



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie des mycètes.

Intitulé :

Contribution à l'estimation de la flore fongique du Blé dur (variétés CIRTA et GTA) durant les premières étapes de germination en comparaison avec la flore fongique du stockage.

Présenté et soutenu par : Bouzid Abd Errezak.

Le: 24/06/2018

Haddam Mouàd.

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mr. DEHIMAT L.

(Pr. UFM Constantine 1).

Président du jury : Mr. OUFFROUKH A.

(Dr. UFM Constantine 1).

Examinatrice : Melle ALMI H.

(Dr. UFM Constantine 1).

Année universitaire
2017 - 2018

Remerciements

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et reconnaissance à mon Dieu, que ta volonté soit faite. Tu as été ma lumière, mon guide et mon secours. vous n'avez pas cessé de me montrer le bon chemin, le chemin de la vérité, du travail et de la réussite. Que ce travail honore et glorifie ton nom. Je voudrais aussi par ces lignes, exprimer ma reconnaissance envers mon encadreur, **Pr. DEHIMAT L.**, pour son encadrement, sa disponibilité mais surtout ses encouragements quel qu'ils soient sur le plan professionnel ou bien personnel. Je remercie également les membres de jury pour avoir aimablement accepté d'examiner ce travail, et pour les judicieux conseils qu'ils m'ont gracieusement offerts, chacun dans sa discipline : **Dr.OUFFROUKH A., Dr. ALMI H.***

*Je remercie gracieusement profondément **Mr OUFFROUKH.**, pour son aide à l'identification des souches, **Melle. ALMIH.**, pour son soutien, sa gentillesse mais surtout son aide apporté durant la rédaction de ce travail. En fin, un grand merci pour tous ce qui a contribué de prêt ou de loin à la réussite de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

À MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.
Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie*

A Ma cher Sœur qui ma toujours soutenus ;Joumana.

A Mes Frères, Oussama et Haithem.

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma
profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite
une vie pleine de bonheur et de
Succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et
vous garde.*

*A tous ceux qui m'ont encouragé, soutenus et supporté pour que ce travail puisse
S'accomplir.*

Mouad

Dédicace :

Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

À MA CHERE MAMAN

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.
Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

A LA MEMOIRE DE MON PERE

*Ce travail est dédié a mon père, décédé trop tôt.
J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme .puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sainte miséricorde.*

A Mes chers Sœurs qui m'ont toujours soutenus ;Hanane, Sawssen et Ibtissem.

A Mes Frères Bachouche ; redouene et sofiane; Merci pour tous.

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma
profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite
une vie pleine de bonheur et de
Succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et
vous garde.*

*A Mes trésors,
Mes neveux et mes nièces la source de mon bonheur ; Yara, Djana,Aya,Midou,*

Djad,Alaa et Rayenne.

A tous ceux qui m'ont encouragé, soutenus et supporté pour que ce travail

Puisse S'accomplir.

Abd Errezak

Table des matières

➤	Dédicaces	
➤	Remerciements	
➤	Liste des abréviations	
➤	Liste des figures	
➤	Liste des tableaux	
	Introduction	1
	Revue bibliographique	3
	1-Généralité sur le blé	3
	1-1- Origine du blé	3
	1-2- Caractéristiques de la plante	3
	1-2-1- Caractéristiques morphologiques et physiologiques	3
	-Le système racinaire.....	3
	-Système aérien.....	4
	1-2-2- Le cycle de développement	4
	-La période végétative.....	4
	a- La germination-levée.....	4
	b- Le tallage.....	5
	- La période reproductrice	5
	a-Phase montaison.....	5
	b- Phase d'épiaison.....	5
	C-La maturation du grain.....	5
	1-3- Exigences du blé	6
	1-3-1- La température	6
	1-3-2- L'eau	6
	1-3-3- L'éclairement	6
	1-4- Culture de blé dans la région de Constantine	6
	2- Les maladies fongiques du blé dur	8
	2-1- Maladies du feuillage	8
	2-1-1- Les rouilles	8
	-La rouille brune.....	8

-La rouille jaune.....	9
-La rouille noire.....	9
2-1-2- Les septorioses.....	10
-La tache septorienne.....	10
-Septoriose des feuilles et épis.....	10
2-1-3- L'helminthosporioses.....	11
2-1-4- L'oïdium.....	12
2-2- Maladies del'épi.....	13
2-2-1- Le charbon nu.....	13
2-2-2- Les carie.....	14
2-3- Les maladies racinaires.....	14
2-3-1- Le piétin	15
-Echaudage.....	15
-Vers.....	15
2-3-2-La fusariose.....	16
-Symptômes.....	16
-Caractéristiques du pathogène.....	16
Matériel et méthodes.....	18
1- Matériel.....	18
1-1- Matériel végétatives.....	18
-Le Blé non traité.....	18
-Blé traité.....	18
1-2- Milieux de culture.....	19
- (PDA).....	19
-(Sab).....	19
1-3- Solution nutritif (Solution de Knop).....	19
1-4- Etude physicochimique.....	19
-Détermination du pourcentage des grains brisés.....	19
-Détermination de l'humidité.....	20
-Mesure du pH.....	20

1-5- Isolement des champignons phytopathogène	20
1-5-1- Méthode directe	20
1-5-2- Méthode indirecte	21
1-6- Identification	23
- Identification macroscopique.....	23
- Identification microscopique.....	23
1-7- Culture des graines de blé	23
-Traitement du sol (terreau).....	23
-Stérilisation des graines.....	24
-Semis des graines.....	24
-Arrosage et suivie de la culture.....	25
1-8- Ré-isolément des souches pathogènes	25
Résultats	26
1- Analyse physico chimique	26
1-1- Pourcentage des graines braisé	26
1-2-détermination de l'humidité	26
1-3-Le PH	26
2- Identification des souches fongiques à partir du blé	26
2-1 Identification macroscopique	26
2-2 Identification microscopique	32
3- Analyse statistique et étude comparative des résultats	38
4- Identification des souches fongique isolé à partir des plantes semée	43
5- Analyse des résultats	45
6- Comparaison entre les résultats obtenus à partir des graines et les plantes semé	45
Discussion	47
Conclusion et perspective	50
Références bibliographique	
➤ Résumé	
> Abstract	
➤ ملخص	
> Annexes	

Liste des tableaux

Tableaux 1 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir de blé à étudier(graine).

Tableaux 2 : Caractères microscopiques des souches isolées des grains de blé.

Tableaux 3 : Étude statistique de nombre et pourcentage des genres fongiques dans chaque variété.

Tableaux 4 : Identification des Isolats fongique obtenus à partir des plantes semés.

Tableaux 5 : les isolats trouver dans chacune graine et plante (traité).

Liste des abréviations

-% : Pourcentage.

-°C : Degrè Celsius.

-al. : Collaborateurs.

-cm : Centimètre.

-g : Gramme.

-n° : Numéro.

-PDA : Potato Dextrose Agar.

-Ph : Potentiel d'hydrogène.

-sp : Espèce.

-FAO : l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

Listes des figures

Figure 1 : Evolution de production de blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013 Source : direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

Figure 2 : Evolution de la superficie emblavée réservée au blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013. Source : direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

Figure 3 : Evolution de rendement de blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013. Source : Direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

Figure 4 : Maladie de la rouille brune.

Figure 5 : Maladie de La rouille jaune.

Figure 6 : Maladie de La rouille noire.

Figure 7 : Maladie de la septoriose.

Figure 8 : Maladie de l'oïdium.

Figure 9 : Maladie de piétin échaudage.

Figure 10 : Maladie de la fusariose.

Figure 11 : Les deux variétés de blé stocké utilisés : CIRTA et GTA.

Figure 12 : Ensemencement des graines de blé sur milieu PDA : (A) blé traité, (B) blé non traité.

Figure 13 : Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongiques isolées à partir des grains de blé par la méthode indirecte.

Figure 14 : La culture de blé testé dans les bouteilles.

Figure 15 : Pourcentage des souches fongiques dans les différents échantillons de blé.

Figure 16 : Fréquences des différents genres fongiques dans les deux variétés de blé étudiées.

Introduction

En Algérie, les céréales et en particulier le blé, sont les cultures prédominantes et nécessitent une amélioration continue, pour satisfaire aux besoins agroalimentaire. L'obtention des cultivars à rendement élevé, avec une résistance aux diverses maladies et insectes et une bonne qualité technologique est une exigence en recherche fondamentale (Attab et Brinis ,2012).

Aujourd'hui, le Blé est l'un des céréales les plus cultivées et les plus consommées dans le monde, il présente avec le Riz et le Maïs 85,4% de la production céréalière mondiale.

Les deux espèces du blé qu'on va étudier sont :

- Le blé dur variété (CIRTA).
- Le blé dur variété (GTA dur).

En 2017, selon la FAO, la production mondiale du blé s'établira à 744,5 millions de tonnes, Ce volume présente un recul de 1,8 % par rapport à l'année précédente (2016) mais reste supérieur à la moyenne des cinq dernières années (Espoir Olodo, 2017).

Actuellement, l'Algérie est un grand importateur de blé et se trouve dépendante du marché international. Cette situation risque de se prolonger à plusieurs années, faute de rendements insuffisants et des besoins de consommation sans cesse croissants devant une forte évolution démographique (Chellali, 2007).

Au cours du cycle de production du blé, de nombreuses maladies peuvent survenir (Surtout les cryptogamiques qui présentent 90% des maladies affectant les végétaux) Ces maladies, peuvent causer des pertes importantes dans le rendement allant jusqu'à 50%, lorsque les variétés utilisées sont sensibles et les conditions environnementaux sont favorables (Tizioualou, 2009).

Selon l'OAIC (Office Algérien Interprofessionnel des Céréales) de la région EST d'Algérie, des observations sur le terrain ont confirmées que pas moins de 10 000 Hectares des cultures céréalières à Mila et Constantine, sont susceptibles d'être affectées par des

maladies cryptogamiques (Mechti, 2014). La prolifération de moisissures provoque non seulement des modifications physiques (aspect, goût, odeur...) et aussi chimiques (qualités nutritives), mais peut donner lieu aussi à la formation des mycotoxines. Ces derniers, entraînent à l'échelle mondiale des pertes estimées de 5 à 10 % des céréales et leurs dérivés (Bouafia et Touati, 2013).

Dans l'objectif de répondre au certain problème phytosanitaire, lies aux cultures du blé dans la région de Constantine, nous avons orienté notre travail à l'étude des différents contaminants d'origine fongique manifestants sur champs et lors de stockage.

La première partie de notre travail portera donc sur une synthèse bibliographique rassemblant les différentes connaissances relatives à notre blé, aux différents pathogènes fongiques.

La seconde partie portera sur les travaux expérimentaux, réalisés au sein du Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'activité microbienne (Université des frères Mentouri Constantine). Cette partie concerne principalement les points suivants :

- Isolement de l'ensemble des souches du groupe des mycètes à partir des graines de blé traité et non traité et leur plante.
- Identification des différents isolats obtenus et leurs classifications selon les variétés.
- Etude comparative entre les contaminants fongique des deux variétés du blé à étudier et avec leur plante.

Enfin une troisième partie, visera le traitement des résultats et leur discussion.

Revue bibliographique

1- Généralité sur le blé

1-1- Origine du blé

Le terme de blé vient probablement du gaulois *Blato* (à l'origine du vieux français *blaie, blee, blaier, blaver*, d'où le verbe *emblaver*, qui signifie *ensemencer en blé*) et désigne les grains qui on se broyant, fournissent de la farine pour la préparation des crêpes ou du pain (Mahfoud et Lasbahani, 2015).

La saga du blé accompagne celle de l'homme et de l'agriculture, sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie.

1-2- Caractéristiques de la plante

1-2-1- Caractéristiques morphologiques et physiologiques

➤ Le système racinaire

Toute céréale dispose, au cours de son développement, de deux systèmes radiculaires successifs :

- ✓ **Le système racinaire primaire**, fonctionnel de la germination au début tallage, ce système est constitué d'une racine principale ne restant pas longtemps fonctionnelle et est remplacé par un système de racines adventices (prenant naissance sur la tige) qui assureront la nutrition et le développement de la plante.
- ✓ **Le système racinaire secondaire ou tallage** (ou système coronaire) apparaît au moment où la plante émet des talles ; il est de type fasciculé et assez développé (Belaid,1996).

➤ **Système aérien**

Le système aérien Il est composé de plusieurs organes :

- ✓ **La tige et les feuilles.** La tige creuse ou chaume, dont les entre-nœuds ne se sont allongés qu'à la montaison, porte des feuilles engainantes à nervures parallèles (Belaid, 1996; Soltner, 2005).
- ✓ **L'inflorescence.** Le rachis, ou axe de l'épi, porte 15 à 25 épillets constitués chacune de 3 à 4 fleurs. La disposition de celle-ci fait ressortir une caractéristique d'une grande importance : le blé est une plante autogame ou à autofécondation, c'est-à-dire que la fécondation a lieu à l'intérieur des glumelles, avant que les étamines n'apparaissent à l'extérieur. De ce fait, la conservation de la pureté variétale sera parfaite d'une génération à l'autre (Soltner, 2005).
- ✓ **Le grain.** Le grain est un caryopse ou fruit sec indéhiscent dont les parois sont soudées à celles de la graine (Belaid, 1996 ; Soltner, 2005).

1-2-2- Le cycle de développement

Le cycle de développement du blé est constitué d'une série d'étapes séparées par des stades repérés, permettant de diviser en deux périodes la vie des céréales. Une période végétative durant laquelle, la plante ne se différencie que des feuilles et des racines ; une période reproductrice dominée par l'apparition de l'épi et la formation du grain (Soltner,2005).

