

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة محمد بوضياف/المسيلة

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTEDES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE

MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Présenté par

**BENDJOUDI Rachida et DEHIMI Houda**

Thème :

***Etude des méthodes d'isolement et d'identification de quelques champignons de stockage des céréales***

DEVANT LE JURY :

**SELLOUM Mounir**

**BOUBEKEUR Hafsa**

**HENDEL Noui**

**Encadreur**

**Examinateur**

**Examinateur**

***Promotion : 2019-2020***

## **Remerciement**

Avant tous, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail .Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à **Mr Selloum M.** Pour avoir proposé ce thème et pour son encadrement.

Nous remercions **BOUBEKEUR H.** pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

Nos remerciements s'adressent également à Mr **HENDEL N .**d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous devons une mention particulière aux ingénieures de laboratoire pour leur efficacité du point de vue méthodologie au niveau du laboratoire de microbiologie.

Nous remercions les employés du département des sciences de la nature et de la vie.

**BENDJOUDI Rachida et DEHIMI Houda**

## Dédicaces

**A ceux qui mon donné la vie**

**« Mon Père et ma Mère »**

**Et mes frères et sœurs**

**A toute ma famille et mes amies**

**A mon binôme *Houda***

**Mon petit univers ...**

***Rachida***

## *Dédicace*

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à:*

*Ma mère ZOHRA, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, pour sa sacrifice tous les jours e et nuits de mes étude, Puisse dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie*

*L'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Mon père, HOSSINE qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.*

*Mes chères frères (Yousef et Hamid) et mes petites sœurs (Nour et Soundous) En leurs souhaitant beaucoup de succée dans la vie*

*A mon binôme BENDJOUDI Rachida*

*Ma fidèle marie et tout leur famille et tous ceux que mon cœur les a écrits mais mon stylo ne l'a fait.*

*A tous qui lires cette dédicace.*

*Houda*

## Résumé

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire Algérien. Elles sont sujet à de nombreuses contraintes biotiques, notamment les maladies cryptogamiques qui occasionnent des pertes considérables. L'objectif de ce travail est d'étudier les méthodes d'isolement et d'identification de quelques champignons de stockage des trois types de céréales les plus cultivées et consommées en Algérie (blé ; orge ; maïs) .Les résultats d'isolement sur les milieux de choix (PDA ; OMYA) à des températures adéquates, permet de distinguer dix champignons distribués comme suit : le blé : quatre champignons ; l'orge : trois champignons ; le maïs : trois champignons. La confirmation et l'identification macroscopique et microscopique montre un taux de prédominance élevé des deux souches : *Aspergillus flavus* ; *Penicillium sp* puis la présence particulière des autres quatre souches : *Alternaria alternata* et *Fusarium solani* pour le blé ; *Fusarium oxysporum* pour le maïs ; Ensuite, *Fusarium sp* pour l'orge.

**Mots clés** : Céréales ; maladies cryptogamiques ; champignons de stockage ; isollements ; blé ; maïs ; orge.

## Summary

Cereals and their derivatives are the backbone of the Algerian food system. They are subject to many biotic constraints, including cryptogamic diseases that cause considerable losses. The objective of this work is to study the methods of isolation and identification of some storage fungi of the three types of cereals most cultivated and consumed in Algeria (wheat; barley; maize). Isolation results on media of choice (PDA; OMYA) at appropriate temperatures allowed to distinguish ten molds distributed as follows: wheat: four mushrooms; barley: three mushrooms; corn: three mushrooms. Confirmation and macroscopic and microscopic identification shows a high prevalence rate of the two strains: *Aspergillus flavus*; *Penicillium* sp. Then the special presence of the other four strains: *Alternaria alternata* and *Fusarium solani* for wheat; *Fusarium oxysporum* for corn. Then *Fusarium* sp for barley.

Keywords: Cereals; cryptogamic diseases; storage fungi; isolates; identification; wheat; corn; barley.

## المخلص

تشكل الحبوب ومشتقاتها العمود الفقري للنظام الغذائي الجزائري. اذ تخضع للعديد من المخاطر الحيوية، وخاصة الأمراض التي تسبب خسائر كبيرة. الهدف من هذا العمل هو دراسة طرق عزل وتحديد بعض فطريات التخزين للأنواع الثلاثة من الحبوب الأكثر زراعة واستهلاكاً في الجزائر (القمح، الشعير، الذرة). نتائج العزل على وسط الاختيار OMYA ; PDA عند درجات حرارة مناسبة، يميز عشرة فطريات موزعة على النحو التالي: القمح: أربع فطريات؛ الشعير: ثلاثة فطريات. الذرة: ثلاث فطريات. يُظهر التأكيد والتحديد العياني والمجهري معدل انتشار مرتفع للسلالتين: *Aspergillus flavus*؛ *Penicillium sp* ثم الوجود الخاص للسلالات الأربعة الأخرى: *Alternerai alternata* و *Fusarium solani* للقمح؛ *Fusarium oxysporum* للذرة؛ ثم *Fusarium sp* للشعير.

**الكلمات المفتاحية :** الحبوب، أمراض الفطرية، فطريات التخزين، عزل، تعريف، قمح، ذرة، شعير.

## LISTE DES ABREVIATION

**mg** : Milligramme

**g** : Gramme

**T°** : Température

**pH**: potential Hydrogène

**SFP**: Filtre Paper Soaked with Na Cl solution

**MEA**: Malt Extract Agar

**MQ** : Millions de Quintaux

**MT** : Millions de Tonnes

**Mha** : Millions d'hectares

**Milieu OMYA** : milieu Oatimeal Malt Yeast Agar

**PDA** : Potatos Dextrose Agar

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Taches provoqués par <i>Rhynchosporium secalis</i> .....	9
<b>Figure 2:</b> Taches provoqués par <i>Fusarium graminearum</i> .....	10
<b>Figure 3:</b> Taches provoquées par <i>Pyrenophora graminea</i> .....	10
<b>Figure 4:</b> Maïs infecté par <i>Ustilago maydis</i> .....	12
<b>Figure 5:</b> Fusariose de la tige et des épis .....	12
<b>Figure 6:</b> Rouille du maïs sur les feuille .....	13
<b>Figure 7:</b> La désinfection, rinçage et séchage des grains .....	18
<b>Figure 8:</b> La sélection des grains (exemple de blé) .....	19
<b>Figure 9:</b> (A) Grains de céréales (maïs) germé dans la chambre humide; (B):Schéma de la chambre humide .....	20
<b>Figure 10:</b> (1):Technique de culture sur lame;(2) culture sur lame.....	243
<b>Figure 11:</b> Application de technique de scotch .....	24

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> pricipales maladies cryptogamiques des céréales.....	15
<b>Tableau 2:</b> Le nombre de champignons isolés à partir de chaque type de céréales.....	26
<b>Tableau 3:</b> Identification macroscopique et microscopique des isolats obtenus.....	27
<b>Tableau 4:</b> La description d'aspect macro/microscopique des isolats obtenus.....	29

