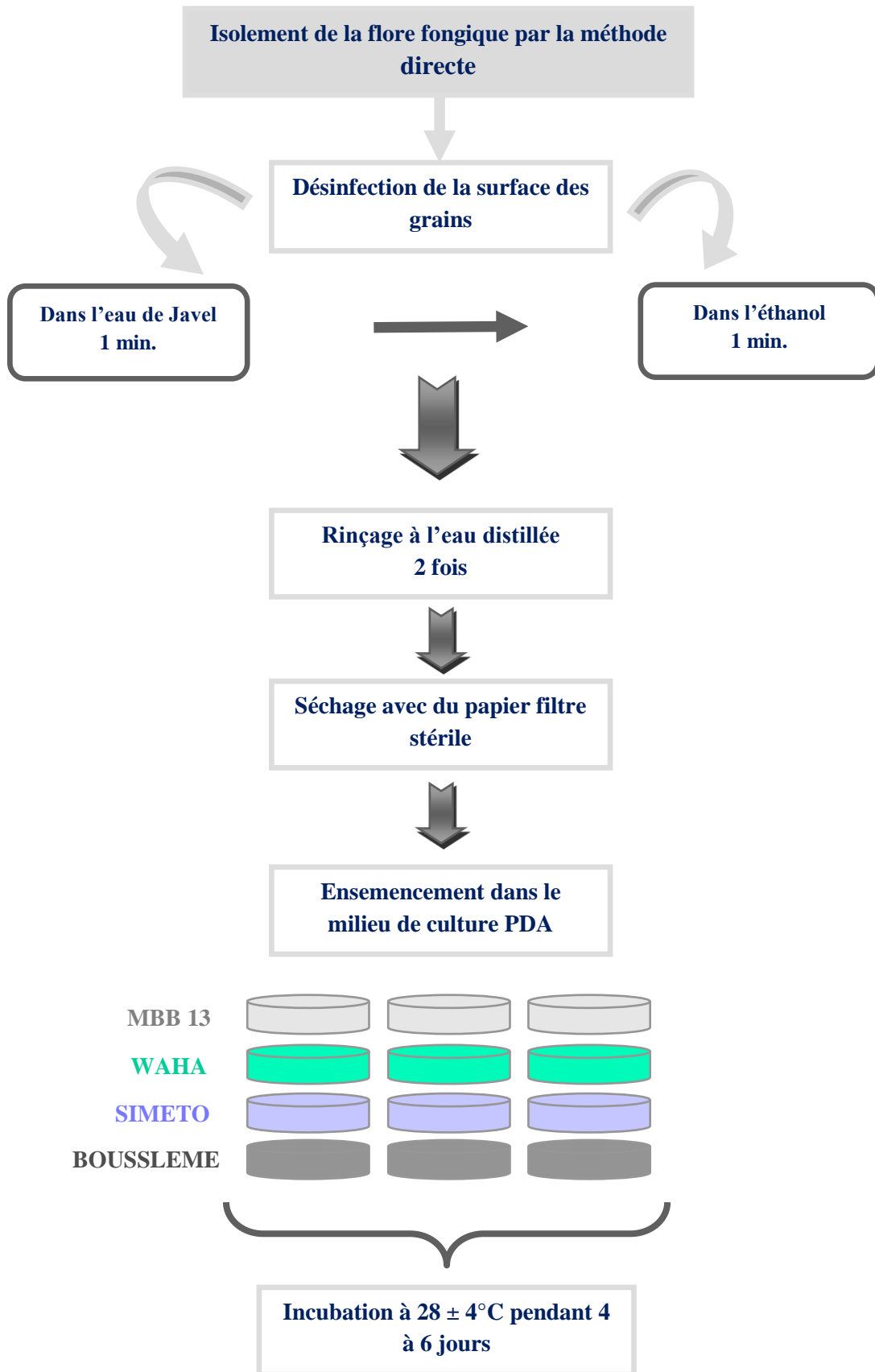


Figure 8 : Techniques d'isolement des souches fongiques à partir des grains de blé dur par la méthode directe.

I.4.2 Méthode indirecte

Cette méthode se base sur la dilution qui consiste à dénombrer les microorganismes des grains de blé à partir de la solution mère. Ensuite, des dilutions décimales ont été réalisées pour chaque échantillon de blé. Deux boîtes Pétri de milieu de culture pour chaque dilution ont été ensemencées puis incubées.

Dix grammes de chaque échantillon est dilué dans 150 mL d'eau peptonée 0.1 % (*voir composition en annexe*). À partir de cette solution les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} sont effectuées. Par la suite, 100 μ L de chaque dilution sont déposés puis étalés sur le milieu PDA (Figures 9) (Weidenbörner *et al.*, 2000 ; Lana *et al.*, 2003).

Après incubation à **25°C** pendant 7 à 10 jours à l'obscurité, les colonies de moisissures sont dénombrées et identifiées d'après Champion (1997) et Bourée (2001).

Le développement bactérien a été inhibé par l'adjonction d'antibiotiques.



Figure 09 : L'isolement des souches fongiques par la méthode indirecte
(Photographie originale).