➤ **La période végétative**

Elle se caractérise par un développement strictement herbacé et s'étend du semis jusqu'à la fin de tallage.

a-La germination-levée : La germination de la graine se caractérise par l'émergence de la coléorhize donnant naissance à des racines séminales et la date de la levée est définie par l'apparition de la première feuille qui traverse le coléoptile, gaine rigide et protectrice enveloppant la première feuille. La levée se fait réellement dès la sortie des feuilles à la surface du sol (Soltner, 2005).

Au sein d'un peuplement, la levée est atteinte lorsque la majorité des lignes de semis est visible (Gate, 1995). Les principaux facteurs édaphiques qui interviennent dans la réalisation de cette phase sont, la chaleur, l'aération et l'humidité (Eliard, 1974).

b- Le tallage : lorsque la plante possède 3 à 4 feuilles, une nouvelle tige, la talle primaire, apparaît à l'aisselle de la feuille la plus âgée. Après l'émission de la première talle, la plante va émettre des talles primaires, qui prennent naissance à l'aisselle du maître brin (tige principale), puis, lorsque le maître-brin a 6 feuilles au moins, des talles secondaires dont les bourgeons seront alors situés à l'aisselle des feuilles des talles primaires. Le tallage herbacé s'arrête dès l'évolution de l'apex de la formation d'ébauches de feuilles à celle d'ébauches florales (futurs épillets) qui sont suffisamment avancés (Gate et Giban, 2003).

➤ **La période reproductrice**

Elle comprend la formation et la croissance de l'épi.

a-Phase montaison : au cours de cette phase, un nombre de talles herbacées vont évoluer vers des tiges couronnées d'épis, tandis que d'autres commencent à régresser. La croissance en taille et en matière sèche est alors active. Cette phase se termine au moment de la différenciation des stigmates. La durée de cette phase est de 29 à 30 jours (Clément-Grandcourt, Prat, 1971).

b-Phase d'épiaison et de fécondation : Elle est marquée par la méiose pollinique, l'éclatement de la graine avec l'émergence de l'épi. C'est au cours de cette phase que s'achève la formation des organes floraux et s'effectue la fécondation (Soltner, 2005). La vitesse de croissance de la plante est maximale. Cette phase correspond à l'élaboration d'une grande quantité de la matière sèche, cette phase dépend étroitement de la nutrition minérale et de la transpiration qui influence le nombre final de grains par épi (Masle, 1980 ; Soltner, 2005)

c-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. Ensuite, 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).

1-3- Exigences du blé

1-3-1- La température

Une température supérieure à 0°C est exigée pour la germination des céréales. Un abaissement de la température pendant l'hiver est nécessaire aux variétés non alternatives dites « d'hiver » et par la suite, la température conditionne la nitrification et l'activité végétative du blé au cours du tallage et de la montaison. Enfin, l'intensité de l'évapotranspiration peut amener l'échaudage (Soltner, 2005).

1-3-2- L'eau

Jusqu'à la fin du tallage, les besoins en eau sont relativement faibles. De plus, l'humidité excessive du sol est néfaste à l'installation du système racinaire en profondeur. Par contre, au cours de la phase de montaison et jusqu'à la floraison les besoins en eau de la culture sont considérables et peuvent s'évaluer à 180 mm (mars et mai). Après la floraison, le blé devient très résistant à la sécheresse.

1-3-3- L'éclairement

Une certaine durée du jour (photopériodisme) est nécessaire pour la réalisation du stade B 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 (Soltner, 2005).

1-4- Culture de blé dans la région de Constantine

La production de blé dur enregistrée dans la wilaya de Constantine (Figure 1), a connu une augmentation «sensible» par rapport aux dernières années, selon les statistiques mené par l'OAIC.

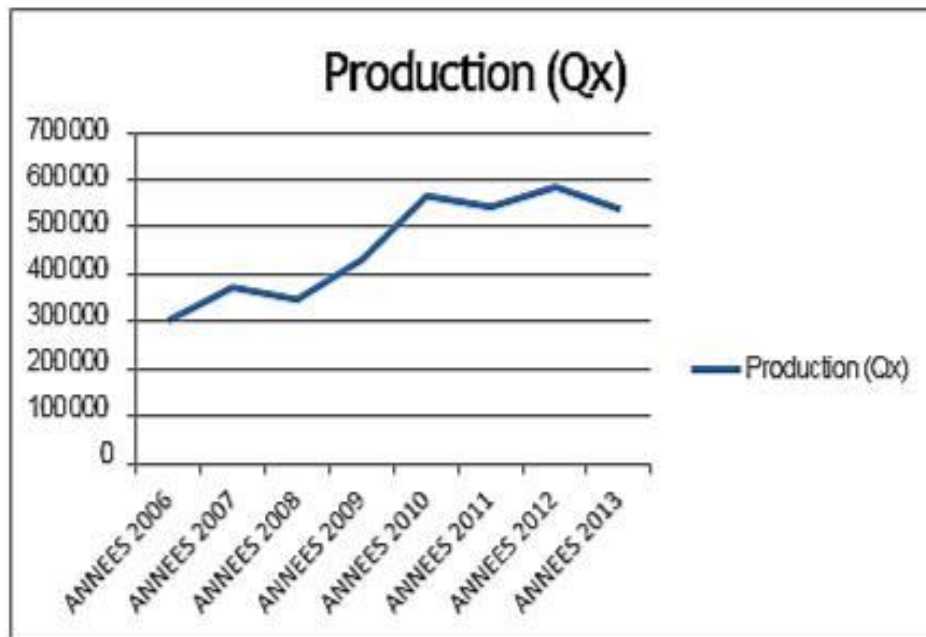


Figure 1 : Evolution de production de blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013
 Source : direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

Malgré l'instabilité dans les superficies (Figure 2) emblavées en faveur d'une évolution les rendements (figure 3) affichés montèrent une progression.

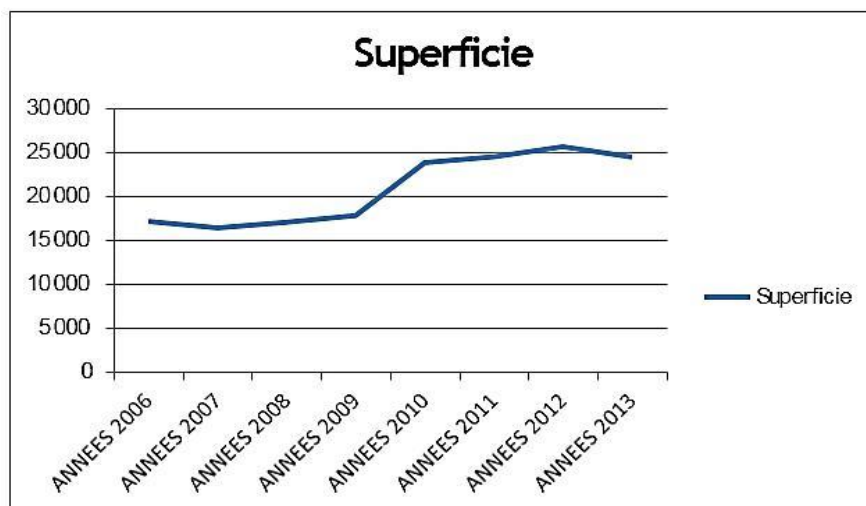


Figure 2 : Evolution de la superficie emblavée réservée au blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013. Source : direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

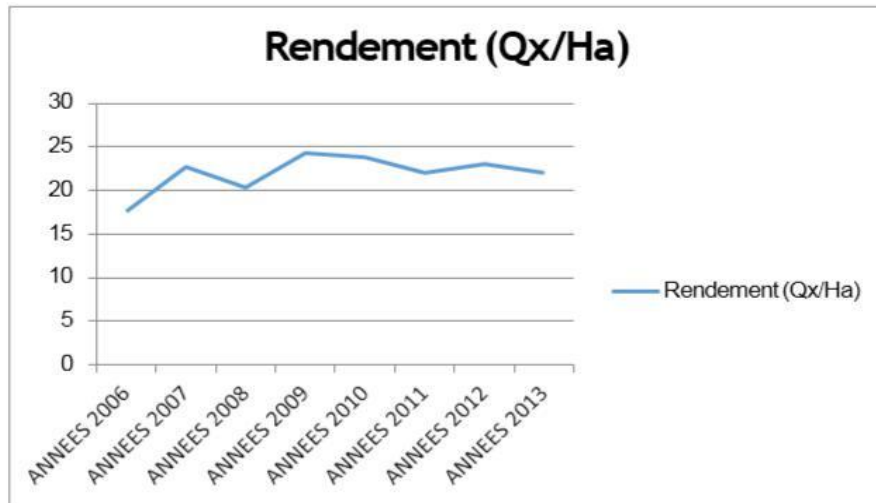


Figure 3 : Evolution de rendement de blé dur au niveau de la région sud Constantine 2006-2013. Source : Direction des Services Agricoles de Constantine (DSA Constantine).

2- Les maladies fongiques du blé dur

2-1- Maladies du feuillage

2-1-1- Les rouilles

➤ La rouille brune

Les symptômes causés par *Puccinia recondita f.sp. tritici* se caractérisent par petites pustules circulaires ou ovales de couleur orange ou brune (urédospores), apparaissent sur la face supérieure des feuilles (Lamari *et al.*, 1991 ; Sayoud *et al.*, 1999 ; Ezzahiri, 2001) et parfois sur la face inférieure des feuilles (figure 4). En fin de saison, ces pustules prennent une couleur noire (téleutospores) (Aouali et Douici-Khalifi, 2009 ; Ezzahiri, 2001).

les dégâts causés par cette maladie varient selon le niveau de résistance des variétés, de 5 à 40 %. Les variétés sahariennes au Maroc sont sévèrement affectées par des pertes qui peuvent aller jusqu'à 100 % et, selon (Belaid, 1996), la rouille brune est celle qui provoque le moins de dégâts en Algérie.

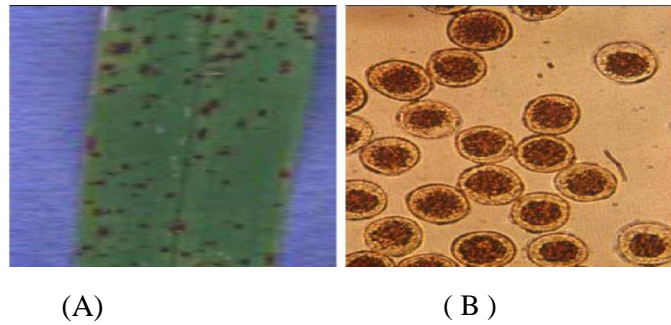


Figure 04 : Maladie de la rouille brune

(a) Observation visuelle (b) Observation morphologique

➤ **La rouille jaune**

Les symptômes de *Puccinia striiformis* se traduisent par des pustules de forme globuleuse et de couleur jaune ou orange, disposées en stries le long des nervures des feuilles d'où le nom de l'espèce. Elles peuvent aussi se développer sur la face inférieure des feuilles sur les épis et les grains (Aouali et Douici-Khalfi, 2009 ; Ezzahiri, 2001 ; Jlibene, 2011). Elles peuvent engendrer des pertes de rendement pouvant atteindre 75 %. Selon Belaid, 1996, l'aire de dispersion de la rouille jaune correspond aux zones littorales humides et tempérées.

Cette maladie bien connue depuis 2004 par nos agriculteurs, elle est présente chaque année à des degrés variés. Elle est prévalant dans les régions froides comme les hauts plateaux (Anonyme, 2007).

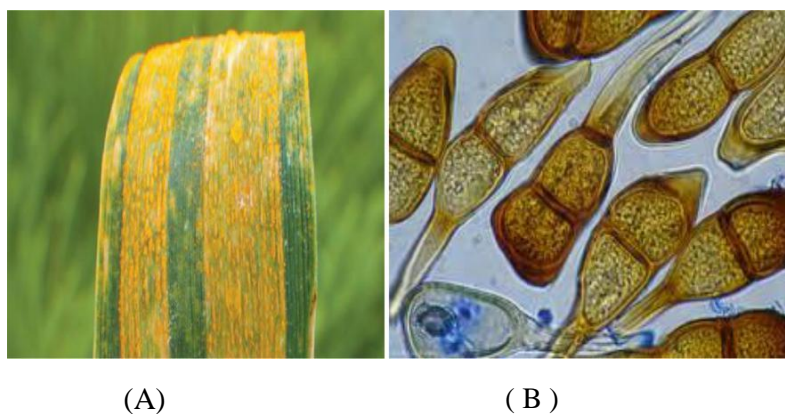


Figure 05 : Maladie de La rouille jaune

(a) Observation visuelle (b) Observation morphologique

➤ **La rouille noire**

Les symptômes de *Puccinia graminis f.sp. tritici* se manifestent par des pustules plus longues que celles de la rouille brune, elles sont de couleur rouge brique à marron foncé. Elles se développent sur les feuilles, les tiges et les épis (Aouali et Douici-Khalfi, 2009 ; Ezzahiri, 2001). Selon (Belaid, 1996), la rouille noire est favorisée par l'eau et la chaleur.

Les cycles des rouilles sont complexes et impliquent souvent un hôte principal et un hôte alternatif, seule la rouille jaune ne connaît pas d'hôtes alternatifs. Le développement des épidémies des rouilles est tributaire de la nature et de la qualité de l'inoculum primaire, de la sensibilité de la variété cultivée, du stade de développement du blé au moment de l'infection primaire et des conditions climatiques (Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Ces mêmes auteurs signalent que la rouille jaune est plus conditionnée par le milieu que les autres espèces de rouille et nécessitent des températures plus basses. En absence d'hôtes alternatifs, l'agent pathogène doit se conserver sous forme de cycles végétatifs (urédospores). Les premières attaques de cette maladie se présentent souvent sous forme de foyers localisés.