## Table des matières

<b>LISTE DES ABREVIATION .....</b>	<b>III</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>V</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : GENERALITE SUR LES CHAMPIGNONS .....</b>	<b>3</b>
<b>1. DEFINITION .....</b>	<b>4</b>
<b>2. CONDITIONS PHYSICO-CIMIQUES DE CROISSANCE .....</b>	<b>4</b>
2.1 Température .....	4
2.2 pH.....	4
2.3 Activité d'eau .....	4
2.4 Aération.....	Erreur ! Signet non défini.
2.5 Lumière.....	5
<b>3. AVANTAGES ET INCONVENIENTS ECONOMIQUES .....</b>	<b>5</b>
<b>4. L'EFFET NEFASTE DES CHAMPIGNONS .....</b>	<b>5</b>
<b>CHAPITRE II : LES CEREALES .....</b>	<b>6</b>
<b>1. DEFINITION .....</b>	<b>7</b>
<b>2. LE BLE (TRITICUM).....</b>	<b>7</b>
2.1 Production de blé en Algérie.....	7
2.2 Les moisissures pathogènes du blé.....	7
2.3 Les maladies cryptogamiques du blé .....	7
2.3.1 Fusariose .....	7
2.3.2 Charbon du blé .....	7

2.3.3	Carie du blé.....	8
2.3.4	Rouilles.....	8
3.	<b>L'ORGE (<i>HORDEUM VULGARE</i>) :</b> .....	9
3.1	Production de l'orge en Algérie .....	9
3.2	L'importance de l'orge .....	9
3.3	Les moisissures pathogènes de l'orge .....	10
3.4	Les maladies cryptogamiques du l'orge .....	10
3.4.1	Rhynchosporiose ( <i>Rhynchosporium secalis</i> ).....	10
3.4.2	Fusariose ( <i>Fusarium graminearum</i> ) .....	11
3.4.3	Strie foliaire ( <i>Pyrenophora graminea</i> ) .....	11
4.	<b>LE MAÏS (<i>ZEA MAYS</i>).....</b>	12
4.1	L'importance du maïs.....	12
4.2	Les maladies cryptogamiques de maïs.....	13
4.2.1	Charbon commun .....	13
4.2.2	Fusarioses de la tige et des épis.....	13
4.2.3	Rouille du maïs.....	14
4.2.4	Rhizoctone ( <i>Rhizoctonia solani</i> ).....	14
5.	<b>LES MOISSURES DE STOCKAGE DES CEREALES ETUDIEES .....</b>	16
5.1	Les Aspergillus.....	16
5.2	Le Penicillium .....	16
5.3	Les Fusarium .....	17
	<b>CHAPITRE III : ANALYSE MYCOLOGIQUES .....</b>	18
1.	<b>ECHANTILLONNAGE ET PRELEVEMENT.....</b>	19
2.	<b>DESINFECTION DE LA SURFACE DES GRAINS.....</b>	19

<b>3. ISOLEMENT DES MYCETES.....</b>	<b>20</b>
3.1 Culture directe (la chambre humide) .....	20
3.2 Evaluation de pourcentage de contamination des grains par les champignons et estimation du pouvoir germinatif des grains.....	21
<b>4. PURIFICATION DES ISOLATS .....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONSERVATION DES ISOLATS .....</b>	<b>22</b>
5.1. Gélose incliné.....	22
5.2. Congélation des cultures sporulées .....	22
<b>6. IDENTIFICATION DU GENRE DES ISOLATS.....</b>	<b>22</b>
6.1. Identification selon les caractères culturaux (macroscopiques) : .....	22
6.2. Identification selon les caractères (microscopiques) :.....	23
6.2.1. Le frottis humide :.....	23
6.2.2. La culture sur la lame : .....	23
6.2.3. La technique de scotch .....	24
<b>CHAPITRE IV : RESULTATS ET DUSCUSSION .....</b>	<b>25</b>
<b>1. RESULTATS .....</b>	<b>26</b>
1.1. Résultats d'isolement des moisissures de stockage des céréales .....	26
1.1 Résultats d'identification des genres des isolats .....	27
1.2 Description des isolats obtenus .....	29
Discussion.....	32
Conclusion.....	35
Références bibliographique .....	36

## Introduction

Les céréales sont l'un des apports nutritionnels majeurs à l'échelle mondiale, leurs grains ont un intérêt alimentaire pour l'homme et les animaux. Les variétés de céréales les plus consommées dans le monde sont : le blé dur (*Triticum sativum*), le maïs (*Zea mays*), l'orge (*Hordeum vulgare*) (Merabti, 2015).

Malheureusement, il y a plusieurs maladies qui peuvent toucher les produits céréaliers (blé, orge et maïs) ; la tache helminthosporienne, le charbon, fusariose, oïdium et la rouille.....etc.

Les moisissures et leurs métabolites secondaires entraînent, à l'échelle mondiale, des pertes de céréales et leurs dérivées estimées de 5 à 10% (Pfohl-leszkowicz, 2009) . Elles sont omniprésentes dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats.

Les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales) réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés (Gacem, 2012). Par ailleurs, dans des conditions propices de température, humidité, pH et de composition de substrat, les moisissures peuvent synthétiser des métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines (Bennett et Klich, 2003).

Notre travail constitue une contribution à l'étude de l'ensemble des maladies cryptogamiques des céréales (blé, orge et maïs), les agents qui en sont responsables et leurs effets néfastes ainsi que les méthodes de leur isolement et d'identification.

Dans le premier chapitre, on a présenté des généralités sur les champignons, leur définition, les principales conditions de leur croissance puis leurs avantages et inconvénients économiques. Le deuxième chapitre présente trois exemples de céréales ; le blé, l'orge et le maïs, et les maladies cryptogamiques rencontrées. Dans le troisième chapitre on a exposé un exemple de l'ensemble des analyses mycologiques effectuées pour la mise en évidence des moisissures de production céréalière.

Les résultats prévus sont discutés au niveau du quatrième chapitre et concentrent sur les moisissures isolés notamment leur purification et leurs caractères macroscopiques et microscopiques. En fin une conclusion.



## **CHAPITRE I : GENERALITE SUR LES CHAMPIGNONS**

## **1. Définition**

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

## **2. Conditions physico-chimiques de croissance**

### **2.1 Température**

La plupart des champignons sont psychrotrophes et mésophiles avec des optima de croissance de 25°C à 35°C. Les espèces thermo tolérantes poussent jusqu'à 50 °C (*Aspergillus fumigatus*). La température limite de développement est de 60°C à 62°C. Les psychrotolérants sont par exemple *Fusarium nivale*, *Thamnidium elegans* (Louze et Hajajissa, 2018).

### **2.2 pH**

La grande majorité des champignons sont capables de croître dans une zone de pH comprise entre 4,5 et 7,5. Leur pH optimum de croissance est compris entre 5,5 et 7,5 s'il existe des champignons acidophiles ou acidotolérants (Louze et Hajajissa, 2018)

### **2.3 Activité d'eau**

Une activité d'eau égale à 0,65 correspond à la limite de la disponibilité en eau pour les champignons qui représentent le groupe de microorganismes regroupant les espèces les plus xérophiles. Dans de nombreux cas la xérophilie s'accompagne d'une osmotolérance (Louze et Hajajissa, 2018)

## **2.4 Lumière**

Les radiations du spectre visible n'ont en générale pas d'action sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. Beaucoup de champignon n'exigent pas de lumière pour sporuler (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1997).

## **3. Avantages et inconvénients économiques**

Les moisissures présentent des avantages économiques intéressants pour l'homme. Dans les milieux naturels, elles contribuent à la biodégradation et au recyclage des matières organiques comme le bois. Certaines sont utilisées dans l'alimentation, comme *Penicillium roquefortii* et *P. camembertii* pour la production de fromages, d'autres sont exploitées pour la production d'enzymes (40% des enzymes produits industriellement), d'acides organiques (acide citrique et gluconique par des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*), de médicaments (production de pénicilline par *P. chrysogenum*, de céphalosporine par *Cephalosporium acremonium*) (Perry *et al.*, 2004).