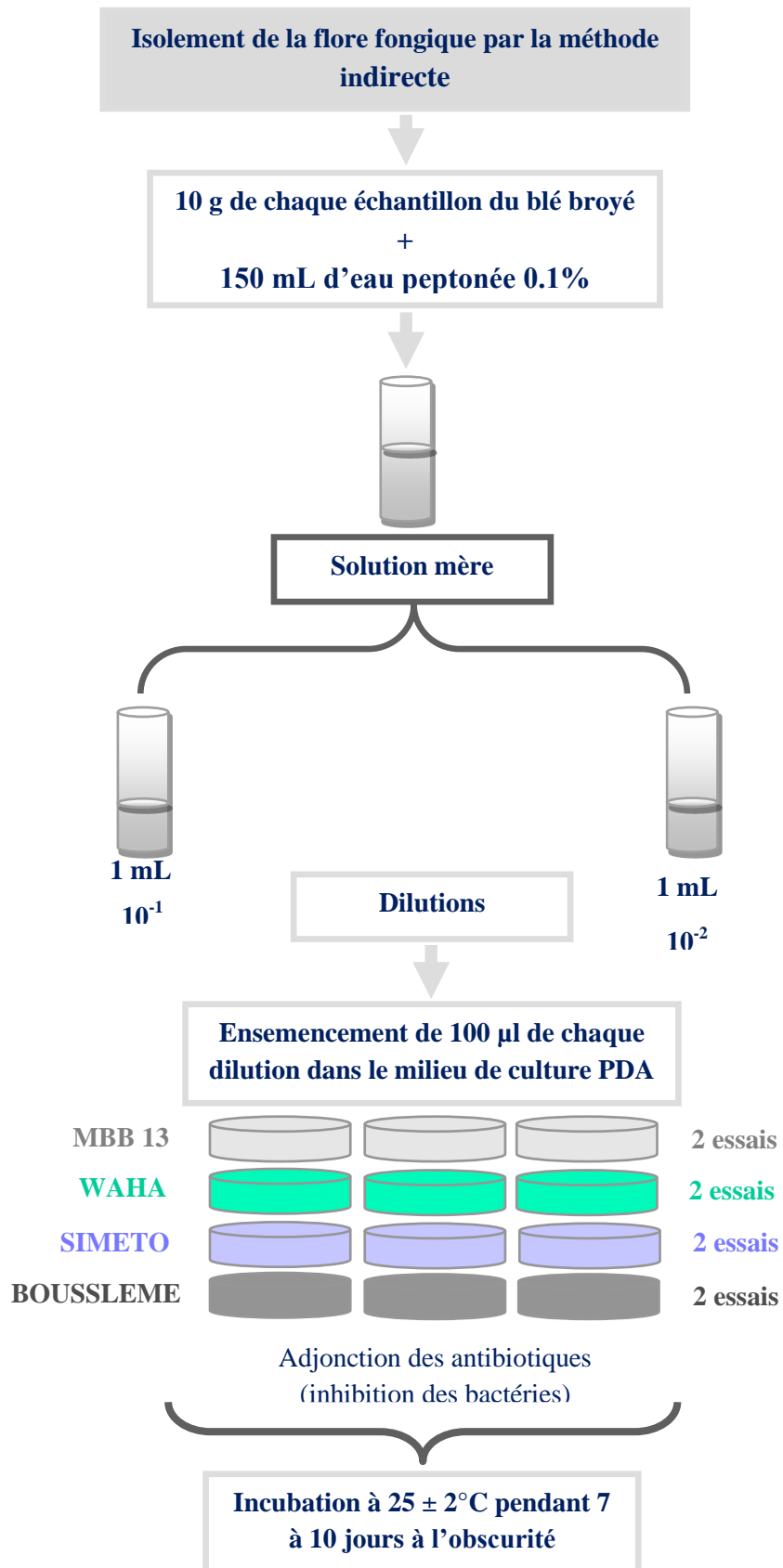


Figure 11 : Techniques d'isolement des souches fongiques à partir des grains de blé dur par la méthode indirecte.

I.4.3 Méthode de filtre en papier stérile (FPS)

L'isolement fongique à partir des échantillons de blé tendre a été effectué selon la méthode proposée par (Mills *et al.*, 1978) avec quelques modifications. Ainsi, 60 grains de blé sélectionnés au hasard de chaque échantillon ont été mis dans 4 boîtes de Pétri stériles contenant du papier filtre stérile, imbibé avec 5.5 mL d'une solution aqueuse de chlorure de sodium NaCl à 7.5 % stérile (Figure 12) (voir composition *en annexe*). Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 25°C à l'obscurité pendant 10 à 15 jours. Toutes ces analyses ont été réalisées en triplicata pour chaque échantillon.

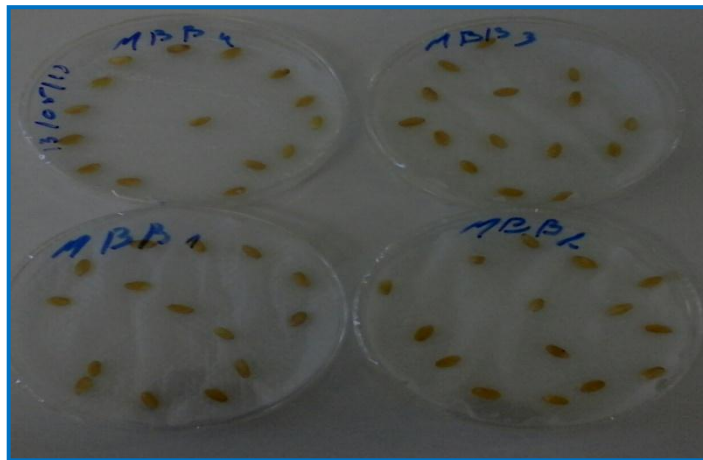


Figure 12 : Isolement par la méthode de filtre en papier stérile
(Photographie originale).

I.5 Purification

I.5.1 Purification par un repiquage

La purification est réalisée par transfert des colonies développées sur des boîtes contenant le milieu de culture PDA (*voir Annexe*) (chaque colonie récupérée dans une boîte). Ce dernier se considère comme un milieu favorable de développement (rapide) des champignons, ainsi à la production des spores (Botton *et al.*, 1990).

L'incubation est réalisée à une température 28 °C, pendant à 4 à 6 jours. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures.

Les boîtes issues d'isolement comprennent plusieurs colonies d'aspects, de couleurs, et de textures différentes. La technique consiste à prélever une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et à repiquer sous forme d'un disque à l'aide d'une pipette de pasteur stérile.

Dans un premier temps on a transféré des disques sur des nouvelles boîtes de Pétri qui contiennent le milieu de culture PDA (*Figure N° 14*). Afin d'obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte, puis une incubation dans l'étuve à 20°C.

En cas de contamination par une autre souche fongique, la purification des souches a été effectuée par le repiquage d'un hyphes terminal au centre de boîte contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures (Guiraud, 2003).

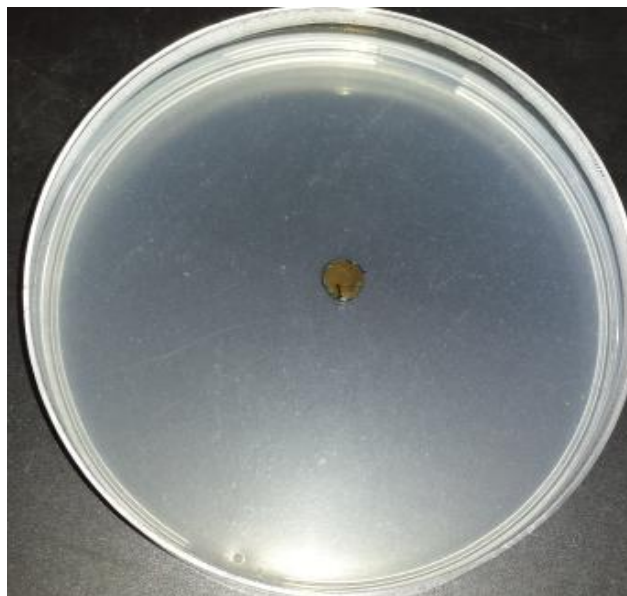


Figure 13 : Purification des isolats (**Photographie originale**).

II. Identification des isolats

L'identification des champignons contaminants les grains de blé repose sur :

II.1 Identification macroscopique

L'étude des caractères morphologiques macroscopiques a porté sur tous les groupes de moisissures isolées. Les caractères étudiés sont :

- **Au niveau du mycélium :** La couleur et la texture du thalle, la couleur du revers de la colonie, le contour de la colonie et la vitesse de croissance apicale.
- **Au niveau des spores :** La densité sur le thalle, l'aspect des spores (granuleux, poudreux), l'uniformité de la couleur des spores, la présence de pigment diffusible et les exsudats (Djossou *et al.*, 2011).

II.2 Identification microscopique

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium (Absence ou présence de cloisons, couleur, mode de ramification, différenciation des thallospores,..) et des spores (forme, couleur, texture des parois, groupement en chaînes, etc...) (Botton *et al.*, 1990).

Pour obtenir des résultats fiables, des analyses mycologiques des grains de blé dur, on doit suivre rigoureusement le protocole de chaque étape du prétraitement et conditionnement du matériel jusqu'à la purification par un repiquage et dresser ensuite les résultats sur une fiche récapitulative.

Le prétraitement et conditionnement du matériel utilisé pour cette étude, représente une étape primordiale plus importante, qu'il doit se faire avant les analyses, pour éviter toute sorte de contamination et s'assurer de ne pas fausser les résultats.

Les sacs stériles d'échantillonnage et les boîtes de Pétri des milieux de culture sont repérées par l'étiquetage, conduisant à l'identification facile des échantillons.

L'identification macroscopique et microscopique est une étape très importante qui doit être attentivement réalisée.

Les analyses mycologiques appliquées aux différentes variétés du blé dur de Bordj Bou Arreridj se sont déroulées pour donner les résultats présentés avec leur interprétation dans le chapitre suivant.



*Résultats et
discussion*

I. Mise en évidence de la flore fongique contaminant les échantillons de blé dur

Identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (Cahagnier, 1998). En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques de chaque souche fongique sur le milieu de culture PDA. L'identification microscopique étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture de parois).