Les urédospores sont très sensibles aux rayons UV, ce qui réduit leur viabilité en temps clair. En temps couvert, la dissémination est très efficace. Les infections se font dans des journées caractérisées par une température moyenne supérieure à 4°C et des températures nocturnes entre 10 et 15°C avec une humidité relativement supérieure à 18 % pendant au moins 18 heures.



(A)

(B)

Figure 06 : Maladie de La rouille noire

(a) Observation visuelle

(b) Observation morphologique

2-1-2- Les septorioses

Deux espèces de septoriose s'attaquent au blé, à savoir la tache septorienne et la septoriose des feuilles et des épis (Belaid, 1996 ; Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009 ; Jlibene, 2011). Le pathogène *Septoria tritici*, responsable de la septoriose des feuilles, connue sous le nom de la tache septorienne, et *Septoria nodorum* responsable de septoriose des feuilles et des épis. Les attaques sont surtout observées dans les zones humides. C'est surtout la septoriose des feuilles qui est la plus abondante sur les blés (Ezzahiri, 2001 ; Zahri *et al.*, 2014 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009 ; Jlibene, 2011). Les pertes de rendement peuvent aller jusqu'à 40 % (Ezzahiri, 2001).

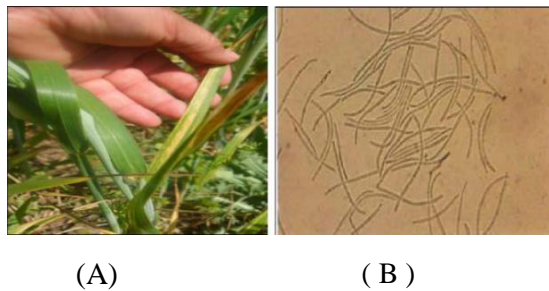


Figure 07 : Maladie de la septoriose

(a) Observation visuelle

(b) Observation morphologique

➤ **La tache septorienne**

Les symptômes de *Septoria tritici* commencent par de petites taches de couleur brune rougeâtre irrégulières sur les feuilles inférieures et en particulier sur celles en contact du sol. Les taches sont d'abord délimitées par les nervures pour ensuite s'étendre longitudinalement de 5 à 15 mm et prendre une couleur grise claire (Ezzahiri, 2001 ; Michel, 2002 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009). Après l'apparition des nécroses sur les feuillages, on observe des punctuations noires alignées parallèlement qu'on appelle pycnides (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Cette maladie est la deuxième maladie la plus réponde en Algérie après la tache auréolée. Elle est beaucoup plus importante dans les zones littorales. Elle a eu un impact important en 2006, aussi bien sur les blés durs que sur les blés tendres dans les wilayas de Skikda, Annaba, Constantine et Guelma (Anonyme, 2007).

➤ **Septoriose des feuilles et épis**

Les symptômes de *Septoria nodorum* se manifestent sur le feuillage et sur les glumes, la gaine des feuilles et les nœuds. Sur les feuilles, on peut observer des taches ovales ou lenticulaires brunes, elles peuvent être entourées d'une chlorose ou d'un jaunissement périphérique. Lorsqu'elles sont abondantes, elles se rejoignent et forment de grandes plages nécrotiques. Les pycnides sont de couleur brun clair moins apparente que celles provoquées par la septoriose des feuilles (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Plus tard, ces pycnides virent au gris foncé, et à ce moment-là, leur distinction de celles de *Septoria tritici* devient moins apparente et seul un examen microscopique les différencierait. Sur les glumes, la maladie se développe lorsque l'attaque est importante.

Les symptômes se manifestent par de petites taches grises qui vont disparaître et présentent des colorations brunes ou des symptômes d'échaudage (Ezzahiri, 2001). Les variétés mexicaines sont sensibles à cette maladie (Belaid, 1996).

Pour la tache septorienne, les chaumes du précédent cultural constituent la source principale de l'inoculum. Les pycnides du champignon peuvent survivre sur les chaumes du blé jusqu'à 6 mois et induire les premières infections sur les jeunes plantules de blé précisément sur les premières feuilles en contact du sol. En présence d'eau libre, les pycnides gonflent et produisent une gelée sporifère 'cirrhe' incolore qui protège les pycnidiospores en conditions défavorables. Après germination le champignon colonise le tissu foliaire. L'humidité est indispensable pour tous les stades de l'infection (Ezzahiri, 2001).

2-1-3- L'helminthosporioses

La tache helminthosporienne est une grave maladie foliaire du blé causée par le champignon *Pyrenophora tritici-repentis* (Died Drechs, Lamariet *al.*, 1991, Sayoud *et al.*, 1999 ; Lamari *et al.*, 2005). Communément désignée par l'appellation anglo-saxonne 'Tan Spot', la maladie de la tache bronzée ou maladie de la tache jaune (Sayoud *et al.*, 1999). Huit races de *P. tritici-repentis* ont été identifiées à ce jour, en se basant sur leur capacité à provoquer la nécrose ou la chlorose dans un groupe d'hôtes différentiels chez le blé (Benslimane *et al.*, 2011 ; Aboukhaddour *et al.*, 2013).

Cette maladie s'attaque principalement au blé. Elle est répandue partout au Maroc avec des attaques importantes au Nord du pays (Saoud, 1994). En Algérie et en Tunisie, cette maladie est surtout répandue dans les zones du Nord. Dans des inspections réalisées durant quatre

années consécutives en zones favorable et défavorable au Maroc, ont constaté que la tache helminthosporienne est la première maladie foliaire du blé dur.

L'agent pathogène se conserve sous forme de spores et de mycélium sur les résidus du blé infecté à la surface du sol. Sur les chaumes, les périthèces structures de reproduction sexuée et le mycélium constituent la principale source d'inoculum primaire. En présence d'humidité, les périthèces libèrent les ascospores et le mycélium produit des conidies.

Les deux types de spores sont disséminés pour initier l'infection primaire sur les plantules de blé en début de saison. Au cours de la saison, l'infection secondaire est assurée par les conidies qui sont facilement disséminées par le vent. La germination des conidies et l'infection des tissus sont favorisées par une durée d'humectation du feuillage de 24 à 48h. Les températures optimales pour l'infection se situent entre 18 et 28 °C. La sporulation au niveau des taches foliaires est favorisée par des conditions humides (Ezzahiri, 2001 ; Aoualiet Douici-Khalfi, 2009).

2-1-4- L'oïdium

Toutes les céréales peuvent être attaquées par l'oïdium. Plusieurs formes de la maladie sont cependant spécifiques à des cultures précises, et ne provoquent pas d'infections croisées (Anonyme a, 2014).

Les premiers symptômes d'*Erysiphe graminis f.sp.tritici* apparaissent sous forme d'un duvet blanchâtre ou gris pâle sur les limbes des feuilles basales, puis se développent sur les feuilles des étages supérieurs (Ezzahiri, 2001 ; Anonyme, 2008 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009). En cas d'attaque sévère les taches apparaissent aussi sur les gaines des feuilles et les glumes des épis (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Cette maladie du blé hiverne essentiellement sous forme de mycélium sur les repousses de céréales et les cultures à semis automnal. Les cléistothèces produits en fin d'été résistent aux faibles températures et à la sécheresse (Anonyme a, 2014).

En présence d'une forte hygrométrie, les cléistothèces libèrent les ascospores produites par voie sexuée, qui peuvent alors provoquer des infections automnales. On estime par ailleurs que les cléistothèces ont une importance secondaire pour le mycélium (Anonyme a, 2014).

Au printemps, avec les montées de température, le mycélium en dormance commence à se développer, et des spores sont rapidement produites. Leur germination se produit dans une

large fourchette de températures (5 °C à 30 °C), même si 15 °C, elle reste la température optimale, avec un taux d'humidité relativement supérieur à 95 %.

L'eau libre inhibe la germination des spores. Dans des conditions de sécheresse, des spores fraîches peuvent se former au bout de sept jours (Anonyme a, 2014).

À la fin de la saison, les repousses de céréales et les cultures à semis automnal précoce peuvent à leur tour être contaminées, constituant ainsi l'inoculum pour la culture suivante (Anonyme a, 2014).

Les parcelles de blé d'hiver à semis tardif sont souvent particulièrement sensibles aux attaques de l'oïdium, notamment lorsque les cultures de développement rapidement au printemps (Anonyme a, 2014).



(A)

(B)

Figure 08 : Maladie de l'oïdium

(a) Observation visuelle

(b) Observation morphologique

2-2- Maladies del'épi

2-2-1- Le charbon nu

Cette maladie se développe aussi bien sur le blé tendre que sur le blé dur. Des attaques sporadiques du blé par ce champignon sont observées de temps en temps.

Les symptômes causés par *Ustilago tritici* sont visibles entre la floraison et la maturité. Au début, les épis infectés sont noircis, et apparaissent un peu plus vite que les épis sains. Les enveloppes de la graine, ainsi que leur contenu sont détruites et remplacées par une masse noirâtre, constituée de spores du champignon (Belaid, 1996 ; Ezzahiri, 2001 ; Anonyme, 2008 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

L'origine de l'infection du blé par le charbon se trouve dans la semence. En effet, le champignon responsable du charbon ne se conserve dans l'embryon du grain sous forme de mycélium dormant. Certains agriculteurs exposent les graines au soleil afin de détruire le mycélium (Belaid, 1996). Au moment de la germination de la semence, le mycélium est activé. L'agent pathogène infecte la jeune plantule du blé et poursuit son développement au niveau de l'apex. Au moment de l'épiaison, tout le tissu de l'épi, sauf le rachis, est transformé en une masse sporifère. Les spores produites sont libérées et infectent les fleurs des plantes voisines.

Le mycélium issu des spores va infecter le jeune embryon du grain. Celui-ci ne montre aucun symptôme et évolue normalement. Pour détecter l'infection au niveau de son embryon, il faut recourir aux techniques histologiques et microscopiques appropriées. Les conditions favorables à l'infection correspondent à un temps doux (entre 16 et 22 °C) Ezzahiri,(2001).

2-2-2- Les caries

Tillet, en 1875, a été le premier à démontrer que les spores de caries, remplaçant la masse amylacée du grain, étaient responsables de la maladie. En plus des pertes de rendement, les caries diminuent la qualité de la farine et celle des semences (Besri, 1989).

La carie commune du blé est causée par le champignon *Tilletia caries*, ou dans une moindre mesure par *Tilletia foetida* (Aouali et Douici-Khalfi, 2009). La contamination se produit lors de la germination du blé, cependant les symptômes ne sont visibles que plus tardivement, au stade de remplissage des grains. Un épi contaminé s'identifie à l'ouverture des grains par la présence de spores noires très volatiles à odeurs de poisson pourri. Cette poudre altère l'aspect et la saveur de la farine qui devient immangeable. Le vent peut transporter les spores sur plusieurs centaines de mètres (Belaid, 1996).

Des semences peuvent avoir une contamination sur la récolte suivante de plus de 60 %. La maladie peut être identifiée par une observation attentive dès le remplissage des grains par la couleur verte olive des glumes et glumelles et l'aspect «ébouriffé» des épis, mais ces caractéristiques ne sont pas systématiques. À la récolte, les grains cariés émettent souvent une odeur rédhibitoire de poisson pourri, même à un taux très faible (Philippe duCheyron *et al.*, 2009).

L'agent responsable de la carie se conserve sous forme de téléospores sur la semence et dans le sol. L'infection des jeunes plantes du blé se fait à des températures de 5 à 15 °C. Le

mycélium du champignon colonise le tissu méristématique et progresse vers l'épi, au fur et à mesure que la plante se développe (Ezzahiri, 2001).

2-3- Les maladies racinaires

La pourriture racinaire ou la pourriture de pied ou encore la pourriture commune, sont des appellations décrivant une même maladie due à différents agents fongiques du genre *Fusarium* (*Fusarium culmorum* ; *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*) et *cochliobolus* (*Cochliobolussativus*). L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques (El hadj Hammiche, 2013).

Les symptômes de cette maladie se traduisent par un manque à la levée, fonte des semis, lésion au niveau de la coléoptile, racines peu ou pas développées, déformation du germe, dessèchement brutal des jeunes plantes ; le symptôme le plus fréquemment observé est la coloration brun foncé des nœuds inférieurs sur les plantes âgées.

Une infection par la fusariose peut produire une vraie pourriture du pied, ou la base de la tige devient brune et pourrie, ce qui entraîne l'émergence d'épis blancs, ce symptôme est très observé dans les saisons très sèches (El hadj Hammiche, 2013).

2-3-1- Le piétin



Echaudage

Ce champignon *Gaeumannomycesgraminis* est surtout présent dans les sols cultivés en blé et orge, plus particulièrement sur les parcelles de monoculture. Cette maladie est favorisée par les conditions humides du sol (Ezzahiri, 2001 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

Le parasite peut attaquer les racines dès la germination. Après ce stade, la présence du champignon entraîne un arrêt de la montée de la sève brute et il s'ensuit une nécrose des racines, du pied et des tiges qui deviennent fragiles, ce qui les rend plus cassantes. Ces premiers symptômes sur les racines sont difficiles à identifier sur les plantes en début d'attaque.

Pendant la phase végétative, un début de décoloration des feuilles qui tend au jaune et la présence de plantes chétives sont les des premiers signes de la maladie. A partir de la floraison, les signes de contamination deviennent visibles sur les épis qui seront stériles et prennent une couleur blanchâtre bien avant la récolte. La présence de barbes sur les épis

d'orge peut rendre difficile l'identification du parasite, en le confondant à une maturité précoce. Dans ce dernier cas, il est recommandé d'examiner le système racinaire des plantes présentant les signes d'attaque de la maladie pour observer et confirmer s'il existe des nécroses (Zillinsky, 1983 ; Ezzahiri, 2001 ; Michel, 2002 ; Aouali et Douici-Khalfi, 2009).