## **4. L'effet néfaste des champignons**

Dans le domaine agronomique, la contamination fongique des denrées alimentaires, destinées à l'homme ou à l'animal est le principal dommage qui va entraîner de nombreux problèmes. Ainsi, la présence indésirable des moisissures modifie l'aspect des produits alimentaires, dû notamment à la production de pigments, comme par exemple un pigment foncé, la mélanine. Le développement de ces champignons sur les aliments peut leur donner des odeurs moisies. Il y a donc une réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire de la denrée et une baisse du rendement des récoltes. Les métabolites produits par ces champignons lors de leur croissance sont aussi des éléments majeurs dans l'altération des denrées alimentaires (Krogh, 1987).

## **CHAPITRE II : LES CEREALES**

## **1. Définition**

On appelle céréale toutes les plantes de la famille des Graminées (*Poacées*) dont le grain, possède une amande amylacée, susceptible d'être utilisée dans l'alimentation pour l'homme ou pour animaux (Godon, 1968).

## **2. Le blé (*Triticum*)**

Le blé est la céréale de base, cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat arides et semi-arides. Il compte actuellement quelques 30000 formes cultivées ; la production de blé est facile car il s'adapte à des sols et des climats variés (Lesage, 2011).

### **2.1 Production de blé en Algérie**

Le blé étant le produit de consommation de base selon Rastoin et Benabderrazik (2014), en Algérie la production de blé se répartit entre blé dur (70 % en 2012) et blé tendre (30%), avec une importante variabilité interannuelle ; en 2012, a atteint une production de blé de 51,2 MQ contre une production mondiale de 690 MT. Sur une superficie de 3 Mha réservée au céréalien culture.

### **2.2 Les moisissures pathogènes du blé**

Les maladies fongiques du blé causent des pertes de rendement pouvant atteindre 30% en cas de développement épidémique. Les champignons parasites sont responsables de mycoses dénommées de façon trop générale « maladies cryptogamiques » (Ezzahiri, 2001).

### **2.3 Les maladies cryptogamiques du blé**

#### **2.3.1 Fusariose**

La fusariose peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* dont le nom donné est relié à l'allure fusiforme de ses spores (Pageau et Fillion, 2009). Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles (Siou, 2013). Ces derniers pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et doués de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux (Galtier *et al.*, 2006)

#### **2.3.2 Charbon du blé**

Le Charbon nu causé par *Ustilago segetum* var. *tritici*. Les épis charbonnés de blé sont généralement plus hauts que ceux sains. Ils sont totalement (épillet, glumes, glumelles et grains) transformés en masse poudreuse noire qui est au début couverte

d'une délicate membrane puis, rapidement après, éclate et libère la poudre noire. Cette poudre est finalement emportée par le vent, laissant uniquement le rachis (Nasraoui, 2006).

### **2.3.3 Carie du blé**

La carie est provoquée par des champignons basidiomycètes de la famille des Tillétiacées (Fontaine *et al.*, 2013). Elle infecte plus de 70% de la récolte si les blés ne sont pas protégés ou sont cultivés dans des conditions climatiques favorables pour la maladie où les niveaux de l'inoculum est élevés (Wilcoxson et Saari, 1996). A maturité, ces grains infectés deviennent remplis d'une masse poudreuse noire formée des téliospores du champignon libérant une odeur particulière rassemblant à celle du poisson pourri (Nasraoui, 2006).

### **2.3.4 Rouille**

Elle est causée par *Puccinia graminis* qui attaque l'épine vinette (*Berberis vulgaris*) comme hôte secondaire et le blé et d'autres céréales comme hôte principal (Nasraoui, 2006).

### **3. L'orge (*Hordeum vulgare*) :**

L'orge (*Hordeum vulgare*) est l'une des céréales les plus anciennement cultivée. L'espèce la plus cultivée est : *Hordeum vulgare*. Sa distribution est très large va de pair avec une diversification morphologique et adaptation très étendue. C'est une espèce très rustique et peut donc être cultivée dans les zones marginales à sol plus ou moins pauvres, là où le blé ne peut donner de résultats satisfaites. En outre, cette espèce est assez intéressante compte tenu de sa tolérance au sel et à la sécheresse (Bouzidi, 1979).

L'intérêt de l'orge réside dans le fait qu'elle peut donner un bon fourrage d'hiver et en même temps produire du grain sur les repousses après écimage (Janati, 1990). La graine et le foin d'orge sont utilisés pour l'alimentation animale, sert à l'engraissement du bétail quant à la paille, elle lui sert de litière (Josine, 2006).

#### **3.1 Production de l'orge en Algérie**

L'orge est la 2<sup>ème</sup> céréale cultivée après le blé, en Algérie. L'orge occupe avec le blé dur 80% de la surface ensemencée en céréales chaque année. Elle reste un pays importateur de toutes les céréales malgré la place importante qu'occupe ces dernières, de fait qu'elles servent de base à l'alimentation humaine (Boughedid et Filali, 2015).

#### **3.2 L'importance de l'orge**

L'orge a de nombreuses utilisations, y compris les aliments pour le bétail et le fourrage, les aliments pour les humains et les boissons au malt. L'orge utilisée pour le maltage doit respecter les spécifications relatives à la germination, à la taille et au poids des grains, aux protéines céréalières, à l'activité de plusieurs enzymes et à de nombreux autres caractères. L'orge destinée au bétail et à l'alimentation humaine fait l'objet de beaucoup moins de restrictions, mais elle est également essentielle à l'utilisation des cultivars (Horsley *et al.*, 2009).

### 3.3 Les moisissures pathogènes de l'orge

L'orge peut être ciblée par des agents phytopathogènes d'origine fongique, bactérienne et virale qui provoquent des maladies importantes. Des prospections organisées en Algérie ont permis de recenser les maladies de l'orge les plus fréquentes en particulier la rayure réticulée (*Pyrenophora. teres*) et la strie foliaire (*P. graminea*). Leur incidence varie entre 11 et 80%. Quant aux autres maladies telles que l'oïdium, la rouille brune et le charbon nu leur incidence et leur sévérité sont plus faibles (Sayoud et Benbelkacem, 1996).

### 3.4 Les maladies cryptogamiques du l'orge

#### 3.4.1 Rhynchosporiose (*Rhynchosporium secalis*)

C'est la maladie majeure de l'orge (Figure 1). Elle est favorisée par le temps frais (12 à 14 degrés) et humide. Elle se développe sur les feuilles qui restent mouillées pendant de longues périodes de temps. Le degré d'infection est habituellement le plus élevé tout juste avant et durant l'épiaison (Lacroix, 2008).



**Figure 1:**Taches provoqués par *Rhynchosporium secalis* (Bafs, 2008)

### 3.4.2 Fusariose (*Fusarium graminearum*)

La fusariose est l'une des maladies provoquée par *Fusarium graminearum* où les symptômes sont décelables peu après la floraison (Figure 2). Le champignon peut s'attaquer à la totalité ou à une partie de l'épi. Le blanchiment des épis où la fusariose apparaît de 3 à 5 jours après l'infection (Difallah *et al.*, 2009).



**Figure 2:**Taches provoqués par *Fusarium graminearum* (Lauzon *et al.*, 2007).

### 3.4.3 Strie foliaire (*Pyrenophora graminea*)

*Pyrenophora graminea* (anamorphe : *Drechslera graminea*) est transmis par les semences des stries longitudinales de couleur jaunâtres puis brunes se développent à partir de la base de la feuille (Bouakaz et Oussaid, 2013). L'épiaison est médiocre et les grains sont mal remplis (Figure 3). Elle attaque les cultures d'hiver et de printemps (Difallah *et al.*, 2009)



**Figure 3:**Taches provoquées par *Pyrenophora graminea* (Bouakaz et Oussaid, 2013).

#### **4. Le maïs (*Zea mays*)**

C'est la céréale la plus riche en énergie grâce à sa teneur élevée en amidon qui constitue 72 à 73 % de son poids et en matière grasse et les animaux en raffolent (Ngom, 2004).