On distingue les genres suivants :

I.1 Les isolats A

L'étude macroscopique de ces isolats, montre des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis vert-jaunâtre. Le revers est incolore. Selon les clés d'identification de Rémi (1997).

Ces isolats correspondent à l'espèce *Aspergillus flavus* ; ses caractères microscopiques sont :

- thalle cloisonné (siphonné) ;
- les hyphes portent à leur extrémité un sporocyste qui renferme les endospores (conidiophores dressés), non ramifiés ;
- les phialides sont formées directement sur la vésicule ou sur des métules ;
- les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de couleur verte et sont verruqueuses (Figure 14)

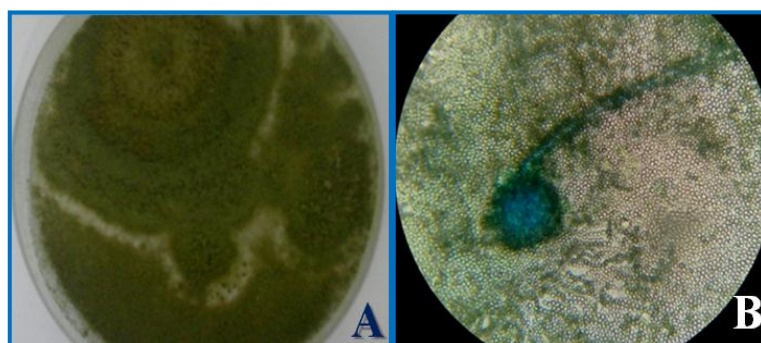


Figure 14 : *Aspergillus flavus* : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique (Photographie originale).

I.2 Les isolats B

L'étude macroscopique de ces isolats, montre des colonies poudreuses, de couleur noire. D'après les clés d'identification de Botton et *al.*, (1990), l'isolat est classé dans l'espèce *Aspergillus niger*, qui possède :

- un thalle à croissance rapide ;
- caractère microscopique présentant un mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses ;
- conidies globuleuses parfois légèrement aplaties, brune, échinuleuses et verruqueuses (Figure 15).

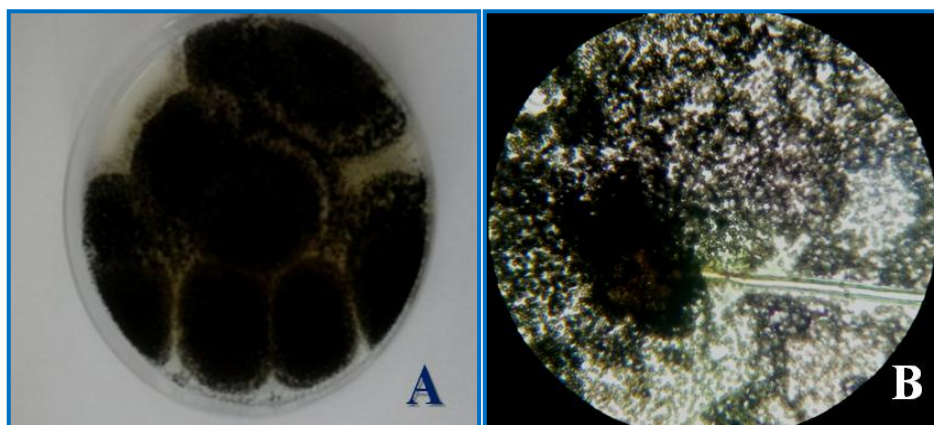


Figure 15 : *Aspergillus niger*: A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

I.3 Les isolats C

D'après le diagnostic macroscopique, ces isolats présentent des colonies de couleur vert-bleuâtre (la couleur des phialides) et un aspect velouté.

Selon Pitt (1985), ces isolats correspondant à l'espèce *Penicillium* sp ; avec les caractéristiques microscopiques suivantes :

- un thalle formé de filaments mycéliens septés et hyalins ;
- des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés, qui sont septés et groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Figure 16).

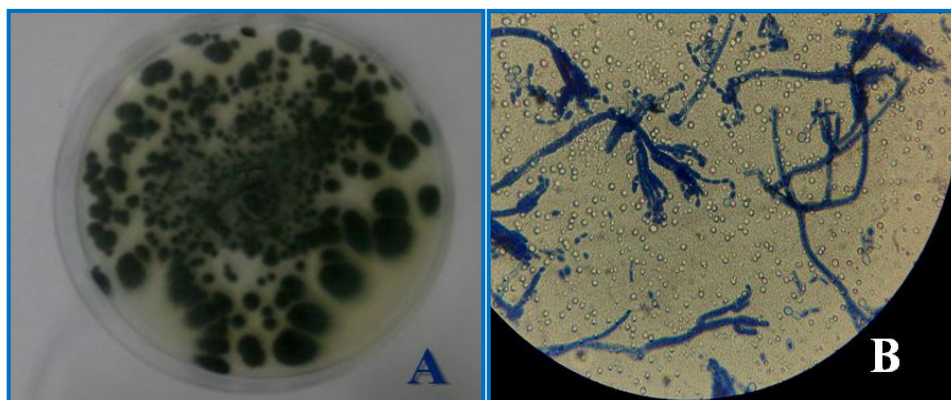


Figure 16 : *Penicillium sp.*: A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

I.4 Les isolats D

D'après les clés d'identification de Botton *et al.*, (1990), ces isolats correspondent à *Fusarium solani*. L'observation microscopique à grossissement X 40 montre :

- des macroconidies formées à partir de conidiophores ramifiés, multiples, courts et qui peuvent former des sporodochies, comportant de sept à neuf cloisons ;
- des microconidies cylindriques comportant trois cloisons sont regroupées en deux à trois paires rapprochées et plus au moins éloignées (Figure 17).

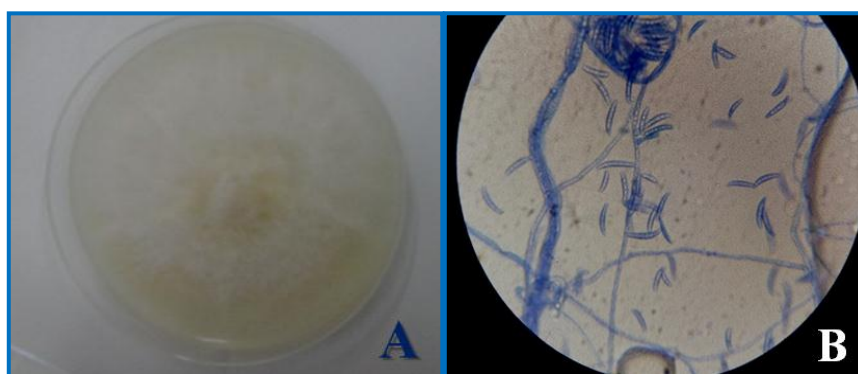


Figure 17 : *Fusarium solani* : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

I.5 Les isolats E

L'aspect macroscopique de ces isolats montre des colonies de couleur blanc-rosé, blanc-beige à mauve pâle et un revers brun jaune à brun pourpre, Les colonies sont floconneuses ou rases et d'aspect muqueux ou velouté selon les isolats.

D'après les clés d'identification de Botton *et al.* (1990), cet isolat correspondant à *Fusarium* sp. L'observation microscopique montre :

- des conidies de forme très caractéristiques ;
- les microconidies et les macroconidies portées par des phialides (Figure 18).