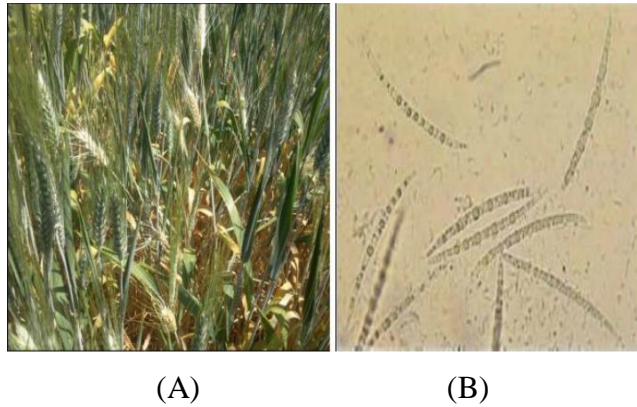


Figure 09 : Maladie de piétin échaudage
(a) Observation visuelle (b) Observation morphologique

➤ **Vers**

Les symptômes d'*Oculimacula yallundae* ou *O. aciformis* sont le brunissement de la gaine, à la base de la tige et l'apparition de taches allongées, brunes en périphérie, des taches noires, visibles sur la face interne de la gaine, ou sur la deuxième gaine (Zillinsky, 1983).

Des Verses peuvent être provoquées par les lésions en fin de végétation. Et des épis blancs sont disséminés au hasard dans la culture (Zillinsky, 1983).

2-3-2-La fusariose

La fusariose est une maladie fongique qu'on trouve sur toute une gamme d'hôte, dont le blé, l'orge, l'avoine, le maïs, le seigle et les herbages graminées (Richard, 2004 ; Wegulo *et al.*, 2008 ; Mathieu *et al.*, 2012). L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables telles que l'avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains et à l'altération de la qualité des grains (Prescott *et al.*, 1987 ; Pirgozliev *et al.*, 2003 ; Ballois., 2012) ; ce qui a des conséquences néfastes lors des processus de transformations industrielles des grains.

En plus des pertes de production, certaines espèces de *Fusarium* présentes sur les céréales peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines (Prescott *et al.*, 1987 ; Ballois, 2012).



(A)

(B)

Figure 10 : Maladie de la fusariose

(a) Observation visuelle

(b) Observation morphologique

➤ **Symptômes**

Les symptômes sont très visibles sur champ car ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les premiers symptômes apparaissent souvent au centre de l'épi d'où ils progressent ensuite vers le haut et vers le bas (Zillinsky, 1983 ; Wegulo *et al.*, 2008).

La maladie se développe et se propage parfois très rapidement et peut affecter la totalité de l'épi. Une coloration allant de rose à orange saumoné peut apparaître sur les épillets infectés, surtout lors de périodes d'humidité prolongées (Mascher *et al.*, 2005).

De petits organes de fructification noirs produits par le champignon peuvent apparaître tard dans la saison. Les grains mûrs peuvent être ratatinés, légers, blancs crayeux ou parfois roses, on parle alors de grains momifiés ou endommagés par le *Fusarium*. Les grains momifiés sont souvent plus lourdement contaminés par les mycotoxines (Richard, 2004 ; Wegulo *et al.*, 2008 ; Mathieu *et al.*, 2012).

➤ **Caractéristiques du pathogène**

Le *Fusarium graminearum* est un champignon cosmopolite, retrouvé en Asie, en Europe, en Afrique, en Amérique du Nord et du Sud et en Océanie (O'Donnell *et al.*, 2004).

La première et véridique description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. Il appartient à la division des *Ascomycètes* et à la famille des *Nectriacées* (Siou, 2013).

Le pathogène apparaît sous le microscope sous forme des macroconidies qui mesurent généralement entre 25 - 50µm × 2.5 - 5.0 µm et comportent trois à sept cloisons. Le corps de la spore est généralement droit ou faiblement arqué, la cellule apicale est courbe et pointue.

La cellule basale est allongée, effilée et légèrement courbée. Des périthèces superficiels naissent souvent sur les épis et les chaumes malades quand la récolte a lieu durant une longue période humide et chaude (Zillinsky, 1983 ; Wegulo *et al.*, 2008).

Matériel et méthodes

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) Chaab Erssas, Université des frères Mentouri 1, Constantine.

Le travail porte sur l'étude des pathogènes fongique affectant les grains de Blé dur stocké variété (CIRTA et GTA dur) le suivie de leurs transmission après semé. Pour atteindre cet objectif, notre travail a été effectué en deux étapes :

- Première étape : échantillonnage et étude physicochimique des grains de Blé dur.
- Deuxième étape : étude mycologique pour l'isolement et l'identification des moisissures pathogènes des grains stockés et ceux après semé des plantes.

1- Matériel

1-1- Matériel végétale

- **Le Blé non traité :** les échantillons du Blé qui ont servis à notre étude provient de deux variétés : la variété CIRTA et la variété GTAdur. Ces variétés nous ont été gracieusement offertes par (l'OAIC) El Khroub. Ces grains ont subi uniquement un traitement mécanique dans les silos parmi ces traitements : changement de silos et ventilation des graines.
- **Blé traité :** les gaires du Blé traités ont été aussi fournis par le même organisme (L'OAIC). Ces graines ont subi le même traitement mécanique que ceux non traités, mais aussi un traitement chimique avec un agent antifongique : le Tebuconazole(nom commercial(Acil)).



Figure 11 :Les deux variétés de blé stocké utilisés : CIRTA et GTA dur.

1-2- Milieux de culture (Annexe)

- **Le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) :** la gélose dextrose à la pomme de terre, est un milieu de culture microbiologique courant produit à base d'infusion de pomme de terre et de Dextrose. Le milieu PDA, est le milieu le plus largement utilisé pour cultiver les mycètes qui attaquent les plantes vivantes ou la matière organique végétale en décomposition. Ce milieu (Annexe) a été préparé à partir d'un mélange de pommes de terre lavés et découpés en petits morceaux et d'eau distillée. Le mélange est mis à ébullition au Bain-marie et la bouillie obtenue est filtrée. L'agar et le glucose, sont ajoutées et la quantité d'eau est complété jusqu'à 1000 ml. Enfin, le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant 20 min à une température d 120° C et une pression 1 Bar.
- **Le milieu Sabouraud (Sab) :** la gélose Sabouraud permet la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures, Ce milieu est également nommé Sabouraud Dextrose Agar. La préparation de ce milieu, consiste à dissoudre les différents ingrédients (Annexe) dans 1000ml d'eau distillé.

1-3- Solution nutritif (Solution de Knop) (Annexe)

Le liquide de Knop est utilisé en biologie dans le cadre d'expériences sur la croissance accélérée des végétaux et plus particulièrement la culture des plantes à chlorophylle.

À la base, il est composé d'oxygène, d'hydrogène, d'azote, de soufre, de phosphore, de potassium, de magnésium, de calcium, de fer, de zinc, de manganèse et de bore.

1-4- Etude physicochimique

- **Détermination du pourcentage des grains brisés :** les atteintes mécaniques du grain durant le stockage sont favorables aux développements des champignons et à l'attaque des insectes.

Les grains endommagés deviennent un terrain favorable à l'infestation et à la pénétration de l'inoculum d'*Aspergillus* et de *Penicillium* à l'intérieur de la graine, d'où l'importance de l'élimination des grains brisés.

Il s'agit donc de comptabiliser les grains cassés par rapport à une prise d'essai de 100 graines représentatives de chaque lot de blé à analyser.

- **Détermination de l'humidité :** c'est une méthode d'étuvage qui consiste à effectuer un séchage d'une prise d'essai de chaque échantillon à une température de 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant et par la suite on calcule l'humidité de l'échantillon.

$$H\% = ((P_0 - P_t) - (P_1 - P_t)) / (P_0 - P_t) \times 100.$$

- **H%** : humidité en (%).
- **Pt** : poids de la tare.
- **P0** : poids de la tare avec échantillon.
- **P1** : poids constant après séchage multiple.

Mesure du pH : pour l'estimation de l'acidité ou l'alcalinité des échantillons, une solution est préparée à base de 45 ml d'eau distillée additionnée à 5 g d'échantillon. Après une heure de repos avec une agitation continue, la mesure du pH est réalisée à l'aide du pH-mètre.(Multon, 1982).

1-5- Isolement des champignons phytopathogène

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

1-5-1- Méthode directe

Les grains de chaque échantillon de blé ont été désinfectés en surface dans 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(figure12), à raison de cinq grains par boîte. L'ensemble est incubé à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 4 à 6 jours (Pacin *et al.*, 2002; Ghiasian *et al.*, 2004).

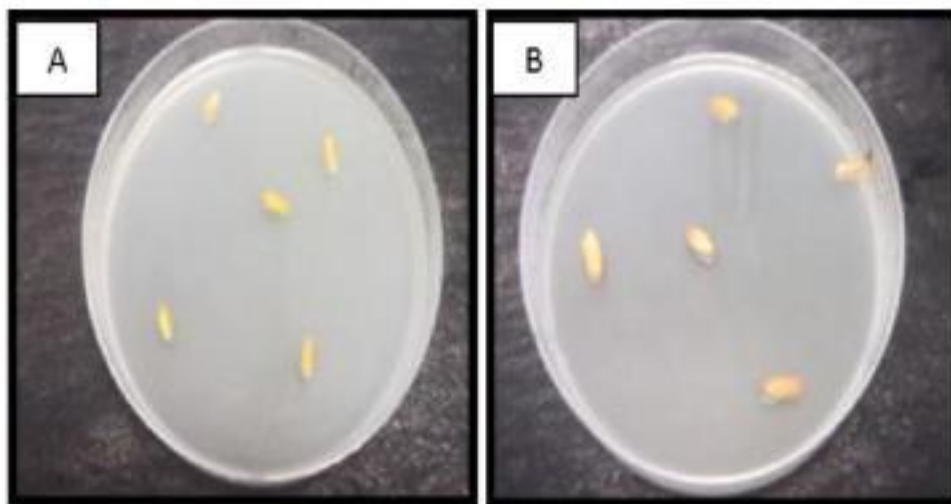


Figure 12 :Ensemencement des graines de blé sur milieu PDA : (A) blé traité, (B) Non traité.

1-5-2- Méthode indirecte

La méthode de dilution (ou méthode indirecte) consiste à dénombrer les microorganismes des grains de blé. De chaque échantillon, 5g de grains broyés ont été additionnés à 45ml d'eau physiologique, ce qui correspond à la solution mère. A partir de la dilution mère, des dilutions décimales ont été réalisées pour chaque échantillon de blé. Deux boîtes pour chaque dilution ont été ensemencées avec 0.1 ml d'inoculum étalé en surface. L'incubation a été faite à $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 5 à 7 jours. Un milieu couramment utilisé est le PDA(figure13). Le développement bactérien a été inhibé par l'adjonction d'antibiotiques (Amoxicilline) (Gacem, 2011).

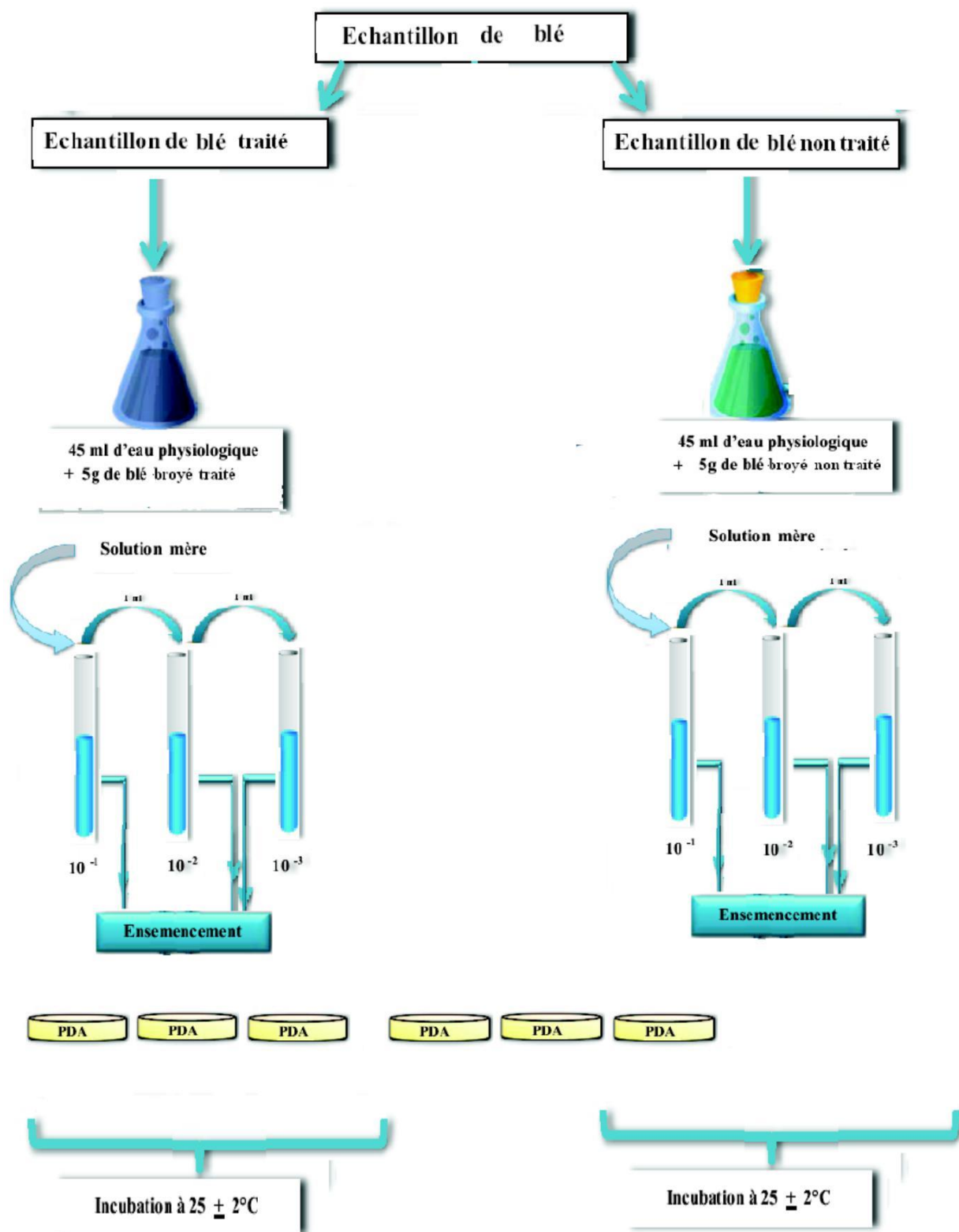


Figure 13 : Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongiques isolées à partir des grains de blé par la méthode indirecte.