Les autres glucides sont des sucres simples présents sous forme de glucose, de saccharose et de fructose dans des proportions allant de 1 à 3% du grain ; c'est pourquoi est très apprécié en alimentation animale (environ les deux tiers globalement). En générale le maïs est consommée frais comme un repas principal mais les grains séchées sont consommées sous forme de farine et des produits alimentaires de seconde transformation en fonction des résultats escomptés en élevage, la couleur du grain est généralement prise en compte (Gouache, 2002).

##### **4.1 L'importance du maïs**

La semoulerie, qui sépare l'amidon farineux du germe, produit des farines spéciales, des semoules, des flocons à partir de l'amidon et une huile riche en vitamine E et F à partir du germe. L'amidonnerie quant à elle transforme par hydrolyse l'amidon en divers produits avec le glucose comme dérivé ultime. Ce glucose est utilisé en biscuiterie, en confiserie et en pharmacie. Au-delà de l'industrie agroalimentaire le maïs intervient également dans l'industrie de la fabrication de l'éthanol, des colles industrielles, des textiles, le papier, les boues de forage pour le pétrole, les matières plastiques biodégradables etc...(Dongmo, 2009).

Le maïs a été déjà utilisé comme plante piège dans certaines cultures pour contrôler les populations de la noctuelle *Helicoverpa zea* (cas du soja en Maryland aux Etats Unis) (Tipping *et al.*, 2005) et de la mouche du melon *Bactrocera cucurbitae* (Ebeling *et al.*, 1953, Nishida et Bess 1957).

## 4.2 Les maladies cryptogamiques de maïs

### 4.2.1 Charbon commun

Le champignon responsable *Ustilago maydis* conduit à l'apparition possible de tumeurs (excroissances) blanchâtres persistantes remplies de spores noires sur toutes les parties aériennes (Figure 4). Les facteurs qui favorisent cette maladie sont les résidus de récolte infectés, présence d'oscinies (mouche de Frit), travail minimum du sol, blessures des plantes (grêle, sarclage). Généralement, non toxique pour le bétail en cas de forte attaque (> 30 % des plantes) (Munkacsi *et al.*, 2007).



**Figure 4:** Maïs infecté par *Ustilago maydis* (Agridea.2017)

### 4.2.2 Fusarioses de la tige et des épis

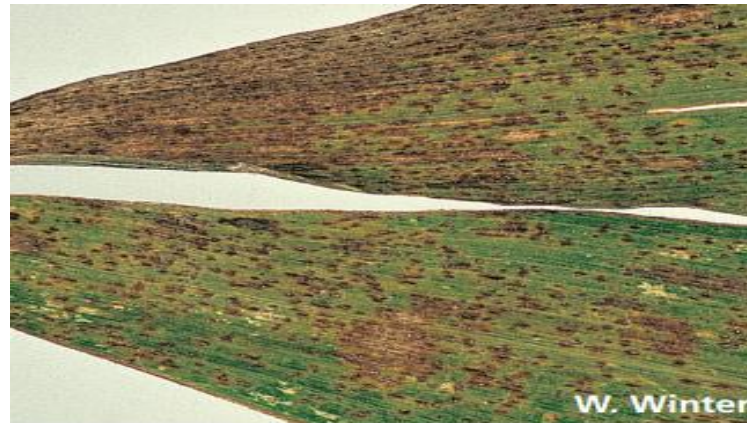
Le champignon responsable *Fusarium spp* conduit à l'apparition sur les plantules, taches brunes, diffuses à rayées sur racines et coléoptiles, entre-nœuds inférieurs décomposés et remplis de mycélium blanc-rose ou nœuds mous et bruns selon l'agent pathogène (Figure 5). Les facteurs qui favorisent cette maladie sont soit précédent maïs ou résidus de récolte infectés hivernant en surface (Kang et Duchenaer, 2002).



**Figure 5:** Fusariose de la tige et des épis (Agridea.2017)

### 4.2.3 Rouille du maïs

Le champignon responsable *Puccinia sorghi* conduit à l'apparition des pustules brunes de 1 mm sur les feuilles inférieures et ensuite sur toutes les parties aériennes de la plante (Figure 6). Les facteurs qui favorisant cette maladie sont soit les régions chaudes et humidité élevée ou sol infecté (Berquist et Masias, 1974).



**Figure 6:**Rouille du maïs sur les feuilles (Agridea, 2017)

### 4.2.4 Rhizoctone (*Rhizoctonia solani*)

Le champignon causal dans cette maladie est, *Rhizoctonia solani* lors de l'étape 6-5 feuilles, les racines apparaissent des taches brun foncé. En provoquant un champignon dans les feuilles sèches) branches feuillues (et continue cette sécheresse jusqu'à la fin du cycle de vie des plantes. Les spores conserve dans les restes de plantes, racines, les mauvaises herbes ou de la terre (Agrios, 1997).

Les principales maladies cryptogamiques des céréales sont mentionnées dans le tableau 1

**Tableau 1:** principales maladies cryptogamiques des céréales

Type de céréales	La maladie	Agent responsable
<b>Le blé</b>	- Fusariose	<i>Fusarium spp</i>
	- Charbon de blé	<i>Ustilago segetum</i>
	- Carie du blé	<i>Tilletia carie</i>
<b>L'orge</b>	- Rhynchosporiose	<i>Rhynchosporium secalis</i>
	- Fusariose	<i>Fusarium graminearum</i>
	- Strie foliaire	<i>Pyrenophora graminea</i>
<b>Le maïs</b>	- Charbon commun	<i>Ustilago maydis</i>
	- Fusarioses de la tige et des épis	<i>Fusarium spp</i>
	- Rouille du maïs	<i>Puccinia sorghi</i>
	- Rhizoctone	<i>Rhizoctonia solani</i>

## 5. Les moisissures de stockage des céréales étudiées

Au cours du stockage en silo, se développe une flore composée de champignons moins cellulitiques et plus osmophiles, qui provoque une acidification du substrat ; ce sont essentiellement des *Aspergillus*. (*A. candidus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, des *Eurotium* (*E. amstelodami*, *E. chevalieri*, *E. repens*) et des *Penicillium* (*P. cyclopium*, *P. glabrum*, *spinulosum*, *P. stoloniferum*) dont l'évolution est en fonction de la teneur en eau des graines et des interactions spécifiques. Ces espèces, en prenant de l'extension, éliminent peu à peu les champignons "du champ". Sur les graines très altérées on trouve, au terme de cette évolution, des champignons peu cellulitiques et non osmophiles, appartenant surtout aux *Mucorales* (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus*) (Breton in Larpent, 1990).

### 5.1 Les *Aspergillus*

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophore dressés, terminés en vésicule (Raper et Fennell, 1965).

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. Après 48 heures d'incubation, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens, blancs ; après 96 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La majorité des *Aspergillus* poussent à 22-25°C ; les espèces thermophiles (*A. fumigatus*) se développent à 37-40°C est parfois jusqu'à 57°C (Badillet *et al*, 1987).

### 5.2 Le *Penicillium*

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt, 1988).

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune.

### 5.3 Les *Fusarium*

Ce genre inclue des champignons imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes.

Le genre comprend près de 40 espèces souvent largement répandues (Nelson *et al.*, 1983) ; poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C. Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces.