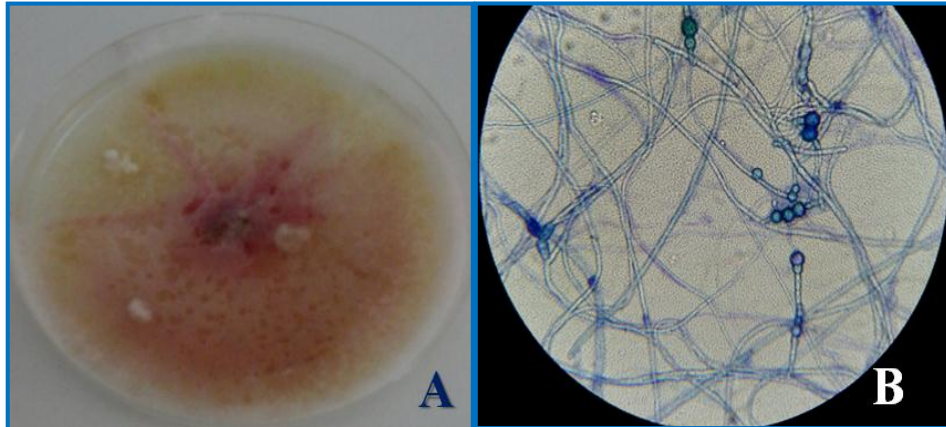


Figure 18 : *Fusarium* sp : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

I.6 Les isolats F

D'après le diagnostic macroscopique de ces isolats, les colonies sont d'une couleur verdâtre au départ qui devient rapidement foncée, apparaissent noires ou vertes et duveteuses et présentent une texture épaisse.

D'après les clés d'identification de Rémi, (1997), l'isolat correspondant à l'espèce *Alternaria alternata* ; leurs caractéristiques microscopiques sont les suivantes :

- des hyphes septés, certains filaments sont pigmentés en brun simples ou ramifiées bâtonnets marron appelés conidiophores ;
- les conidies de forme elliptique ou ovoïde dispersées avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongée en bec conique à cylindrique plus ou moins important, sont cloisonnées, brunes et courtes (Figure 19).

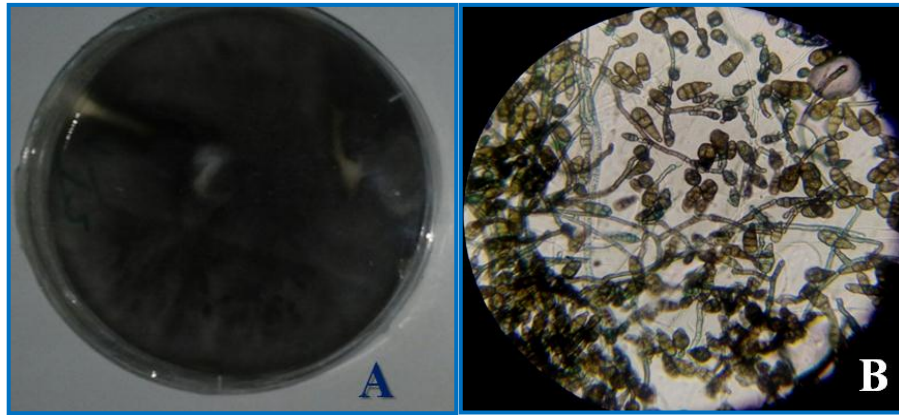


Figure 19 : *Alternaria alternata* : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

I.7 Les isolats G

D'après le diagnostic macroscopique de ces isolats, montre des colonies poudreuses à laineuses, vert foncé à noir.

D'après les clés d'identification de Chabasse *et al.*, (2002), les isolats correspondant à l'espèce *Alternaria* sp ; leurs caractéristiques microscopiques sont les suivantes :

- filaments septés, fins et réguliers bruns foncés à noirs ;
- conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières ; souvent en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement (Figure 20).

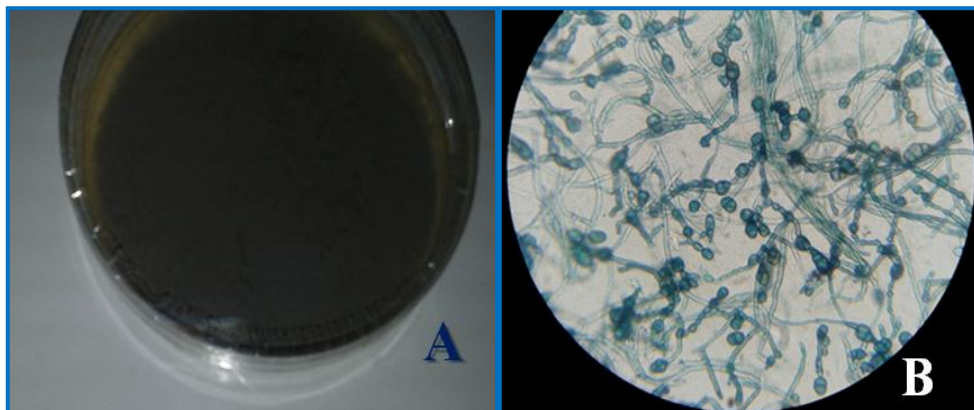


Figure 20 : *Alternaria* sp : A) Aspect macroscopique ; B) Aspect microscopique
(Photographie originale).

II. Evolution de la flore fongique dans les échantillons du blé dur

Sur les quatre échantillons analysés (MBB 13, Waha, Bousselam et Siméto), nous avons isolé 40 souches fongiques. En effet, nous avons obtenu :

- 09 isolats fongiques à partir des grains de (MBB 13) ;
- 8 isolats fongiques pathogènes à partir des grains de (WAHA) ;
- 12 isolats à partir des grains de (BOUSSELAM) ;
- 11 isolats à partir des grains de (SIMETO).

Les résultats des analyses mycologiques obtenus des 4 échantillons du blé dur, sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V: Les différents genres fongiques obtenus à partir des quatre variétés de blé dur.

	Nombres d'isolats	Genres	Pourcentage par rapport à l'échantillon (%)	Pourcentage par rapport à la totalité (%)
MBB 13	9	<i>Aspergillus</i> (4)	44.44	10
		<i>Alternaria</i> (5)	55.56	12.5
WAHA	8	<i>Aspergillus</i> (4)	50	10
		<i>Alternaria</i> (4)	50	10
BOUSSELAM	12	<i>Aspergillus</i> (6)	50	15
		<i>Alternaria</i> (3)	25	7.5
		<i>Penicillium</i> (3)	25	7.5
SIMÈTO	11	<i>Aspergillus</i> (2)	18.18	5
		<i>Alternaria</i> (3)	27.27	7.5
		<i>Penicillium</i> (2)	18.18	5
		<i>Fusarium</i> (4)	36.36	10

D'après le tableau V on remarque que les quatre échantillons de blé dur sont contaminés par des champignons pathogènes.

L'utilisation du milieu PDA a permis de relever 40 souches fongiques isolées à partir de quatre échantillons de blé dur et à des taux différents.

Le genre le plus prédominant est *Aspergillus* avec un pourcentage très important de 40% dans les 4 échantillons du blé dur.

La présence du genre *Alternaria* dans les quatre échantillons analysés (MBB 13, Waha, Bouselam et Siméto) avec un pourcentage remarquable de 37.5%.

Le genre *Penicillium* est présent dans les blés durs de Bouselam et Siméto avec un pourcentage de contamination faible soit de 12.5 %.

Un très faible pourcentage de contamination par le genre *Fusarium* de 10 % qui se trouve uniquement dans l'échantillon du blé dur de Siméto.

Les différents genres de champignons pathogènes obtenus dans chaque souche fongique, isolés par les trois méthodes ; méthode directe (milieu de culture PDA), méthode indirecte (dilution) et la méthode de filtration par le papier filtre imbibé, sont représentés dans le tableau suivant (Tableau VI).