1-6- Identification

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

- **Identification macroscopique** : l'examen macroscopique permet de déterminer les quatre caractères cultureaux suivants : la vitesse de croissance, la texture et la couleur du thalle, la couleur du revers de la culture et l'odeur (Harrigan et McCance, 1976 ; Rinaldi *et al.*, 1998 ; Botton *et al.*, 1999).

- **Identification microscopique** : toutes les moisissures protéolytiques isolées sont soumises à une identification morphologique réalisée par une étude microscopique. Cette dernière est effectuée par un prélèvement soigneux d'un petit fragment de la flore microbienne (quelques spores et un fragment mycélien à la marge du thalle) à l'aide d'une anse en platine stérile. Ce fragment est ensuite transféré sur une lame, en lui ajoutant comme diluant du lactophénol, bleu de coton, l'observation microscopique est réalisée au grossissement X 25 et X 40 et X 100.

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation,...) et des spores (forme, couleur, texture des parois,...) (Harrigan et McCance, 1976 ; Oteng-Gyang, 1984 ; Guiraud, 1998).

1-7- Culture des graines de blé

- **Traitement du sol (terreau)** : le terreau, est un support, majoritairement composé de débris végétaux, destinés à la culture des plantes en pot. Le terreau a 4 rôles fondamentaux :
 - ✓ Ancrage des racines.
 - ✓ Oxygénation des racines.
 - ✓ Alimentation hydrique par sa capacité de rétention de l'eau et de diffusion jusqu'aux racines.
 - ✓ Alimentation minérale : généralement les terreaux biologiques sont la seule source d'alimentation des plants.

Le sol utilisé pour les essais a été prélevé et autoclavé à 121°C pendant 1 h puis refroidis avant son utilisation.

- **Stérilisation des graines** : 20 grains de blé dur sont désinfectés en surface. Le traitement de ces grains (désinfection superficielle) se fait par l'eau d'javel pendant 2min. Après au moins 3 rinçages à l'eau distillée stérile, les grains sont séchés avec du papier filtre stérile pour être, ensuite, ensemencés (Pacin *et al.*, 2002 ; Ghiasian *et al.*, 2004).
- **Semis des graines** : pour le semis des graines, quatre bouteilles d'eau minérale de 1.5L ont été utilisées. Les bouteilles ont été coupées en deux et remplies par le sol stérile, ensuite, cinq graines du blé ont été semis dans chaque bouteille. Enfin, les hauts des bouteilles ont été fixés à la partie bas avec du scotch, et les cultures ont été maintenus à une température ambiante.



Figure 14 : La culture de blé testé dans les bouteilles.

- **Arrosage et suivie de la culture** : les bouteilles sont bien aérées et conservées à l'abri du soleil et l'arrosage des plantes a été effectué une fois pendant deux jours par la solution de (KNOP).

1-8- Ré isolement des souches pathogènes

15 jours environ après le semis des plantes, un ré isolement des souches a été effectué. En effet, les plantes ont été fragmentés en parties morceaux (racine, tige et feuille) d'environ 1 cm de longueur. Cette opération est suivie par une désinfection des fragments par l'eau de javel pendant 2 min, puis rincés trois fois à l'eau distillée stériles (1 minute à chaque fois). Les fragments séchés sur papier absorbant, sont par la suite mis dans des boites de Pétri contenant du milieu PDA.

Par ailleurs le taux de présence de chaque genre fongique isolé (graine ou plantes) est calculé selon la formule suivante (Almi, 2015)

$$G = (N_x / N_0) \times 100$$

Où :

G : Taux de présence (%) ;

N_x : Nombre des colonies isolées du même genre ;

N₀ : Nombre total des colonies isolées.

Résultats

L'approche de recherche des agents pathogène dans des échantillons de blé dur variété CIRTA et GTAdur en se basant sur des méthodes mycologique, a révélée plusieurs résultats intéressants.

1- Analyse physico chimique

1-1- Pourcentage des graines braisé

Sur les 100 grains prélevés, une constatation de l'état physique a été effectuée. Le blé Dur local variété CIRTA présente un taux de grains cassés légèrement supérieur (7%) au blé dur variété GTAdur (5%).

1-2-détermination de l'humidité

Les deux variétés de blé dur révèlent des taux d'humidités plus ou moins importantes. Elles sont respectivement de l'ordre de 11,44% et 11.73% pour celui du CIRTA et GTAdur.

1-3-Le PH

Les valeurs moyennes du pH des différents échantillons du blé dur, sont légèrement acides avec des valeurs moyennes de 6.53 pour le blé dur non traité et légèrement basique pour le blé traité avec un pH de 7,45.

2- Identification des souches fongiques à partir du blé

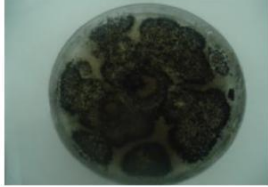
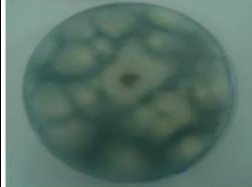









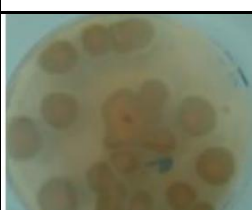
2-1 Identification macroscopique







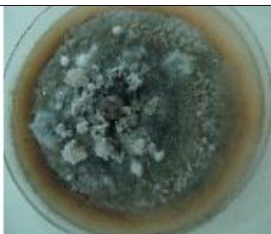
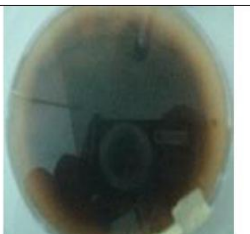



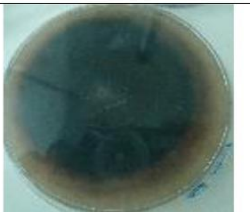
La description des caractères morphologiques de tous les genres fongiques isolés a été effectuée sur le milieu de culture PDA.



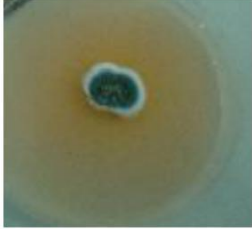




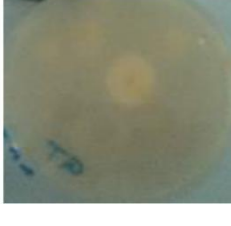


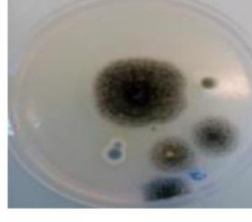

L'étude macroscopique a été réalisée par l'observation, à l'œil nu, des caractères cultureux (aspect de la colonie, couleur, revers, et la vitesse de la croissance).










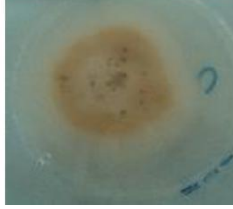
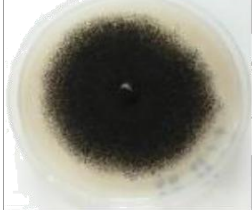


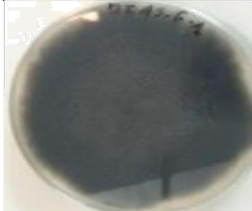
Les résultats d'identification des 30 isolats fongiques de deux variétés de blé dur (CIRTA et GTAdur) sont exposés dans le tableau suivant :

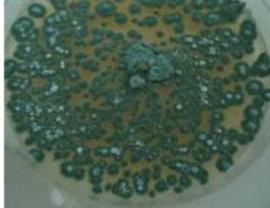









Tableau 1 : Caractère macroscopique des souches isolées à partir de blé à étudier.

Variété	Traitement	Observation macroscopique		Aspect macroscopique
		Surface	Revers	
GTAdur	Non traité			colonies à croissance rapide noirâtres granuleuses Revers incolore à jaune.
				Colonies à croissance rapide Avec surface blanc Revers incolore
				Surface poudreuse, blanche à bleu vert Revers incolore à jaunâtre
				Surface poudreuse, blanche à bleu vert Revers incolore à jaunâtre
				La couleur de la colonie est blanc-gris au départ, devient rapidement foncée (marron foncé à noir) au surface comme au revers. La texture est duveteuse à laineuse.
				Surface poudreuse, blanche à bleu vert Revers incolore à jaunâtre

				<p>Surface avec une croissance rapide conduite à des colonies blanche duveteuses, floconneuses et poudreuses</p> <p>Revers brune claire</p>
				<p>Surface poudreuse, blanche à bleu vert</p> <p>Revers incolore à jaunâtre.</p>
				<p>le thalle est caractérisé par une croissance rapide d'aspect velouté, vert-bleu Le revers de la colonie est de couleur jaune.</p>
				<p>Les colonies en forme de dôme, texture glabre floconneuses, présentent une couleur variable blanche, grise ou brune,</p> <p>Revers brune noir</p>
				<p>Les colonies en forme de dôme, texture glabre floconneuses, présentent une couleur variable blanche, grise ou brune,</p> <p>Revers brune noir</p>
				<p>Les colonies en forme de dôme, texture glabre floconneuses, présentent une couleur variable blanche, grise ou brune,</p> <p>Revers brune noir</p>

GTAdur	Traité			colonie aplatie, blanche revers incolore.
				Veloutée à poudreuse, Pas de pigment, revers jaune à pale
				Les colonies duveteuse ou cotonneuse de couleur blanche. Revers est jaune pale.
				Surface cireuse ou duveteuse, blanche Revers incolore
				Croissance rapide Texture laineuse couleur blanc Revers incolore
				Colonie à croissance rapide sur milieu de PDA Texture poudreuse, de couleur noire Revers incolore

				Surface avec une croissance rapide conduite à des colonies blanche duveteuses, floconneuses et poudreuses Revers brune claire
CIRTA	Non traité			Les colonies en forme de dôme, texture glabre floconneuses, présentent une couleur variable blanche, grise ou brune, Revers brune noir
				Surface poudreuse, blanche à bleu vert Revers incolore à jaunâtre
				Surface Veloutée à poudreuse, Pas de pigment, Revers jaune à pale
				Surface avec une croissance rapide conduite à des colonies blanche duveteuses, floconneuses et poudreuses Revers brune claire
				Colonies noirâtres granuleuses, Revers incolore
				Les colonies présentes une texture, laineuse duveteuse à poudreuse La couleur est brun olive à noire, Revers noir.

CIRTA	Traité			le thalle est caractérisé par une croissance rapide d'aspect velouté, vert-bleu Le revers de la colonie est de couleur jaune.
				Les colonies duveteuse ou cotonneuse de couleur blanche. Revers est jaune pale.
				Surface poudreuse, blanche à bleu vert Revers incolore à jaunâtre
				colonie aplatie, blanche Revers incolore.
				Les colonies duveteuse ou cotonneuse de couleur blanche. Revers est jaune pale.

2-2 Identification microscopique

Toutes les moisissures isolées ont été soumises à une identification microscopique réalisée par une observation au grossissement X40 à X100 tableau 2. Cette identification étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture de parois). Les résultats obtenus sont interprété ci-dessous :

- 03 souches présentent les caractéristiques suivantes :
 - ✓ Thalle à mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, non ramifiés, terminés en vésicule.
 - ✓ Phialides formées directement sur la vésicule ou sur des métules.
 - ✓ Résultats 47 Têtes conidiennes unisériées ou bisériées.
 - ✓ Masse conidienne rayonnante, les conidies en chaînes unicellulaires.

- 10 souches présentent les caractéristiques suivantes :
 - ✓ Mycélium cloisonné.
 - ✓ Conidiophores isolés, ramifiés, terminés par un pécicille.
 - ✓ Pécicille constitue de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiophore.

Ces souches appartiennent probablement au genre *Penicillium*.

- 01 souches présentent les caractères suivants :
 - ✓ Filaments septés, fin et régulier bruns foncé à noirs.
 - ✓ Conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières ; souvent en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement.

Ces souches semblent appartenir au genre *Alternaria*

- 01 souche a les caractéristiques suivantes :
 - ✓ Sporosystophores généralement très grands, terminés en entonnoir, en bouquet de 2 à 6
 - ✓ présentant à la base de rhizoïdes ; Columelles brunes, globuleuses ou semi globuleuses.

Cette souche appartient probablement au genre *Rhizopus*.

- 01 souche a les caractéristiques suivantes :
 - ✓ Filaments septés, fin et régulier.
 - ✓ Des conidies rondes et globuleuses portent plusieurs striations.

Cette souche appartient probablement au genre *Ulocladium*.

- 05 souches aux caractéristiques suivantes :
 - ✓ les macroconidies paraissent étroites, courbées au sommet, avec 3 à 5 cloisons. Les microconidies en chaînes, fusiformes à piriformes, formées par de longues phialides.
 - ✓ l'absence de chlamydospores.