### **CHAPITRE III : ANALYSES MYCOLOGIQUES**

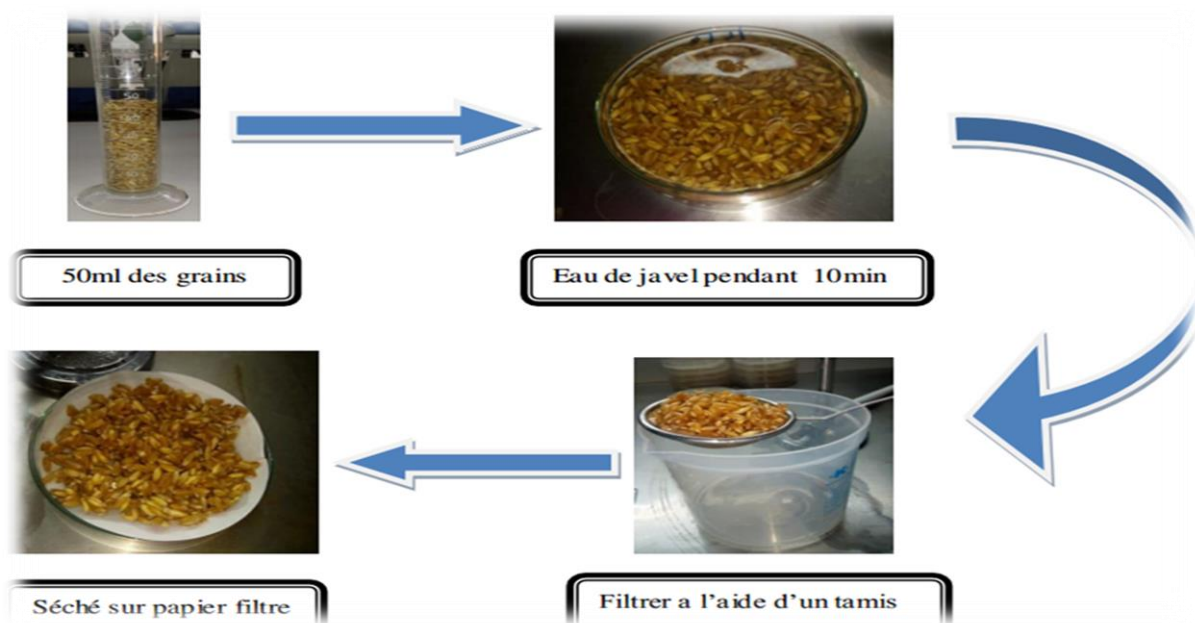
## 1. Echantillonnage et prélèvement

D'après Michel (2008) l'échantillonnage qui vise à confectionner à partir d'un lot de produit plus ou moins important (quelque quintaux à plusieurs milliers de tonnes) un échantillon réduit représentatif du lot dont la taille va de quelque kilogrammes (échantillon pour laboratoire). Les trois échantillons des céréales (blé, maïs, orge) ont été prélevés aléatoirement d'un lot vendus sans emballage adéquat et exposés à un environnement chaud et humide. (Sakhari, 2012).

L'échantillonnage est effectué suivant la technique de Motkova *et al.*(2012)qui consiste en la prise de 500g de chaque lot des grains prélevés, au hasard, à l'aide d'une cuillère stérile. Les échantillons sont, ensuite, placés dans des sacs en polyéthylène stériles et scellés puis transférés immédiatement au laboratoire et maintenus à 4°C jusqu'à l'analyse mycologique (El-Shanawany *et al.*, 2005).

## 2. Désinfection de la surface des grains

Cent grammes de chaque échantillon de ( maïs ,orge , blé) sont désinfectés en surface dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1%, pendant une minute(Figure 7) . Après deux rinçages à l'eau distillée stérile, les grains sont séchés avec du papier filtre stérile pour être, ensuite, sélectionné (Figure 8) et ensemencés (Pacin *et al.*, 2002 ; Ghiasian *et al.*, 2004).



**Figure 7:**La désinfection, rinçage et séchage des grains (Mallak, 2017)



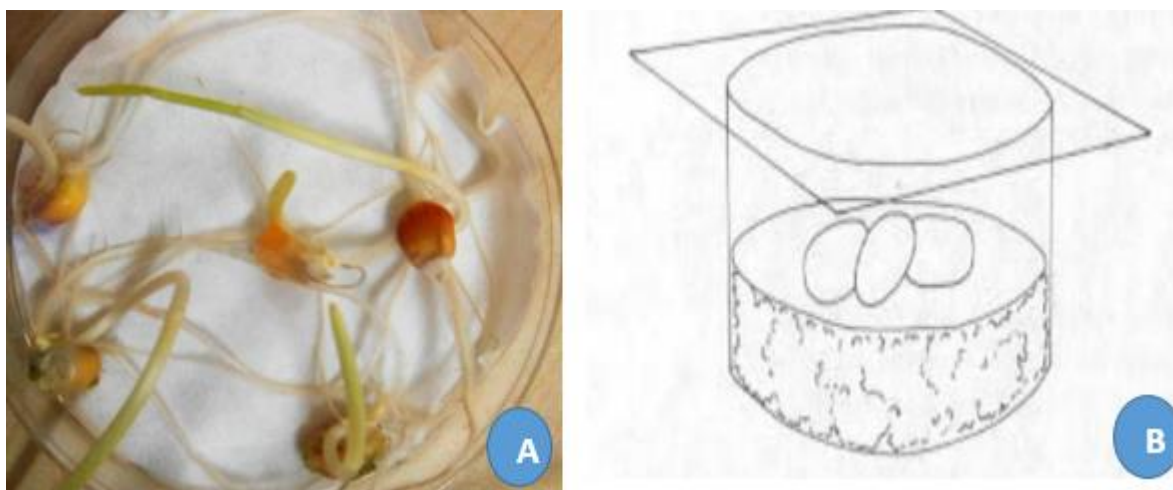
**Figure 8:**La sélection des grains (exemple de blé) (Feradji et Saada, 2018)

### **3. Isolement des mycètes**

Les techniques d'isolement peuvent être divisées en deux grandes catégories : méthodes directes et méthodes sélectives (Davide, 2016).

#### **3.1 Culture directe (la chambre humide)**

Les grains désinfectés sont ensemencés par la technique SFP (filtre paper soaked with NaCl solution) .Cette méthode est proposée pour isoler les moisissures de détérioration des aliments. Sous des conditions aseptiques, les grains désinfectés sont placés directement, à l'aide d'une pince stérile, dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre stérile, imbibé avec 5,5 ml d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 7,5%, stérilisée au préalable, à raison de dix grains par boîte. L'ensemble est incubé à 27°C pendant 4 à 6 jours (Figure 10) (Davide, 2016).



**Figure 9:**(A) Grains de céréales (maïs) germé dans la chambre humide; (B):Schéma de la chambre humide (Davide, 2016) et (Dedi et Diamonde, 2017).