Tableau VI : Les différents genres fongiques obtenus par les trois méthodes d'isolation à partir des quatre variétés de blé dur.

Variétés	MBB 13			WAHA			BOUSSELAM			SIMÈTO		
	PD A	Dilutio n	Filtre Papie r	PD A	Dilutio n	iltre papier	DA	Dilutio n	Filtre papier	PDA	ilution	Filtre Papie r
<i>Aspergillus</i>		3	1	2	2		2	3	1		2	
<i>Alternaria</i>	2		3	3		1	3			3		
<i>Penicillium</i>								3		2		
<i>Fusarium</i>											4	

La figure N° 21, illustre la variation du nombre des genres fongiques pathogènes (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Fusarium*) dans les différentes variétés du blé dur étudiées, isolés avec le milieu de culture PDA.

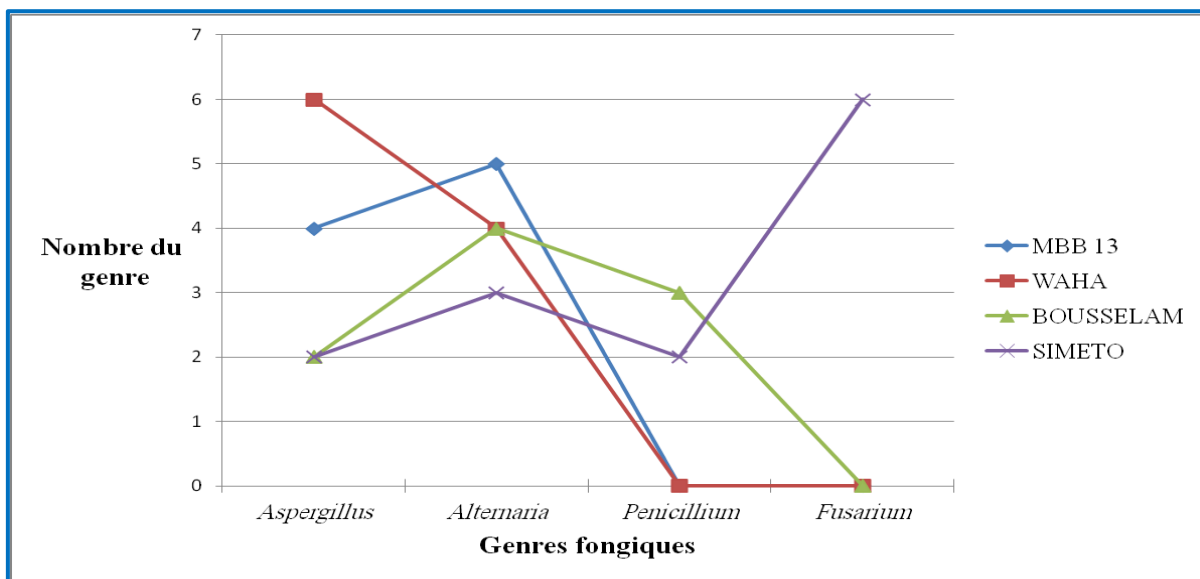


Figure 21 : Evolution de la flore fongique isolée sur le milieu PDA à partir des grains du blé dur.

Les variations du pourcentage des différents genres de la flore fongique isolés à partir des souches cultivées sur le milieu PDA en fonction des échantillons du blé dur étudiés, déterminant la contamination pathogène et la qualité de ces échantillons, elles seront représentées dans la figure qui va suivre.

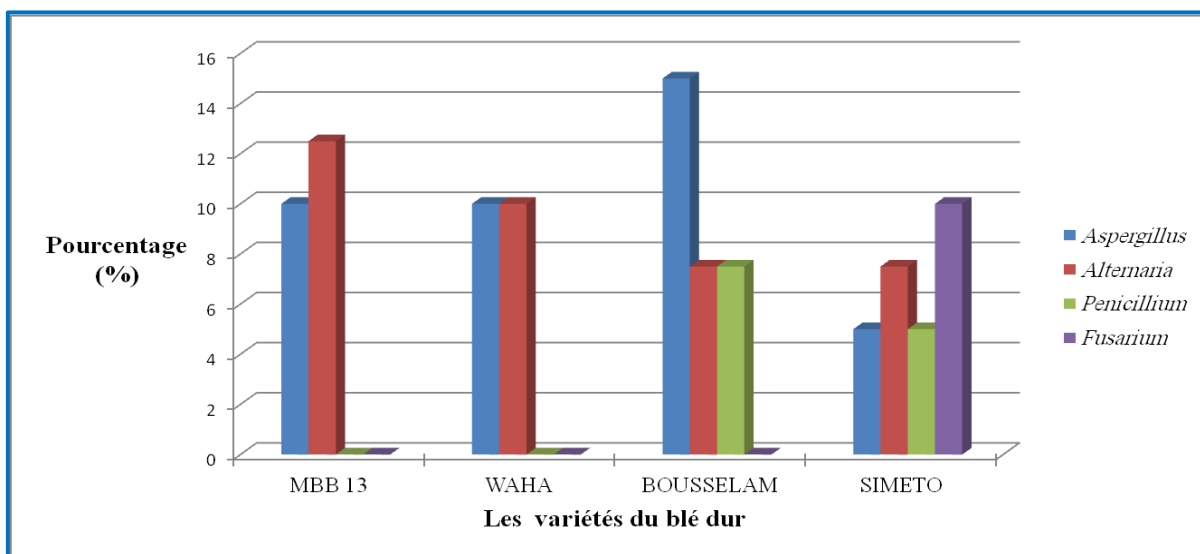


Figure 22 : Evolution du pourcentage de la flore fongique isolée sur le milieu PDA dans les différentes variétés du blé dur.

III. Discussion

Une étude mycologique des grains de blé dur des variétés de (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO) a été effectuée. Les résultats de cette analyse ont révélé une contamination par les moisissures dans les quatre échantillons.

40 souches ont été détectées dans les grains du blé, dont 09 ont été détectées dans les grains de (MBB 13), 8 dans les grains de (WAHA) ,12 dans les grains de (BOUSSELAM) et 11 dans les grains de (SIMÈTO).

Cette différence de contamination fongique entre les quatre échantillons de blé peut être expliquée par l'utilisation des produits chimiques (fongicides) qui ont permis la réduction et la diminution du taux de cette contamination.

Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la mycoflore (Le Bars *et al.*, 1987).

(Wilson *et al.*, 2002), rapportent que la contamination fongique des céréales au champ ou pendant le stockage est directement liée aux conditions hydrothermiques.

La flore fongique totale des grains de blé est constituée essentiellement de moisissures filamenteuses, très sporulantes, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Aspergillus* et *Alternaria* sont les plus rencontrés.

Les différents genres de moisissures que nous avons pu identifier sont des contaminants des denrées alimentaires maltraitées mais surtout mal conservées, ils sont considérés comme contaminants de stockage des céréales et leurs dérivés (Berthier et Valla, 1998).

La présence du genre *Aspergillus* dans la flore de contamination des céréales est signalée dans plusieurs travaux (Riba *et al.*, 2005; Le Bars *et al.*, 1987). Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage (Withlow, 2001).

Les espèces d'*Aspergillus* rencontrées dans cette étude sont *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ; il a été rapporté dans la littérature que les espèces appartenant au genre *Aspergillus* à grande dominance sont *Aspergillus niger* suivi d'*Aspergillus flavus*.

Les autres souches isolées des échantillons analysés appartiennent aux genres, *Alternaria* et *Fusarium*, sont naturellement présents sur les cultures au niveau des champs et dans le sol (Withlow *et al.*, 2001).