Cette souche appartient probablement au genre *Fusarium*.

01 souche a les caractéristiques suivantes :

- ✓ Mycélium septé (eumycélium).
- ✓ Arthrospores à paroi épaisse.
- ✓ Arthroconidies simple.

Cette souche appartient probablement au genre *Geotrichum*.

➤ 07 souches aux caractéristiques suivantes :

- ✓ Mycélium végétative donne naissance à des conidies terminales ou latérales
- ✓ Les conidies sont unicellulaire, ovoïdes ou ampulliforme.

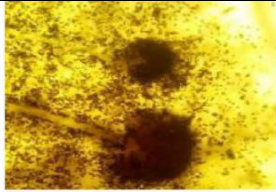


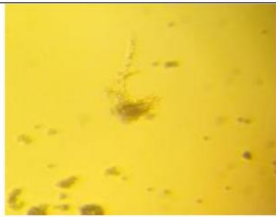


Cette souche appartient probablement au genre *Chrysosporium*.

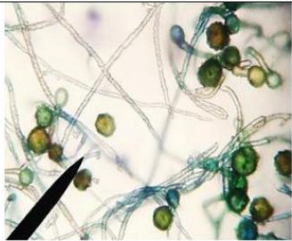

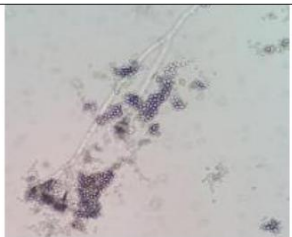


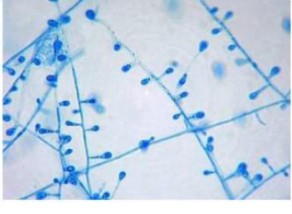

➤ 01 souche a les caractéristiques suivantes :



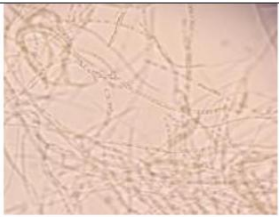
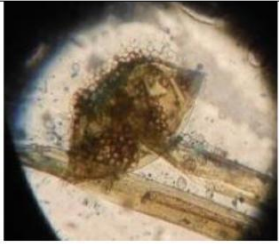

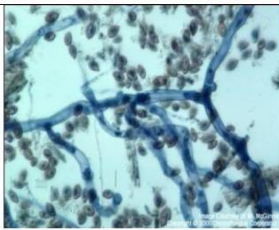
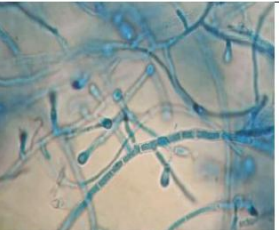
- Mycélium septé (eumycélium).
- Arthrospores à paroi épaisse.
- Arthroconidies simple.

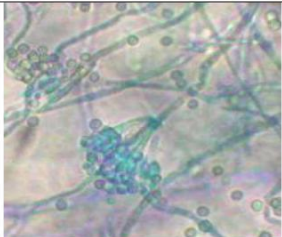
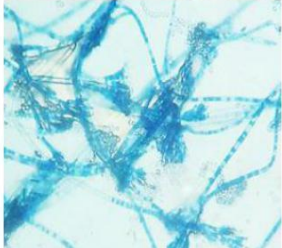
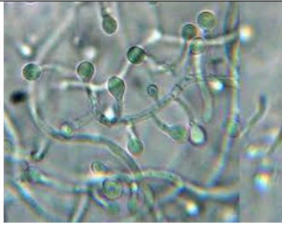


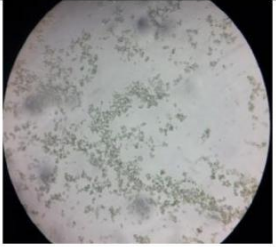
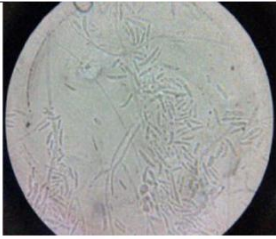
Cette souche appartient probablement au genre *Peronospora*.



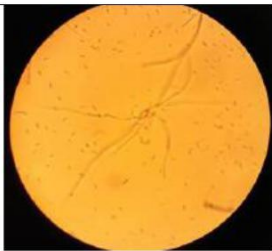
Tableau 2 : Caractères microscopiques des souches isolées des grains de blé

Variété	Traitement	Observation microscopique	Identification
GTA	Non traité		<i>Aspergillus sp1</i>
			<i>Peronospora sp</i>
			<i>Penicillium sp1</i>
			<i>Penicillium sp2</i>
			<i>Alternaria sp</i>
			<i>Penicillium sp3</i>

			<i>Chrysosporium sp1</i>
			<i>Penicillium sp4</i>
			<i>Penicillium sp5</i>
			<i>Chrysosporium sp2</i>
			<i>Chrysosporium sp3</i>
			<i>Chrysosporium sp4</i>
GTA	Traité		<i>Fusarium sp1</i>

			<i>Penicillium</i> sp6
			<i>Fusarium</i> sp2
			<i>Geotrichum</i> sp
			<i>Rhizopus</i> sp
			<i>Aspergillus</i> sp2
			<i>Chrysosporium</i> sp5
CIRTA	Non traité		<i>Chrysosporium</i> sp6

			<i>Penicilliumsp7</i>
			<i>Penicilliumsp8</i>
			<i>Chrysosporiumsp7</i>
			<i>Aspergillus sp3</i>
			<i>Ulocladiumsp</i>
CIRTA	Traité		<i>Penicilliumsp9</i>
			<i>Fusariumsp3</i>

		<i>Penicilliumsp10</i>
		<i>Fusariumsp4</i>
		<i>Fusariumsp5</i>

3- Analyse et étude comparative des résultats

Les isollements sont effectués sur des échantillons de blé stocké traité et non traité (variété CIRTA et GTA). Leurs identification macro et microscopique réalisés, ont révélés la présence de 30 isolats fongiques dont 19 isolats proviennent des échantillons issues de la variété GTA et représentant 8 genres entre autres : *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Peronospora*, *chrysosporium*, *Penicillium*, ce dernier est majoritaire avec une fréquence de 31,57 % alors que le genre le moins représenté est *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Peronospora*, *Alternaria* avec 5,26 %. Par ailleurs, la recherche des mycètes dans les graines de blé provenant de la variété CIRTA, a permis l'obtention de 11 isolats fongiques groupés en 5 genres : *Aspergillus* , *Fusarium* , *Penicillium* , *chrysosporium* et *Ulocladium* ou le genre *Penicillium* est représenté en majorité avec une fréquence de 36.36% alors que le genre le moins représenté est *Ulocladium* et *Aspergillus* avec 9,09%.

L'étude comparative des différents résultats montre que, la variété GTA présente plus de souches pathogènes (19 isolats avec 8 genres) avec un pourcentage de 63 % en comparaison avec la variété CIRTA (11 isolats avec 5 genres) avec un pourcentage de 37 % (figure 8).

Par ailleurs les graines traitées des deux variétés(GTA et CIRTA) sont moins contaminées avec un pourcentage de (40%) que ceux non traité (60%).

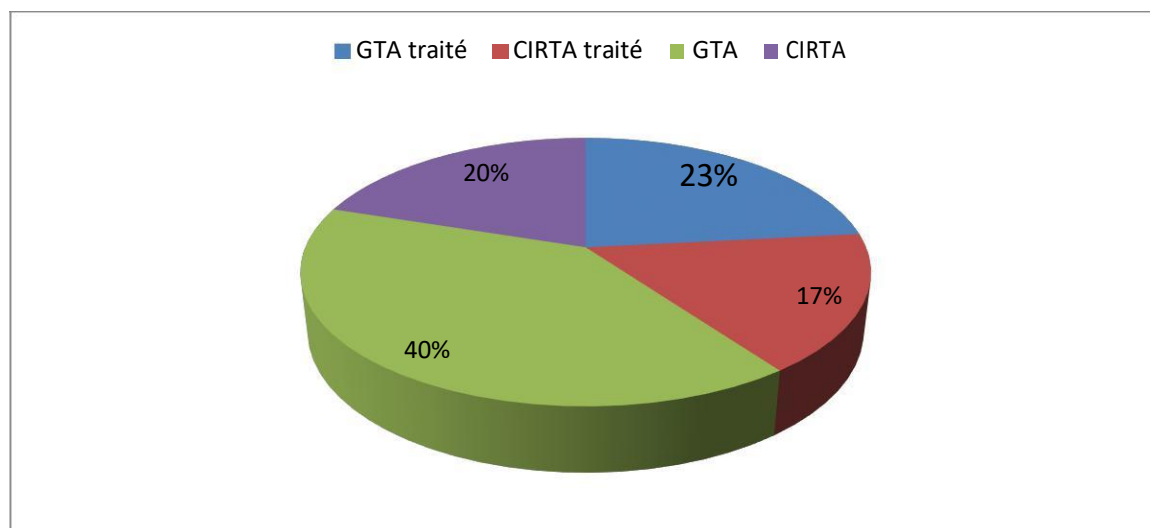


Figure 15 : Pourcentage des souches fongiques dans les différents échantillons de blé.

Par ailleurs les fréquences comparatives des isolats identifiés entre les deux variétés étudiées sont représentées par le tableau qui révèle le pourcentage de chaque une et la présence des genres communs qui sont au nombre de (4) dans les deux variétés à savoir : *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *chrysosporium*.

Tableau 3 : Étude statistique de nombre et pourcentage des genres fongiques dans Chaque variété

Variété de blé Genre		GTA		CIRTA	
		Traité	Non traité	Traité	Non traité
<i>Penicillium</i>	Nombre	1	5	2	2
	%	14,28	41,66	40	33,33
<i>Chrysosporium</i>	Nombre	1	4	0	2
	%	14,28	33,33	0	33,33
<i>Fusarium</i>	Nombre	2	0	3	0
	%	28,57	0	60	0

<i>Aspergillus</i>	Nombre	1	1	0	1
	%	14,28	8,33	0	16,66
<i>Ulocladium</i>	Nombre	0	0	0	1
	%	0	0	0	16,66
<i>Geotrichum</i>	Nombre	1	0	0	0
	%	14,28	0	0	0
<i>Alternaria</i>	Nombre	0	1	0	0
	%	0	8,33	0	0

<i>Peronospora</i>	Nombre	0	1	0	0
	%	0	8,33	0	0
<i>Rhizopus</i>	Nombre	1	0	0	0
	%	14,28	0	0	0

L'histogramme ci-dessous illustre les différents genres qu'on a isolés à partir des graines de blé des deux variétés qu'on a étudié.

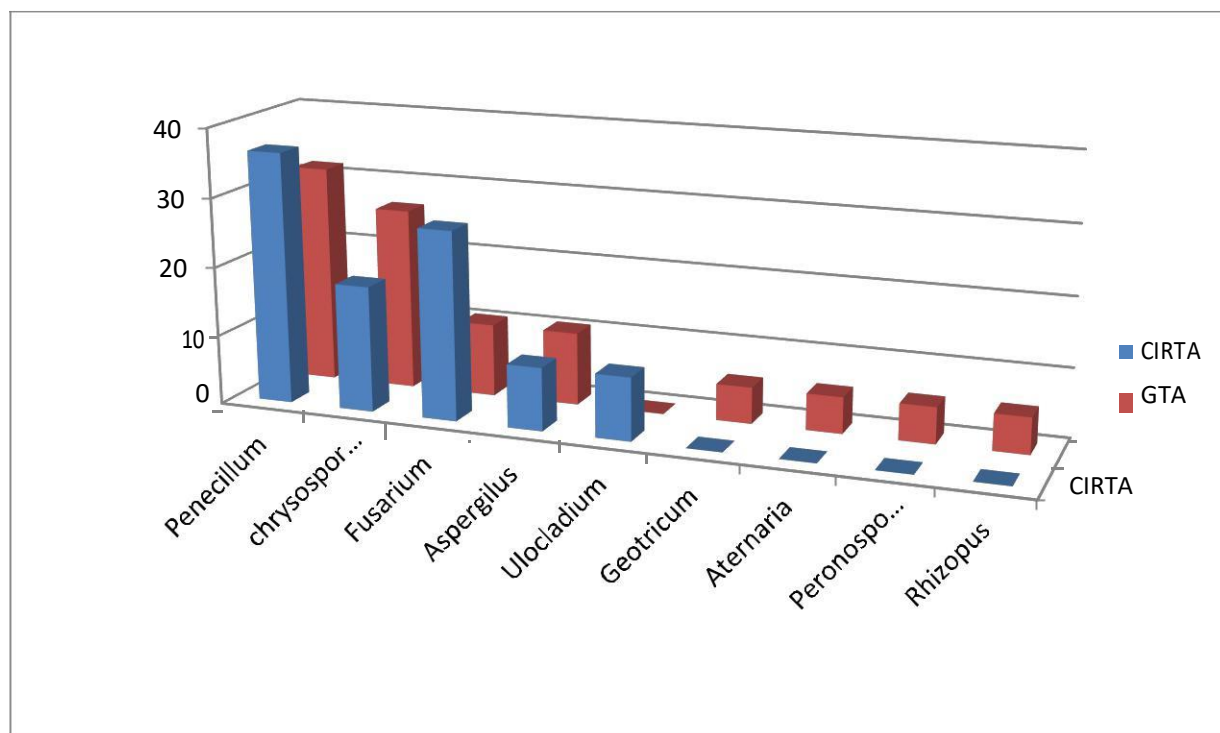


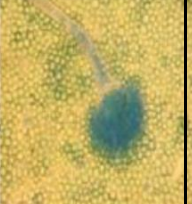


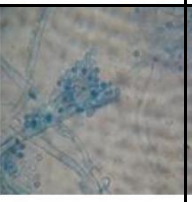








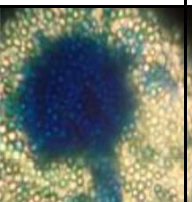








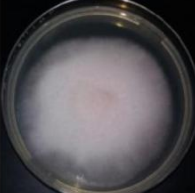

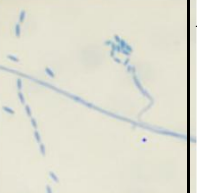


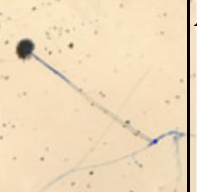


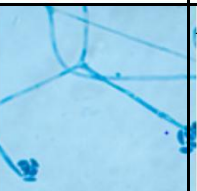


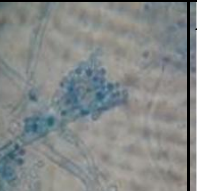

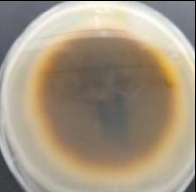
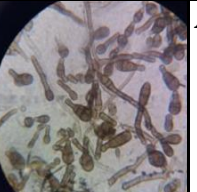
Figure 16 :Fréquences des différents genres fongiques dans les deux variétés de blé Étudier