### 3.2 Evaluation de pourcentage de contamination des grains par les champignons et estimation du pouvoir germinatif des grains

Après 6 jours d'incubations des boites, les champignons infectant les grains se sont bien développés dans la chambre humide. De ce fait, nous avons procédé au comptage des grains ayant germés et ceux qui non pas germés et nous avons calculé également le pourcentage de contamination par les champignons. En même temps, nous avons procédé à l'identification des champignons développés sur les grains par un examen microscopique. Le taux de germination ainsi les pourcentages d'infection des grains (céréales) (Feradji et Saada, 2018) ont été calculés les formules suivantes :

- Taux de germination % = Nombre de grains germiné x 100 /Nombre de grains  
ensemencé
- Pourcentage d'infection % = Nombre de grains infecté x 100/Nombre de grains  
ensemencé

### 4. Purification des isolats

Des observations quotidiennes sont effectuées dès la germination des grains et l'apparition de mycélium. Chaque mycélium développé est repiqué, à l'aide d'un fil de platine stérile, au centre de boite de Pétri contenant un milieu PDA neuf jugé comme milieu de choix pour l'isolement des moisissures , additionné de chlorotétracycline (30 mg/1) de pH  $5,6 \pm 0,2$  , puis incubé à  $27^{\circ}\text{C}$  pendant 6 jours. En cas de contamination par autre souche fongique, la purification des souches est effectuée par le repiquage d'un hyphes terminal

au centre de boîte contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures (Guiraud, 2003)

L'isolement peut se faire sur milieu Oatmeal Malt Yeast Agar (OMYA) pour les champignons isolés de maïs (Dedi et Diomande, 2017).

## **5. Conservation des isolats**

Les souches pures obtenues sont conservées selon deux méthodes : la méthode de gélose inclinée et la méthode de congélation (Sakhari, 2012)

### **5.1. Gélose inclinée**

Les souches fongiques purifiées sont repiquées sur milieu PDA incliné. Après incubation à 30°C pendant 7 jours, les souches sont stockées à 4°C et un repiquage est réalisé tous les deux mois (Takahashi *et al.*, 2008).

### **5.2. Congélation des cultures sporulées**

Les souches fongiques purifiées sont ensemencées sur milieu gélosé (PDA), puis incubées jusqu'à sporulation, une suspension de spores est préparée par raclage de la surface de culture puis conservée à -20°C en présence du glycérol à 20% (Isik *et al.*, 1999).

## **6. Identification du genre des isolats**

L'identification des champignons a commencé une semaine après les premiers repiquages selon Larone (2011).

### **6.1. Identification selon les caractères cultureux (macroscopiques) :**

L'identification est fondée sur la technique de Pitt et Hocking (1997) selon les caractéristiques suivantes :

- **Diamètre de colonie** : On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètres sur le fond de la boîte.
- **L'aspect des colonies** : qui représente un critère clef d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.
- **La couleur des colonies** : c'est un élément très important d'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir. Les

pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) (Botton *et al.*, 1990).

## **6.2. Identification selon les caractères (microscopiques) :**

Les moisissures isolées sélectionnée ont été soumises à une identification microscopique réalisée par une observation au grossissement X40 et X100.

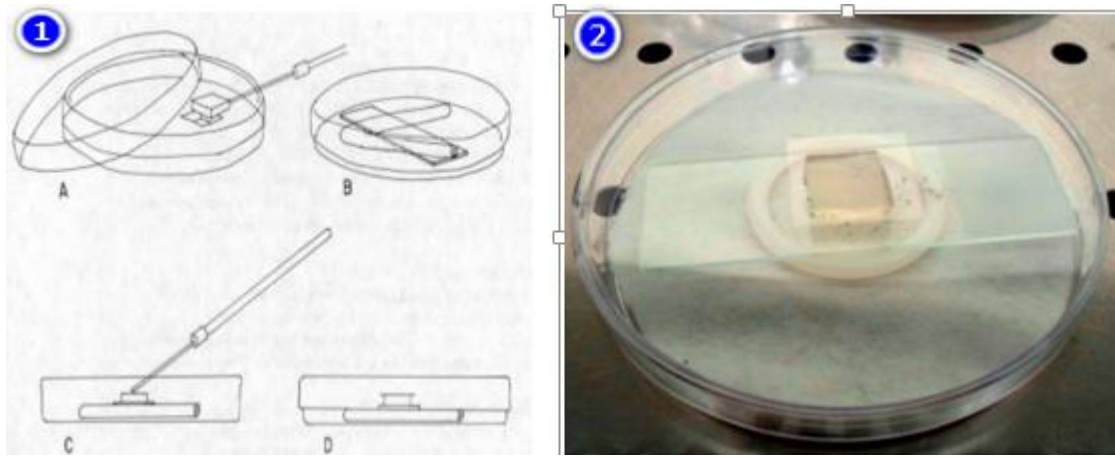
**les caractères microscopiques :** hyphes cloisonnés ou non, type et apparence du système sporal, caractéristiques de la spore asexuée (couleur, taille, septation) et des conidies de fructification, etc) (Guiraud, 2003). Les isolats sont examinés au microscope en tant que frottis humides ou en culture sur la lame ou la technique de scotch.

### **6.2.1. Le frottis humide :**

Une aiguille d'inoculation est utilisée pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les structures conidiogènes. L'échantillon est prélevé sur la bordure de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif. Une goutte de lactophénol est ajoutée à la préparation qui est recouverte délicatement d'une lamelle (Nguymen, 2007). En outre, l'utilisation d'un microscope à fluorescence a permis la prise en photo du mycélium. Les isolats fongiques sont identifiés selon le manuel de Botton *et al.* (1990).

### **6.2.2. La culture sur la lame :**

Les cultures sur la lame sont faites en installant une petite chambre humide de boîte de Pétri contenant un morceau de tube de verre en forme de V reposant sur plusieurs couches de papier filtre humidifié (Figure 10). Un bloc stérile de milieu d'agar d'environ 1 cm carré est placé sur une lame de microscope stérilisée à la flamme et la lame est ensuite placée dans la chambre humide sur la tubulure. Le champignon est inoculé près des quatre bords du bloc d'agar et un recouvrement stérile est placé dessus. Après quelques jours, la lame peut être montée sur un microscope, et les structures non perturbées de la moisissure vue comme elles grandissent. Plus tard, si désiré, le bloc d'agar peut être retiré de la lame et deux supports de lame conventionnels fabriqués à partir d'eux. Si on les laisse sécher avant que cela ne soit fait, les structures de la moisissure sont moins susceptibles de se briser (Davide, 2016).