La présence du genre *Alternaria* dans le blé dur semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon. Ces mêmes résultats ont été constatés par (Weindenborner, 2000).

Lors de la contamination du blé, les paramètres régulant la croissance fongique et permettant la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en mycoflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité relative élevé, le pH et la température de stockage des grains (Zia-Ur-Rahman, 2006).

Les trois méthodes utilisées au cours de cette étude afin d'isoler les différents genres de la flore fongique et les cultiver dans le milieu PDA ont été décrits par plusieurs auteurs pour l'isolement des moisissures contaminants les aliments.

La composition du milieu de culture PDA à base d'éléments organiques, permet une croissance variable des différentes souches fongiques.

En effet, les résultats d'analyse mycologique des quatre échantillons des grains du blé dur (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO), permet de savoir l'évolution des genres de la flore fongique et leur répartition dans chaque échantillon étudié.

Les céréales sont des denrées alimentaires fréquemment contaminées par les moisissures. La contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage, ou au cours du stockage des grains. L'altération des céréales stockés a fait l'objet de nombreuses études ayant mis en évidence que la contamination fongique compte parmi les principales causes de détérioration des grains de céréales expliquée par des variations dans les paramètres technologiques du grain et par les pertes considérables (Atalla *et al.*, 2003 ; Molinie *et al.*, 2005).

Le choix de la méthode d'isolement des souches fongiques et le milieu de culture, joue un rôle très important dans l'obtention des résultats fiables et pour faciliter leur interprétation.

L'étude comparative des résultats obtenus avec les autres études permet de donner une bonne interprétation de ces résultats surtout dans l'identification de la flore fongique.



Conclusion générale

Cette étude a été réalisée dans le but d'isoler, purifier et d'identifier des différentes souches de champignons à partir des grains de blé dur des variétés de (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO), stockés à CCLS de la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Pour répondre à cet objectif, un échantillon représentatif de chaque variété a été analysé.

Ce travail a eu lieu au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée, du département de sciences technologiques de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arreridj.

Pour ce faire, nous avons tout d'abord exploité les données bibliographiques qui nous ont permis de maîtriser les genres de champignons qui se développent dans chaque variété de blé dur et leurs caractéristiques.

En tenant compte des analyses effectuées et le mode opératoire, en décrivant le prétraitement, l'étiquetage, l'échantillonnage, et en détaillant par la suite les étapes successives du protocole d'analyse mycologique permettant d'isoler les différents genres de la flore fongique, ce qui nous a permis de tracer leurs évolution en fonction des échantillons résumés dans le dernier chapitre résultats et discussion.

Au terme de cette étude relative aux analyses mycologiques des différentes variétés du blé dur et à partir des résultats obtenus des échantillons prélevés et leurs interprétations, nous espérons avoir atteint l'objectif de notre étude et de conclure avec les points suivants :

- Isolement de 40 souches fongiques réparties comme suit : 09 isolats fongiques à partir des grains de la variété (MBB 13), 8 isolats fongiques pathogènes à partir des grains de (WAHA) ,12 isolats à partir des grains de (BOUSSELAM) et 11 isolats à partir des grains de (SIMÈTO).
- Après purification et identification des souches isolées, on a pu conclure qu'il s'agirait bien de quatre moisissures appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Fusarium* ; avec une dominance du genre *Aspergillus* avec un pourcentage de 40 % et puis le genre *Alternaria* à raison de de 37.5 %.

Conclusion générale

- Le genre *Aspergillus* est représenté par trois espèces (*A. flavus*, *A. niger* et *A. fumigatus*). Ces dernières ont été retrouvées dans les quatre échantillons analysés avec une fréquence et une abondance élevée de 0.4.
- Les trois méthodes d'isolement de la flore fongique (directe, indirecte (dilution) et la méthode de filtration par le filtre en papier stérile, utilisées au cours de cette étude afin d'isoler les différents genres de la flore fongique et les cultiver dans le milieu PDA ont été bien choisies pour l'isolement des moisissures contaminant les aliments.
La composition du milieu de culture sélectif PDA à base d'éléments organiques, nous a permis d'avoir une variabilité de souches fongiques.

En perspectives, il serait intéressant de réaliser les étapes suivantes :

- Etude de l'activité antimicrobienne (criblage) de souches vis-à-vis des champignons phyto-pathogènes ;
- La connaissance des différents champignons qui contaminent le blé dur ;
- Identification génétiques des souches fongiques autochtones isolées ;
- Utilisation de ces souches dans la lutte biologique ;
- Recherche des mycotoxines dans la matière première (blé dur), et dans les produits de 1^{ère} transformation (semoule) et de 2^{ème} transformation (couscous).



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. **Adams Martin R., and Moss Maurice O. (2008).** Food microbiology. RSC Publishing. The Royale Society of Chemistry. Third Edition; 463 p.
2. **Alexopoulos C.J., Mims C.W. et Blackwell M. (1996).** Introductory Mycology. 4th ed. New York, John Wiley and Sons, Inc.
3. **Andersen B., Kroger E and Roberts R.G. (2002).** Chemical and morphological Segregation of *Alternaria Arborescens*, *Alternaria Infectoria* and species-groups. *Mycol Res*, p: 170-180.
4. **Anonyme, (2011) :** www.google.com.
5. **Aurélié, L.,(2013).**Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. MéDIAN-Biophotonique et Technologies pour la santé, université de Reims champagne –Ardenne, FRE CNRS .3481 MEDyC, UFR de pharmacie ,51 rue Cognac – Jay ,51096 REIMS cedex France .P :16-19.
6. **Baldy, C., (1974).** Contributions à l'étude fréquentielle des conditions climatiques. Leurs influences sur la production des principales zones céréalières d'Algérie. Doc. Projet Céréale.152 p.
7. **Belaid D., 1996.** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Ed. Office des publications Universitaires, Ben-Aknoun (Alger), 206 p.
8. **Bencharif A., Rastoin J.L., (2007).** Concepts et Méthodes de l'Analyse de Filières Agroalimentaires : Application par la Chaîne Globale de Valeur au cas des Blés en Algérie. *Working Paper. 7* : 1-23.
9. **Berthier J., Valla G. (1998).** Moisissures - Mycotoxines et Aliments : du Risque à la Prévention. Université Claude Bernard, Lyon :05-20.
10. **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpen J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y and Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies : 34-428.
11. **Boudreau A and Ménard G. (1992).** Le blé : Eléments fondamentaux et transformation. Presses de l'Université Laval .Paris: 439.
12. **Boufenar- Zaghouane F. et Zaghouane O., 2006.** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC, ICARDA., Alger. 154 p.
13. **Bounneche, H ;(2015).**’’ Fric : technologie de fabrication et qualité’’ mémoire de magister, département de technologies alimentaires, université Constantine 1
14. **Bouzidi H., (1979):** Généralité. Revue trimestriel scientifique et technique d'information, Institut de développement des grandes cultures, Alger. 32 p.
15. **Bozzini, A., (1988).** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. In: Fabriani, G., & Lintas, C. (eds.). *Durum - Chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA, pp. 1-16.
16. **Cahagnier B, Richard-Molard D. (1998).** Analyses mycologiques les moisissures des aliments peu hydratés. Coordonnateur CAHAGNIER B., tec et doc. Paris .p.152.
17. **Coopérative de céréales et de légumes secs, 2019.**
18. **Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L ., Brun S and Penn P. (2002).** Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt medical. Labo Analy De biomédicale.
19. **Champion, R. (1997)** Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France, 398 p.