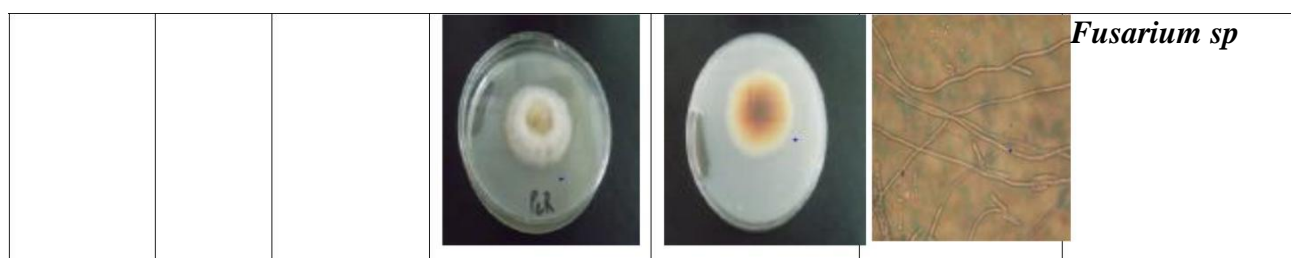
4- Identification des souches fongique isolé à partir des plantes semée

Après avoir semé les graines échantillonnés, dès l'atteinte du stade deux feuilles, les plantes ont été recueillies et stériliser partiellement et un ré-isolement des souches pathogènes a été effectué pour confirmer la transmission des pathogènes ou non. Après l'identification macroscopique à l'œil nu suivie par une identification microscopique réalisée par une observation au grossissement de X40 ou X100, les résultats sont illustrés dans le tableau4 ci-dessous :

Tableau 4 : Identification des Isolats fongique obtenus à partir des plantes semés

Partie de la plante	Variété	Traitement	Aspect macro		Aspect micro	Identification
			Surface	Revers		
Souterraine	GTA	Traité				<i>Aspergillus sp1</i>
						<i>Penicillium sp1</i>
						<i>Chrysosporium sp</i>
Aérien	GTA	Non traité				<i>Alternaria sp</i>
Souterraine	GTA	Non traité				<i>Aspergillus sp</i>

		Non traité				<i>Fusarium sp</i>
		Non traité				<i>Aspergillus sp</i>
Aérien	CIRTA	Traité				<i>Fusarium sp</i>
Souterraine	CIRTA	Traité				<i>Aspergillus sp</i>
Aérien	CIRTA	Non traité				<i>Fusarium sp</i>
						<i>Penicillium sp2</i>
Souterraine	CIRTA	Non traité				<i>Alternaria sp</i>



5- Analyse des résultats

A partir de 20 plantes semés issus de différents échantillons des graines stockées (CIRTA et GTA traité et non traité) nous avons 13 isolats fongiques réparties en 5 genres : *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *chrysosporium*.

En effet, le résultat obtenu montre une transmission des microorganismes censés être pathogènes par la semence. Le pourcentage de transmission a atteint 43,33%.

Tous les genres isolés à partir des échantillons de graine de blé dur sont ré-isolés des plantes à l'exception des genres : *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Peronospora*, *Ulocladium*.

6- Comparaison entre les résultats obtenus à partir des graines et les plantes semées

Tableau 5 : Les isolats trouvés dans chaque graine et plante (traité et non traité).

Traité		Non traité	
Graine	Plante	Graine	Plante
<i>Penicillium</i> (3 isolats)	<i>Penicillium</i> (1 isolat)	<i>Penicillium</i> (7 isolats)	<i>Penicillium</i> (1 isolats)
<i>Fusarium</i> (5 isolats)	<i>Fusarium</i> (1 isolats)	<i>Aspergillus</i> (2 isolat)	<i>Aspergillus</i> (2 isolat)
<i>Geotrichum</i> (1 isolat)	Absent	<i>Chrysosporium</i> (6 isolat)	Absent
<i>Rhizopus</i> (1 isolat)	Absent	<i>Peronospora</i> (1 isolat)	Absent
<i>Aspergillus</i> (1 isolat)	<i>Aspergillus</i> (2 isolat)	<i>Alternaria</i> (1 isolat)	<i>Alternaria</i> (1 isolat)
<i>Chrysosporium</i> (1 isolat)	<i>Chrysosporium</i> (1 isolat)	<i>Ulocladium</i> (1 isolat)	Absent
		Absent	<i>Fusarium</i> (3 isolats)

Les résultats obtenu montré que le nombre des genres isolé à partir des graines traité est de nombre de 6, alors que dans les plantes sont de nombre de 4, et les même résultats sont remarqué chez les plantes et les graines non traité.

Discussion

Les céréales sont des denrées alimentaires fréquemment contaminées par les moisissures. La contamination peut avoir lieu avant la récolte, 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).

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).

Dans un premier volet, une analyse mycologique des grains de blé dur (traité et non traité) a été effectuée. Les résultats de cette analyse ont révélé une contamination par les moisissures dans les deux échantillons.

30 souches ont été détectées dans les grains, dont 18 ont été détectées dans les grains non traités et 12 dans les grains traités. Cette différence de contamination fongique entre les deux échantillons de blé (traités et non traités) elle est due 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 ; Miller, 2002). (Wilson *et al.*, 2002).

Rapportent que la contamination fongique des céréales au champ ou pendant le stockage est directement liée aux conditions hydro thermiques.

Le milieu (PDA) utilisés au cours de cette étude a été décrits par plusieurs auteurs pour l'isolement des moisissures contaminants les aliments (Azzoun, 2012 ; Gacem, 2011).

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 *chrysosporium* et *Penicillium* 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 dominance du genre *Penicillium* dans la flore contaminant des céréales a été reportée dans plusieurs travaux (Le Bars *et al.*, 1987 Riba *et al.*, 2005). Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage (Withlow *et al.*, 2001).

Les autres souches isolées des échantillons analysés appartiennent aux genres *Rhizopus*, *Alternaria* et sont naturellement présents sur les cultures au niveau des champs (Withlow *et al.*, 2001). La présence du genre *Alternaria* dans le blé non traité semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon. Ces mêmes résultats ont été constatés par (Weindenborner, 2000). Les genres *Ulocladium* détectés sur les grains de blé non traités appartiennent à la flore du champ et la flore intermédiaire (Gacem, 2011). Dans l'ensemble, le taux de contamination élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatés dans les deux échantillons du blé dur peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage (Davis *et al.*, 1987).

Par ailleurs l'isolement des champignons à partir des plante de blé, les résultats montre que les racines sont les plus contaminés par les souches fongiques 69.23% suivie par les feuilles 40,77% et ces champignons provient des graines de blé et pas de terreau parce qu'il est stérile.

Certains s'introduisent dans les tissus au niveau des racines. , la propagation

Des champignons vivant dans les graines de blé ensemencé ce qu'explique le taux de contamination élevé dans les racines.

La présence des champignons (*Aspergillus sp*), dans les feuilles peut être du a des Spores transportées par le vent et s'attaquant aux plantes.

On a marqué qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux variétés du blé Analysés sauf le nombre d'isolats. En effet, les mêmes genres ont été retrouvés dans les deux échantillons avec des proportions différents, les genres dominats sont (*Fusarium*, *Penicillium* et *Chrysosporium*), donc la variété GTAdur est plus sensible aux attaques fongiques avec (18 isolats).

Conclusion et perspective

Les céréales et plus particulièrement le blé, sont des substrats naturellement favorables au développement des champignons filamenteux pathogènes, le développement fongique sur ces substrats peut avoir plusieurs conséquences : altération des propriétés organoleptique, diminution des qualités nutritives, apparitions de maladies ou l'accumulation de composés toxiques.

Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer le taux de contaminations fongiques de deux variétés de blé dur (CIRTA et GTAdur), de chercher les principaux genres et espèces de moisissures contaminant le blé au champ (plante) et lors de stockage (grain).

L'analyse mycologique effectuée sur nos échantillons nous a permis d'isoler 30 souches à partir des Deux échantillons de blé analysées appartenant à 9 genres, classés aux trois grands embranchements des Deutromycotina, Ascomycotina puis zygomycotina et ceci à partir de la région d'études : El Khroub, de la wilaya de Constantine.

Le taux de contamination lors de stockage (grain) est plus élevé chez la variété GTA, qui peut être plus sensible aux attaques fongiques. La purification des souches isolées nous a donné la possibilité d'identifier des genres de moisissures à savoir : *Fusarium sp*, *Penicillium sp* et *Chrysosporium sp* qui sont les plus dominants dans les deux variétés.

Et le taux de contamination au champ (plante) est presque le même chez les deux variétés, et on a trouvé que la contamination du blé GTA est situer fréquemment dans la partie souterrain alors que chez la variété CIRTA dans la partie aérien.

La purification des souches isolées nous a donné la possibilité d'identifier des genres de moisissures à savoir : *Fusarium sp*, *Aspergillus sp* qui sont les plus dominants dans les deux variétés.

Au terme de cette étude, il serait peut être intéressant de fixé les perspectives suivants :

- Approfondir l'étude sur les conditions de contaminations fongiques du blé.
- Informer les Agriculteurs par les maladies saisonnières à fin de protéger la récolte.
- Etablir des sociétés nationales spécifiques de production des bio fongicides dans l'objectif protégé les cultures des céréales en Algérie.

Résumé

La mesure de pH des graines de blé dur a révélé des valeurs variant de 7,45 et 6,53 pour les deux variétés CIRTA et GTA. Aussi la mesure de l'humidité nous a permis d'obtenir des résultats de 11,44 pour CIRTA et 11,73 pour GTA. Le taux des graines brisées est de 5% pour GTA et 7% pour CIRTA. La recherche des souches fongiques dans la plante de blé dur des deux variétés à étudier : GTA et CIRTA de L'OAIC El Khroub a révélé la présence de 30 souches fongiques appartenant à 9 genres (*Alternaria* sp; *Aspergillus* sp ; *Fusarium* sp ; *Geotrichum* sp ; *Ulocladium* sp ; *Peronospora* ; *Chrysosporium* ; *Rhizopus* ; *penicillium*) descendant de trois familles Deuteromycotina, Ascomycotina et Zygomycotina. Par ailleurs le ré isolement des souches pathogènes à partir des plantes semées en serre a permis l'obtention de 13 souches réparties en 5 genres : *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *chrysosporium*. Nos résultats indiquent la possibilité d'infection des différentes parties de la plante et aux différents stades de sa croissance pour les deux variétés du blé (dur) à partir des graines ensemencées préalablement infectées au cours de stockage par plusieurs genres de champignons ce qui constitue une menace pour la culture .

Mots clés : blé dur, souche pathogène, traitement fongique, GTA dur.

Abstract

The pH measurement of durum wheat seeds revealed variant values of 7.45 and 6.53 for both CIRTA and GTA varieties. In addition, the humidity measurement allowed us to obtain results of 11.44 for CIRTA and 11.73 for GTA. The broken seed rate is 5% for GTA and 7% for CIRTA. The search for fungal strains in the durum wheat plant of the two varieties to be studied: GTA and CIRTA from OAIC El Khroub to reveal the presence of 30 fungal strains belonging to 9 genera

(*Alternaria* sp.; *Aspergillus* sp.; *Fusarium* sp.; *Geotrichum* sp.; *Ulocladium* sp.; *Peronospora*; *Chrysosporium*; *Rhizopus*; *penicillium*) descendant of three families Deuteromycotina, Ascomycotina and Zygomycotyna. In addition, the re isolation of pathogenic strains from plants sown in the greenhouse has made it possible to obtain 13 strains divided into 5 genera: *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chrysosporium*. Our results indicate the possibility of infection of the different parts of the plant and at the different stages of its growth for both (hard) wheat variety from seeds seeded previously infected during storage by several kinds of fungi, which constitutes a threat to culture.

ملخص

أظهر قياس درجة الحموضة من بذور القمح القاسي قيم مختلفة من 54.7 و 3476 لكل من الأصناف *CIRTA* و *GTAdur* كما سمح لنا قياس الرطوبة الحصول على نتائج.. 444 ل *CIRTA* و 44456 ل *GTAdur*. معدل البذور المكسور هو 7% ل *GTAdur* و 5% ل *CIRTA*. البحث عن السلالات الفطرية في القمح القاسي المدروس *GTAdur* و *CIRTA* من *L'OAIC* الخروب الكشف عن وجود 63 سلالة فطرية تنتمي إلى 9 أجناس (*Altarnaria* ، *Aspergillus* ، *Chryso sporium* ، *Peronospora* ، *Ulocladium* ، *Geotrichum* ، *Fusarium* ، *Rhisopus* ، *Penicillium*) تنحدر من ثلاث عائلات *Deuteromycotina* ، *Zygomycotyna* ، *Ascomycotyna*.