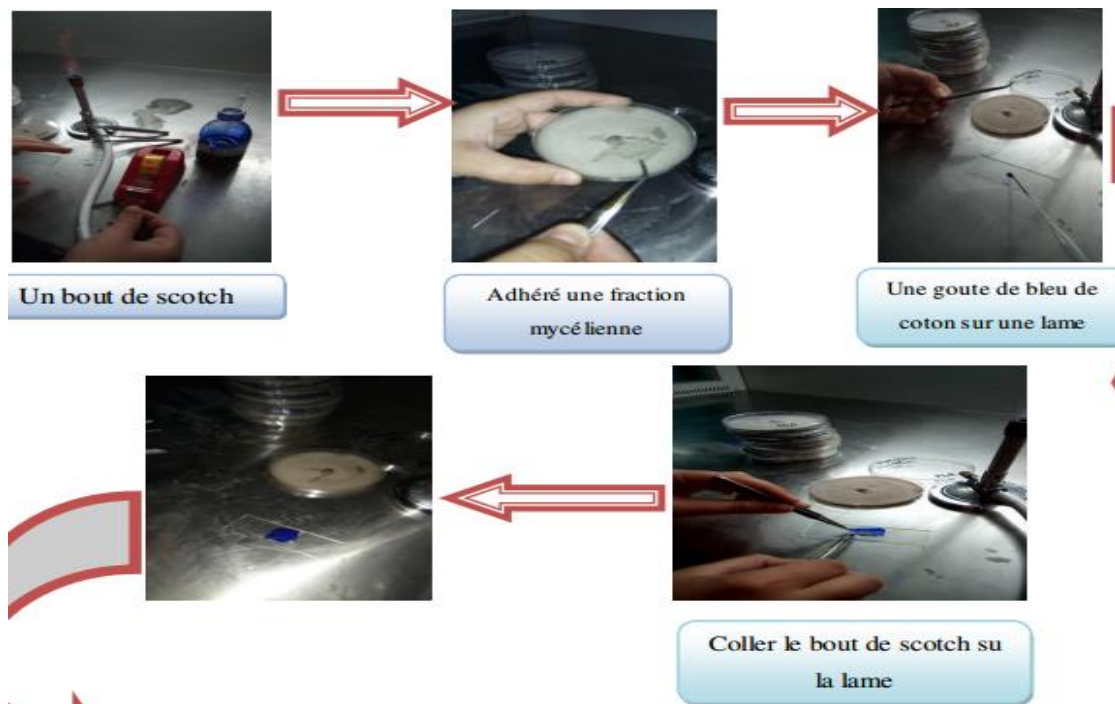


**Figure 10:**(1) : Technique de culture sur lame ;(2) culture sur lame préparé (Meghazi, 2015).

Technique de culture sur la lame. Un bloc d'agar stérile est découpé dans une boîte de Petri (A) et placé sur une lame stérile reposant sur un tube de verre courbé dans une boîte de Petri stérile (B). Quelques spores d'un champignon sont inoculées sur les bords du bloc stérile d'agar (C) et surmontées d'un couvercle en verre (D) pour l'incubation. Un disque de papier filtre humide dans le plat maintient l'humidité pour la culture.

### 6.2.3. La technique de scotch

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant une goutte de bleu de coton (Chabasse, 2002). Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements  $\times 10$  et  $\times 40$  à l'aide d'un microscope type Motic digital microscope (Figure 11).



**Figure 11:** Application de technique e scotch (Mallak, 2017).

## **CHAPITRE IV : RESULTATS ET DUSCUSSION**



## 1. Résultats


### 1.1 Résultats d'isolement des moisissures de stockage des céréales

Après 7 jours d'incubation les moisissures apparaissent autour les grains de céréales (maïs) ont étéensemencées sur le milieu OMYLA et (blé, orge)ensemencées sur le milieu PDA.

L'analyse à l'aide d'une loupe oculaire des biotes a permis de distinguer dix isolats différents distribués comme suit .Les résultats obtenus, ont été rassemblés dans le tableau (2) ci-dessous.

**Tableau 2:** Le nombre de champignons isolés à partir de chaque type de céréales.


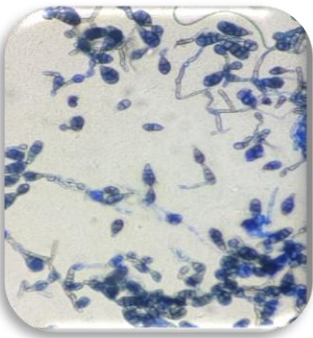
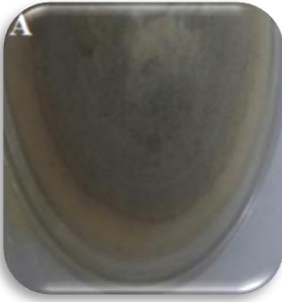

céréale	Le nombre des isolats	Figure de boîte Pétri
<b>Le blé</b>	<b>4 isolats</b>	 <p><b>Photographie1:</b> les isolats de blé.(originale)</p>
<b>Mais</b>	<b>3 isolats</b>	 <p><b>photographie 2:</b> les isolats de maïs. (Dedi et Doimonde, 2017)</p>

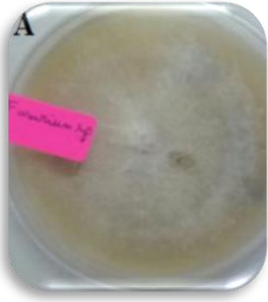



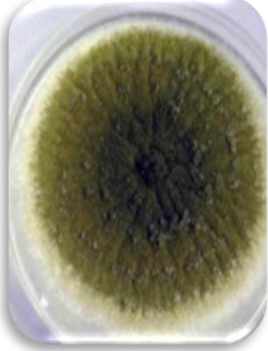

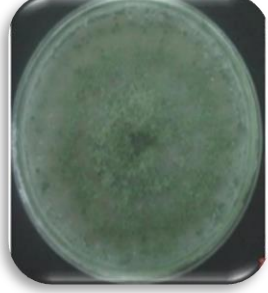



l'orge	3isolats	 <p><b>photographie 3:</b> les isolats de l'orge (Mallak, 2017)</p>
--------	----------	---


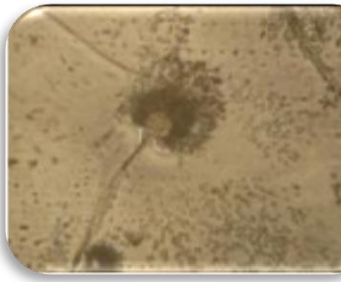
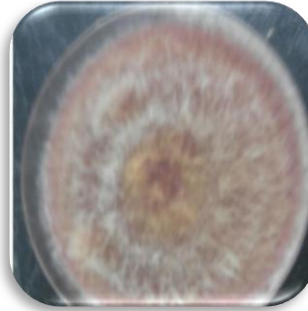
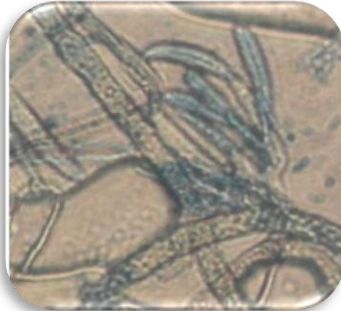
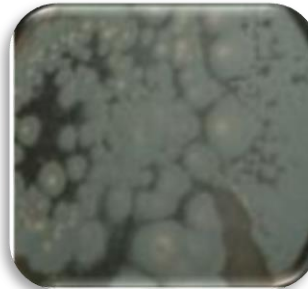
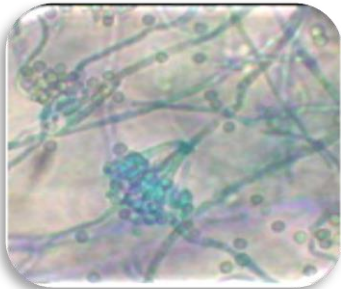
### 1.2 Résultats d'identification des genres des isolats

La purification et l'observation macroscopique et microscopique de dix champignons isolée permettre de définir six souches fongiques motionné dans le tableau (3) :

**Tableau 3:** Identification macroscopique et microscopique des isolats obtenus

céréale	Les isolats	Nome de la souche	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
	Isolat 1	<i>Alternaria alternata</i>		
	Isolat 2	<i>Aspergillus flavus</i>		

Le blé	Isolat 3	<i>Fusarium solani</i>		
	Isolat 4	<i>Penicillium sp</i>		
Maïs	Isolat 1	<i>Aspergillus flavus</i>		
	Isolat 2	<i>Penicillium sp</i>		
	Isolat 3	<i>Fusarium oxysporum</i>		

L'orge	Isolat 1	<i>Aspergillus flavus</i>		
	Isolat 2	<i>Fusarium sp</i>		
	Isolat 3	<i>Penicillium sp.</i>		

### 1.3 Description des isolats obtenus

La description des champignons obtenus est très essentielle pour l'identification s'en basent sur les clés d'identification de Rémi et al. (1997) ; Botton et al. (1990) et Pitt (1985).