20. **Christensen Clyde M and Kaufmann Henry H. (1969).** Grain storage. The role of fungi in quality loss. Minnesota archive Editions; p: 153.
21. **CIC, 2013.** Marché des céréales, disponible sur <http://www.igc.int/>, Conseil international des céréales.
22. **Clement-grandcourt et Prat., (1970)** .Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2ème édition. PP.351-360.
23. **Cook J., JohnsonV.A., Allan R. E., 1991.** Le blé. In :Greef.M.W. (Eds). Méthodes traditionnelles de sélection des plantes: un aperçu historique destiné à servir de référence pour l'évaluation du rôle de la biotechnologie moderne. Organisation de coopération et de développement économiques, Belgique, pp 27-38.
24. **Dendy D.A.V and Dobraszczyk. (2000).** Cereals and Cereal Products: *Technol.Chemistry*. Springer; p: 370.
25. **Dijksterhuis J and Samson Robert A. (2007).** Food mycology. A multifaceted Approach to fungi and food. CRC Press; p: 403.
26. **Dix, N.J. and Webster, J. (1995).** Fungal Ecology, Chapman & Hall, London. ISBN 0-412-22960-9G.L. Hennebert . Fr. Balon La Mèrulle des maisons. Louvain-La-Neuve, ARTEL, Edition CUCO, 19%.
27. **Djermoun A. (2009)** La production céréalière n Algérie : les principales caractéristiques, Revue Nature et Technologie, N°1, 45-53.
28. **Djossou O., Perraud-Gaime I., Lakhel Mirleau F ., Rodriguez-Serrano G., Karou G ., Niamke S., Ouzari I., Boudabous A and Roussos S. (2011).** Robusta coffee beans post harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. Anaerobe: 1-6.
29. **Doumandji A., Doumandji-mitiche B., Salaheddine D. (2003).** Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires: 1-22.
30. **Eliard JL., (1979).** Manuel d'agriculture générale. Bases de la production végétale. Ed. J.B. Baillière. 344p.
31. **Feillet P., (2000).** Le grain de blé : Composition et utilisation. Edition Quae. INRA. Paris; p: 308.
32. **Ferreira, M. S. L., (2011).** Dynamique d'assemblage des protéines de réserve et du remplissage du grain de blé dur. Thèse. Doctorat. Centre international d'études Supérieures en sciences Agronomiques de Montpellier, 261p.
33. **Fredot E., (2005).** Connaissance des aliments. 1ère édition. Lavoisier. Paris, 397p.
34. **Gcema., M. A. (2011).** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanoliques et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelques moisissures d'altération de blé tendre stocké (Doctoral dissertation).
35. **Gate, P.H., (1995).** Ecophysiologie du blé ; Technique et documentation : Lavoisier, Paris 429 p.
36. **Ghiasian S.A., Bacheh P. K., Rezayat S. M., Maghsood A. H., Taherkhani H. (2004).** Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*158: 113–121.
37. **Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie alimentaires. (edn) Dunod. Paris.p : 651.
38. **Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C. et Pegler D.N. (1995).**Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 8th ed.Cambridge, CAB International Mycological Institute, Egham, United Kingdom.Ed. AFNOR, Saint-Denis-la-plaine, France, 300 P.

39. **Kellou R., (2008).** Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités dé-exportation des céréales français dans le cadre de pôle de compétitivité Qualiméditerranée. Le cas des coopératives Sud Céréales. Thèse. Master. Centre international des hautes études agronomiques méditerranéennes, Montpellier, 159p.
40. **Kheladi M. (2009).** L'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes. Recherches économiques et managériales. N° 6 : 32-67 pp.
41. **Larpen J-P., Larpen-Gouraud M., (1990)-** Mémento technique de microbiologie : Microorganismes eucaryotes et procaryotes, Structure, Métabolisme, Systématique, Applications industrielles, Milieux de culture et réactifs. 2ème édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 417p.
42. **Le Bars J., Le Bars P.(1987).** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section MidiPyrénées" à Toulouse, le 18 septembre 1987.
43. **Lesage V., (2011):** Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignée quasi-isogénique. Thèse de doctorat. p17.
44. **Leyral G., Vierling E. (2003).** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires .Lavoisier Tec et Doc, France. p:154-158.
45. **Locquin M. (1984).** Mycologie générale et structurale .Ed. Masson. p551.
46. **Magan N., Hope C.V. and Aldred D. (2003).** Post – harvest fungal ecology : Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. Euro. J. Plant. Pathol 109, p:723- 730.
47. **Masle, Meynard, J., (1981).** Relation entre croisement et développement pendant la montaison d'un peuplement de blé d'hiver, influence des conditions de nutrition. Agronomie. 1 : 365-374.
48. **Mathew S., Thomas G and Tufail A. (2011).** An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal.J.Biotechnol., Microbiol.* p : 131–138.
49. **Mekhlouf, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., Hadj Sahraoui, A., Harkati, N., (2006).** Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. Sécheresse. Vol 17, (4): 507-513.
50. **Mills, J.T ; Sinha, R.N ; Wallace, H.A.H. (1978).** Multivariate evaluation of isolation techniques for fungi associated with stored rapeseed. *Phytopathol* p:1520-1525.
51. **Molkhou P. (2007)** Intolérance et allergie au blé, Journal de pédiatrie et de puériculture, 20 : 228-232.
52. **Moule C., (1971).** Céréales 2. Phytotechnie spéciale. (Ed). La maison rustique, Paris, 236p.
53. **Moule.C (1980) :** Les céréales. Ed. Maison rustique. Paris. 318p.
54. **Nadjem, K., (2012) ‘‘** contribution a l'étude des effets du semis direct sur l'efficacité d'utilisation de l'eau et le comportement variétal de la culture de blé en région semi-aride.’’ mémoire de magister, département des sciences agronomiques, Université FERHAT Abbas Sétif.
55. **Naville M., (2005).** La biodiversité des espèces cultivées : Analyse dans le cas du blé, Paris: Université Paris XI, Paris, 20p
56. **Neergaard P. (1977).** Seed pathol (11). MacMillan; p:1187.
57. **Nedjah, I ; 2015.** ‘‘Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb)’’, Thèses de doctorat, département de biologie, Université BADJI Mokhtar de Annaba.

58. Northolt M. D. et Bullerman L .B. (1982).- Prevention of mould growth and toxin production through control of environmental conditions. *Journal of Food Protection*, **45**, 519–26.
59. Pacin A.M., González H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.(2002). Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87–92.
60. Pitt J. I.(1985). The genus *Penicillium*. Edition: AcademicPress. 634p.
61. Pitt J.I. and Hocking A.D. (1991) Significance of fungi in storedproducts, Proceedings of an international conferenceheld at Bangkok, Thailand : Fungi and mycotoxins in storedproduct, 16-21.
62. Pitt John I and Hocking Ailsa D. (2009). Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Science. p: 519.
63. Prescott L. M., Harley J. P. and Klein D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition P: 1164.
64. Reiss E., Tanaka K., Bruker G., Chazalet V., Coleman D., Debeaupuis J.P., Hanazawa R., Latgé J.P., Lortholary J., Makimura K., Morrison C.J., Murayama S.Y., Naoe S., Paris S., Sarfati J., Shibuya K., Sullivan D., Uchida K. et Yamaguchi H. (1998). *Molecular Diagnosis and Epidemiology of Fungal Infections*, **36**, 249–257.
65. Reed, C. (1992). Development of storage techniques: A historical perspective. In Storage of Cereal Grains and Their Products. Edited by D. B. Sauer, St Paul: 143-156. Rémi C. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, Paris.
66. Riba A., Sabaou N., Mathieu F and Lebrihi A. (2005). Premières investigations sur les champignons producteurs d'Ochratoxine A dans la filière céréale en Algérie. Symposium Euro-Maghrébin sur les contaminants biologiques chimiques et la sécurité alimentaire, Fès.
67. Roberts T.A. (2005). Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer : 776.
68. Ruel T., 1996. La culture du blé. Collection parcours multimédia. Edition Educ Agri. (Sur support CD).
69. Sauer D.B., Storey C.L., Ecker O and Fulk D.W. (1982). Fungi in U.S. Export wheat and corn. Postharvest Pathology and Mycotoxins.
70. Selmi R., (2000). Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avantages comparatifs. Revue Afrique Agriculture. 280 : 23-30. IN: Evaluation de la qualité d'un germoplasm de blé dur (*Triticum durum* Desf) : appréciation de l'aptitude technologique et biochimique.
71. Simon, H., Codaccioni, P., Lecoeur, X., (1989). Produire les céréales à paille. Agriculture d'aujourd'hui, science, techniques, applications Ed. J.B. Baillière, 333 p.
72. Soltner D., 1999. Les grandes productions végétales. 19 ème édition, Ed. Collection
73. sciences et techniques agricoles, France, 464 p.
74. Soltner D., 2005. Les grandes productions végétales. 20ème Edition. Collection science et techniques agricoles. 472p.
75. Tabuc. N., (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti. Hawksworth D.L., Kirk P.M.
76. Van der Burgt, G.J.H.M and Timmermans B.G.H. (2009). Fusarium in wheat. Effects of soil fertility strategies and nitrogen levels on mycotoxins and seedling blight. LBL Publication.
77. Verville J.L., 2003. Le blé, le seigle et le triticale. 18p.