أيضا إعادة عزل السلالات المسببة للأمراض من النباتات المزروعة في الدفيئة الحصول على 13 سلالة مقسمة إلى 7 أجناس: *penicillium* ، *Fusarium* ، *Alternaria* ، *Aspergillus* ، *Chryso sporium*. وتشير النتائج التي توصلنا إليها إمكانية إصابة أجزاء مختلفة من النباتات وفي مراحل مختلفة من النمو لكل نوع من القمح (الصلب) ابتداء من البذور المزروعة سابقا و أثناء التخزين بواسطة عدة أنواع من الفطريات التي تهدد الفالحة.

Référence Bibliographies

1-Aboukhaddour R T., Kelly T. et Stephen E., Strelkov., 2013. Race structure of *Pyrenophoratriciti-repentis*(tan spot of wheat) in Alberta, Canada Canadian Journal of Plant Pathology. (35). 256-268.

2-Anonyme, 2007. La gestion des principales maladies foliaires des blés. Syngenta. Notice technique 5, 4p.

3-Anonyme, 2008. Maladies et insectes des céréales en Algérie. Syngenta. Guide de champ.

4-Anonyme a, 2014. Problématique de la fusariose des céréales en Algérie Identification des espèces et leurs répartitions dans les zones potentiellement céréalières. Bulletin d'informations phytosanitaires N° 33. Infos phyto. INPV. 3p.

5-Aouali S. et Douici-Khalfi A., 2009. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte ; ITGC, EL Harrach, Alger. 56p.

6- Atalla M.M., Mohamed-Hassanein N., Atef-Elbeih A and Youssef A. (2003). Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergillus* in relation to different relative humidity and storage periods. *Food Nahrung*. p: 6-10.

7Attab,S ., and Brinis ,L. (2012). Etude comparative de la réponse physiologique de deux variétés de blé dur (*triticumdurumDesf.*) à l'infection par *blumeria graminis*f.sp.*tritici* agent causal de l'oïdium. Thèse de Doctorat, Université de badji mokhtarannaba.

8-Ballois N., 2012. Caractérisation de la diversité des espèces de *fusarium*et de leur potentielmycotoxinogene sur céréales françaises. Master Fage Biologie et Ecologie

pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement. Spécialité. BIPE. 36p.

9-Besri M., 1989. Etat sanitaire des semences de blé et d'orge utilisées au Maroc, Céréales en régions chaudes AUPELF-UREF, Ed John LebbeyEurotext,Paris. 85-94.

11-Benslimane H., Lamari L., Benbelkacem A., Sayoud R. et Bouznad Z., 2011. Distribution of races of *Pyrenophoratrifici-repentis* in Algeria and identification of a new virulence type. Phytopathol. Mediter. 1-9.

12-Belaid Dj., 1996. Aspects de la céréaliculture Algérienne. Offices de publications Universitaires.

13-Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. & Veau P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. P. 12-426.

14-Bouafia, A., and Touati,Y. (2013). Analyse de la microflore fongique de quelques variétés des semences de blé dans la région de bordj Bou-Argeridj. Mémoire de Master, Université de bordj Bou-Argeridj, 2p.

15-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.

16- Berthier J., Valla G. (1998). Moisissures - Mycotoxines et Aliments : du Risque à la Prévention. Université Claude Bernard, Lyon. p:05-20.

17- Chellali B. (2007). Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. <http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (31.05.2008).

18-Clement-Grandcourt M. et Prats J., 1971. Les céréales Collections d'enseignement agricole 2^{eme} Ed, Ballier France. 351p.

- 19- Davis N.D and Diener U.L.(1987).** Mycotoxins, in: Food and Beverage Mycology, 2nd Ed, Van Nostrand Reinhold, New York, p:517-570.
- 20-El hadj Hammiche F., 2013.** Problématique. 1^{er} Workshop international sur La fusariose des céréales en Algérie. INPV Institut National de la Protection des végétaux SYNGENTA.
- 21-Eliard JL., 1979.** Manuel d'agriculture générale. Bases de la production végétale. Ed. J.B. Bailliére. 344p.
- 22-Ezzahiri B., 2001.** Les maladies du blé Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Transfert de technologie en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA 77, 4p.
- 23-Harrigan W.F. &McCance M.E. (1976).** Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic press. London. P. 21-277.
- 24-Gacem M.A. (2011.)** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus*.
- 25-Gate P., 1995.** Ecophysiologie du blé. Ed. Lavoisier, Paris. 429 p.
- 26-Gate Ph. Et Giban M., 2003.** Stades du blé. Edition ITCF, Paris. 68p.
- 27-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.
- 28-Guiraud, J. P .** Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod, 1998. Chapitre, Milieu et réactif. P :522. ISBN : 2 10 003666 1

30-Jlibene M., 2011. Options génétiques d'adaptation du blé tendre au changement climatique. Variétés à résistance multiple : Sécheresse, Cécidomyie, Septoriose, Rouilles brune et jaune. Institut National de la recherche Agronomique Edition. DIC. 63p.

31-Lamari L., Bernier CC. et Smith RB., 1991. Wheat genotypes that develop both tan Necrosis and extensive chlorosis in response to isolates of *Pyrenophoratrifici-repentis*. Plant Diseases. vol 75. 121–122.

32-Lamari L., Strelkov SE., Yahyauoi A., Amedov M., Saidov M., Djunusova M. and Koichibayev M., 2005. Virulence of *Pyrenophoratrifici-repentis* in the countries of the Silk Road, Canadian journal of plant pathologie. 27 (3), 383-388.

33- 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.

34-Mahfoud, A. and Lasbuhani, A. (2015). Approche de la lutte contre les maladies fongiques du blé : étude de l'efficacité de trois molécules antifongiques (in vitro et in situ) et l'effet antagoniste de certains microorganismes fongiques (in vitro). Mémoire de master, Université des frères Mentouri.

34-Mathieu CB., Nathalie S., Denis Pageau M Sc. et Sylvie R., 2012. Pour en savoir plus sur la Fusariose.7p.

35-Mascher F., Michel V. et Browne RA., 2005. Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi. Revue suisse Agric. 189-194.

35-Masle-Meynard J., 1980. L'élaboration du nombre d'épis chez le blé d'hiver. Influence de différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l'utilisation de l'azote et de la lumière. Thèse Docteur Ingénieur. INA-PG. Paris.

36-Michel L., 2002. Maladies des céréales et de la luzerne. Diagnostic, dépistage et

prévention. Ministère de l'agriculture, des pêches et de l'alimentation. Québec. 25p.

37- Miller J.D. (2002). Aspects of the ecology of Fusarium toxins in cereals. *Adv. Exp. Med. Biol.* p: 19-27.

38- Molinie A., Faucet V., Castegnaro M and Pfohl-Leszkowicz A. (2005). Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *F. Chem.* p: 391-400.

39-Multon, J.L., 1982. Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, pp. 576.

40-Nassrellah N. et Mergoum M., 1994. Comparison of Tan Spot virulence in the favourable and unfavourable rainfed areas of Morocco. MIAC - CRRA Settat Ed., MARA- INRA. Rabat, 24-27 Mai. 454-459.

41-Oteng-Gyang K. (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chaud. Lavoisier. Paris. P. 26-42.

42-O'DONNELL K., WARD TJ., GEISER DM., CORBY KISTLER H. et AOKI T., 2004. Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusariumgraminearum* clade. *Fungal Genetics and Biology.* 41, (6). 600– 623.

43-Oteng-Gyang K. (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chaud. Lavoisier. Paris. P. 26-42.

44-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

45-Philippe dC., Laurence Itab. P., Morand S. et Skiker., 2009. Agriculture biologique. Les résistances variétales pour lutter contre la carie du blé in perspectives agricoles, 50-53.

46-Prescott JM., Burnett PA., Saari EE., Ransom J., Bowman J W., Milliano do., Singh RP. etBekele G., 1987. Maladies atravagours du blé : Guide d'identification au champ. CIMMYT. Mexico, D.F., Mexico. 135p.

47-Pirgozliev SR., Edwards SG., Hare MC. et Jenkinson P., 2003. Strategies For the control of Fusarium head blight in cereals / *European Journal of Plant Pathology*. 109. 731–742.

48- 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.

49-Richard M., 2004. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique.1-3.
<http://www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/10/pdf/Agriculture/FieldCrops-GrandesCultures/FUSARI%20f3.pdf>

50-Rinaldi C., Sutton A. & Fothergill S. R. (1998).The morphology of fungi. *Appl. Environ. Microbial.* **67**: 123-129.

51-Rosalind M. et Sears E R., 1967. The cytogenetics of wheat and its relatives in Wheat and wheat improvement. Number 13 in the series Agronomy. 19p.

- 52-Saoud H., 1994.** La maladie de la tache bronzée du blé : Etude de la variation pathogénique de l'agent causal (*Pyrenophoratrifici repentis*) et identification des sources de résistance. Mémoire de 3ème cycle ENA, Ecole Nationale d'Agriculture, Meknes Maroc.
- 53-Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z., 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb, Guide Pratique. Projet Maghrébin sur la Surveillance des Maladies et le Développement de Germoplasme Résistant des céréales et des Légumineuses Alimentaires. PNUD RAB/91/007 Maroc-Algérie - Tunisie. Trames Ed, Algérie. 64p.
- 54-Siou,D, 2013 :** développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse doctorat en biologie, université de paris sud. 198p.
- 55-Soltner P., 2005.** Les bases de la production végétales: La plante et son amélioration. 4èmeEd. Collection et Techniques Agricoles. 248p.
- 56-Tizioulou, G. (2009).** Recherche de marqueurs de la spécialisation parasitaires de pyrenophoratrifici-repentis (died) Drechs, agent de la tache bronzée sur blé dur (*triticumdurumDesf*) et blé tendre (*triticumaestivum L.*). Mémoire de Magister, Ecole EL Harech National Supérieure Agronomique d'EL Harech,
- 57-Wegulo S., Jackson T A., Baenziger S., Carlson M. et Hernandez J., 2008.** Fusarium Head Blight of Wheat. 8p.
- 58- Weindenborner. (2000).** Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential mycotoxins. *F. Microbiol.* p:103-107.
- 59- 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.

60- 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.

61-Zahri S., Farih A., Badoc A. et Douira A., 2014. Statut des principales maladies, cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences* 77, 6543–6549.

62- Zia-Ur-Rahman. (2006). Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. *F.Chem.* p: 53-57

63-Zillinsky FJ., 1983. Maladies communes des céréales à paille : Guide d'identification. Mexico, CIMMYT. 141 p.

Annexe



Milieu PDA

-Extrait de pomme de terre	200g
-Agar	20g
-Glucose	20g
-Eau distillée	1000ml

Peler, laver, couper en tranches minces les pommes de terre. Cuire 15 à 20minutes dans 200ml d'eau, filtrer et ajouter le glucose et l'agar puis compléter le volume à 1000ml. Agiter le mélange sur un agitateur puis autoclaver.



Milieu sabauroud

-Peptone10g
-Chloramphénicol0.5g
-Glucose 20g
-Agar 20g



Solution de knop

-Nitrate de Ca	10g
-Nitrate de Ka	2,5g
-Sulfate de Mg	2,5g
-Phosphate mon potassique	2,5g
-Chlorure de ferrique trace	
-Eau distillé compléter 1000 ML	

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : Bouzid Abd Errezak.
Haddam Mouàd.

Thème : Contribution à l'estimation de la flore fongique du Blé dur (variétés Cirta et Geta) durant les premières étapes de germination en comparaison avec la flore fongique du stockage.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie fongique des Mycètes.

Résumé

La mesure de pH des graines de blé dur a révélé des valeurs variante de 7,45 et 6,53 pour les deux variétés CIRTA et GTA. Aussi la mesure de l'humidité nous a permis d'obtenir des résultats de 11,44 pour CIRTA et 11,73 pour GTA. Le taux des graines brisé est de 5% pour GTA et 7% pour CIRTA. La recherche des souches fongiques dans la plante du blé dur des deux variétés à étudier : GTA et CIRTA de L'OAIC El Khroub a révélé la présence de 30 souches fongiques appartenons à 9 genres (Alternaria ; Aspergillus ; Fusarium ; Geotrichum ; Ulocladium sp ; Peronospora ; Chrysosporim ; Rhizopus ; penicillium) descendant de trois familles Deuteromycotina, Ascomycotina et Zygomycotyna. Par ailleurs le ré isolement des souches pathogènes à partir des plantes semée en serre à permis l'obtention de 13 souches reparties en 5 genres : Fusarium, Alternaria, Aspergillus, Penicillium, chrysosporium. Nos résultats indiquent la possibilité d'infection des différente partie de la plante et aux différents stades de sa croissance pour les deux variétés du blé (dure) à partir des graines ensemencé préalablement infecté au cours de stockage par plusieurs genres des champignons ce qui constitue une menace pour la culture.

Mots clés : blé dur, souche fongique, traitement chimique.

Laboratoire de recherche : laboratoire de mycologie, de biotechnologie et de l'activité microbienne (LaMyBAM) ChaabErssas, Université des frères Mentouri, Constantine.

Jury d'évaluation :

Rapporteur : Mr. DEHIMAT L.	(Pr - UFM Constantine),
Président de jury : Mr. OUFFROUKH A.	(Directeur de recherche INRA Constantine),
Examinatrice : M^{elle}. ALMI H.	(Dr - UFM Constantine).

Date de soutenance : 24/06/2018