78. **Webley, D.J; Jackson, K. L; Mullins, J.D; Hocking, A.D; Pitt, J.I. (1997).** *Alternaria* toxins in weather-damaged wheat and sorghum in the 1995-1996 Australian Harvest. *Austr.J. Agri.Res.* p:1249-1256.
79. **Weidenbörner M. (1998).**- Lebensmittel-Mykologie B.Behr's Verlag GmbH und Co.1 ISBN 3-86022-457-3.
80. **Weindenborner. (2000).** Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential mycotoxins. *F. Microbiol.* P: 103-107.
81. **Wilson D.M., Mubatanhema W and Jurjevic Z. (2002).** Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns. *Adv. Exp. Med. Biol.* p: 3-17.
82. **Withlow L.W and Hagler W.M. (2001).** Mycotoxin contamination of feedstuffsAn additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ Québec.
83. **Waongo A., Yamkoulga M., Dabir-Binso C.L., Ba M.N., Sanon A. (2013)** Conservation post-récolte des céréales en zone sud-saoudienne du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3) : 1157- 1167.
84. **Zillinsky FJ., 1983.** Maladies communes des céréales à paille : Guide d'identification. Mexico,CIMMYT. 141 p.



Annexes

Annexe

Composition du milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA)

Pomme de terre (macération 500mL de filtrat)	200 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 mL

Composition de l'eau physiologique

Chlorure de sodium (NaCl)	9g
Eau distillée	1000 mL

➤ Tous les milieux sont stérilisés à **121°C** pendant **15- 20 min.**

Composition de l'eau peptonée

Eau peptonée	20g
Eau distillée	1000 mL

**Les méthodes d'isolement, de purification, d'identification et
de caractérisation des champignons phytopathogènes du blé
dur de la région de Bordj Bou Arreridj**

RESUMÈ

La production du blé dur (*Triticum durum*) dans la région de Bordj Bou Arreridj atteint 602 000 de quintaux pour cette année **2019**. Mais cette production est contaminée par certains genres de moisissures qui constituent un agent de détérioration très important ; en diminuant la qualité du blé.

Dans le but d'évaluer le taux de contamination fongique, quatre variétés de blé dur (**MBB 13, WAHA, BOUSSELAM et SIMÈTO**), stockés à CCLS de la wilaya de **Bordj Bou Arreridj**, ont été analysées au laboratoire de microbiologie.

40 souches mycologiques ont été isolées par trois méthodes directe, indirecte (dilution) et la méthode de filtration par le filtre en papier stérile, après leur culture dans le milieu PDA; que par sa composition organique permettant un développement d'une variabilité de souches fongiques.

La purification et l'identification macroscopique et microscopique des souches isolées ont donné la possibilité d'identifier quatre genres de champignons phytopathogènes : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Fusarium* ; avec une dominance du genre *Aspergillus* avec un pourcentage de **40 %** et puis le genre *Alternaria* d'un pourcentage de **37.5 %**.

MOTS- CLEFS : *Alternaria*, Analyses mycologiques, *Aspergillus*, blé dur, *Fusarium* et *Penicillium*.

ABSTRACT

Methods for the isolation, purification, identification and characterization of phytopathogenic fungi from durum wheat in the Bordj Bou Arreridj region

The production of durum wheat (*Triticum durum*) in the region of Bordj Bou Arreridj reaches 602 000 quintals for this year 2019. But this production is contaminated by certain types of mold which are very important deterioration agents; by decreasing the quality of the wheat.

In order to evaluate the rate of fungal contamination, four varieties of durum wheat (MBB 13, WAHA, BOUSSELAM and SIMÈTO), stored at CCLS in the state of Bordj Bou Arreridj, and were analyzed in the microbiology laboratory. 40 mycological strains were isolated by three methods; direct, indirect (dilution) and filtration method by filter paper soaked, after their culture in the PDA medium; only by its organic composition allowing a development of a variability of fungal strains. The purification and the macroscopic and microscopic identification of the isolated strains gave the possibility of identifying four kinds of phytopathogenic fungi: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Fusarium*; with a dominance of the genus *Aspergillus* with a percentage of 40% and then the *Alternaria* genus with a percentage of 37.5%.

KEYWORDS: *Alternaria*, *Aspergillus*, durum wheat, *Fusarium*, mycological analyzes and *Penicillium*

ملخص

طرق عزل وتنقية وتصنيف وتحديد خصائص الفطريات المسببة للأمراض النباتية في القمح الصلب في منطقة برج بوعريديج

يصل إنتاج القمح الصلب (*Triticum durum*) في منطقة برج بوعريديج إلى 602000 قنطار لهذا العام **2019**. لكن هذا الإنتاج يتعرض للتلوث بأنواع معينة من العفن و الفطريات التي تشكل عامل إفساد مهم للغاية ؛ عن طريق التقليل من جودة القمح.

من أجل تقييم معدل التلوث الفطري ، تم تحليل أربعة أنواع من القمح الصلب (**MBB 13 ، WAHA ، BOUSSELAM و SIMÈTO**) ، المخزنة في تعاونية الحبوب و البقول الجافة لولاية برج بوعريديج ، في مختبر الأحياء الدقيقة.

تم عزل 40 سلالة فطرية بواسطة ثلاث طرق، الطريقة المباشرة وغير المباشرة (تخفيف) وطريقة الترشيح بواسطة ورق الترشيح المعقم ، بعد زرعهم في وسط نمو الفطريات PDA، الذي عن طريق تركيبته العضوية يسمح بتطور عدة سلالات فطرية.

أعطت التنقية والتعرف الظاهري و المجهرى للسلالات المعزولة، إمكانية تحديد أربعة أنواع من الفطريات المسببة للأمراض النباتية : *Aspergillus* ، *Alternaria* ، *Penicillium* و *Fusarium* ، سجلت نسبة عالية من قبل النوع *Aspergillus* بنسبة **40 %** ثم النوع *Alternaria* بنسبة **37.5 %**.

الكلمات المفتاحية : الفطريات المسببة للأمراض النباتية ، القمح الصلب، *Aspergillus*، *Penicillium*، *Alternaria* et *Fusarium*