**Tableau 4:** La description d'aspect macro/microscopique des isolats obtenus

Le nombre d'isolat	Les souches isolées	Description d'aspect macroscopique	Description aspect microscopique
Isolat 1	<i>Alternaria alternata</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonie : noire, vert et duveteuses</li> <li>• Elles présentent une texture épaisse.</li> </ul> [D'après les clés d'identification de Rémi et al. (1997) ]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mycélium cloisonné</li> <li>• Conidies en chaînes simples ou ramifiées, brunes, irrégulières</li> <li>• rostre apical court mais bien différencié.</li> </ul>

Isolat 2	<i>Aspergillus flavus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonies duveteuses à poudreuses</li> <li>• d'abord blanches, puis vert-jaunâtre. Le revers est incolore.</li> </ul> <p>[D'après les clés d'identification de Rémi <i>et al.</i> (1997)]</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thalle cloisonné</li> <li>• Hyphe porte un sporocyste</li> <li>• Conidies globuleuses à sub-globuleuses <ul style="list-style-type: none"> <li>- Couleur verte</li> <li>- verruqueuses</li> </ul> </li> </ul>
Isolat 3	<i>Fusarium solani</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonies blanches à crème cotonneux</li> </ul> <p>[D'après les clés d'identification de Botton <i>et al.</i> (1990)]</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Macroconidies formé à partir de conidiophores <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ramifiés</li> <li>- Multiples</li> <li>- Courtes</li> </ul> </li> <li>• Microconidies cylindriques cloisonnés</li> </ul>
Isolat 4	<i>Penicillium sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• des colonies de couleur vert-bleuâtre (la couleur des phialides) et un aspect velouté.</li> </ul> <p>[ Selon Pitt (1985)]</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thalle formé de filament mycélien septés</li> <li>• Conidiophores septés et groupés en faisceaux lâches ou en agrégats corémies bien individualisé</li> </ul>
Isolat 1	<i>Aspergillus flavus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• colonie est granuleuse, vert jaune à vert olive</li> <li>• floconneux plus dense vert le centre et lâche en périphérie.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conidies globuleuses</li> <li>• les conidiophores sont longs et abondants</li> </ul>
Isolat 2	<i>Penicillium sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonie de couleur verte avec du blanc par endroit.</li> <li>• d'aspect poudreux et granuleux qui envahit rapidement toute la boîte</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• conidies globuleuses en chaîne, en amas ou isolé.</li> <li>• Le conidiophore est ramifié et non septé</li> </ul>

Isolat 3	<i>Fusarium oxysporium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonie duveteuse peu développée veloutée avec un aspect floconneux.</li> <li>• La sporulation présente un aspect blanc, coloré de violet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mycélium septé.</li> <li>• Les microconidies sont Abondantes</li> </ul>
Isolat 1	<i>Aspergillus flavus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonie est crème jaune granuleux moins dense</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conidies sont globuleuses, les conidiophores sont longs et abondants</li> </ul>
Isolat 2	<i>Fusarium sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonies : floconneuses sont au début rose et après rouge à pourpres</li> <li>• Le revers est rouge à Pourpre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les macroconidies sont fusiformes,</li> <li>• La cellule terminale est longue et pointue</li> </ul>
Isolat 3	<i>Penicillium sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• colonies vert bleu moins dense avec des center plus claire à blanc</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conidies sont nombreuses, globuleuses en chaîne, en amas ou isolé.</li> <li>• Le conidiophore est ramifié et non septé</li> </ul>

## Discussion

Les conditions de récolte des grains et surtout celles de stockage ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que le facteur temporelle lié au stockage (Belkacem-Hanfi *et al.*, 2013).

Les résultats d'isolement démontrent une charge fongique élevée sur le blé, le maïs et l'orge. Cette flore fongique est composée par 4 genres de moisissures réparties en deux groupes ; ceux appartenant à la flore du champ (*Fusarium*, *Alternaria*) et ceux appartenant à la flore post-récolte. Cette dernière est représentée essentiellement par une seule espèce d'*Aspergillus* et *Penicillium*. Les résultats que nous discutant obtenues par (Dedi et Doimonde, 2017) sur le maïs en Côte d'Ivoire et sur le blé par (Louiz et Hajaissa, 2018), (Mallak, 2017) et sur l'orge par (Boughadid et Filali, 2015) en Algérie.

Pour mettre en évidence quelques espèces de moisissures, nous avons opté pour une identification sur critères morphologiques. Cette dernière s'avère longue et fastidieuse et nécessite une expérience confirmée. De plus, les caractéristiques morphologiques et physiologiques sont influencées par les conditions de culture et peuvent amener à de mauvaises identifications (Diguta, 2010). L'observation des caractères morphologiques est faite par un examen microscopique soigneux aux divers stades du développement de la moisissure. Cet examen ne pourra, le plus souvent, être réalisé que si la moisissure a été isolée et cultivée sur un milieu de culture gélosé qui lui convienne.

Les milieux PDA et OMYLA utilisés au cours de cette étude avait été décrit par plusieurs auteurs pour l'isolement des moisissures contaminants les aliments (Gacem, 2011; Dedi et Doimonde, 2017)

Les genres *Aspergillus* et *penicillium* présentent une fréquence d'apparition élevée sur la majorité des échantillons analysés. Ce sont des champignon très fréquents, dans le sol et l'air, très sporulant, dotées d'un grand pouvoir de dissémination cela pourrait expliquer la forte présence de ce genre ; plus que les conditions (taux d'humidité et la température très élevée) y sont favorables à ses croissance. A cela s'ajoute les manquements aux bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène par transformateurs. Il faut souligner la grande dominance d'*Aspergillus flavus*. Il faut donc dire que leur présence dans le stock de cette céréale destiné à faire partir de la préparation de l'aliment composé posera des problèmes aux volailles compte tenu du fait que ce champignon produit une toxine redoutable l'aflatoxine dans les graines avant et après la récolte (Dedi et Doimonde, 2017) dans presque toutes les semences

de culture stockées et cette dernière est un carcinogène puissant fortement réglementé dans la plupart des pays (Klich, 2007).

L'autre espèce *Alternaria Alternata* isolée d'échantillon de blé analysé appartient aux genres *Alternaria* est naturellement présents sur les cultures au niveau des champs et dans le sol (Withlow *et al.*, 2001). La présence de ce genre *Alternaria* dans le blé semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon. Ces mêmes résultats ont été constatés par Weindenborner (2000).

Le genre *Fusarium* , présent également dans les échantillons analysés, Selon Tabuc (2007), c'est un contaminant des champs qui affecte les produits agricoles avant et pendant la récolte. Ce champignon, ferait partie des champignons microscopiques capables d'infecter les plantes et certains aliments d'origine animale. Sa présence en Europe représente une préoccupation majeure pour les filières céréalières à cause de sa capacité à produire des mycotoxines .Il faut souligner la présence de la souche *Fusarium oxysporum* sur le maïs.

## **Conclusion**

## Conclusion

Dans notre travail nous avons étudiées l'ensemble des maladies cryptogamiques rencontrées chez trois types de céréales (le blé, l'orge et le maïs), et aussi les méthodes d'isolement et d'identification des agents pathogènes affectant les cultures céréalières.

Il y a une interaction entre la céréale (l'hôte) et l'agent pathogène (le champignon), cette interaction liée à plusieurs conditions physico-chimiques de température, d'humidité et aux conditions d'entreposage.

Les moisissures provoquent la perte de champ lâché et de tonnes de céréales avant ou après la récolte. Lorsque les facteurs de l'humidité et de la température sont optimaux le taux d'infection est plus élevé donc le risque de perdre le produit augmente.

Les résultats d'isolement d'agent causal de cette infection à partir des grains de céréales montrent qu'il y a une diversité des caractères macro et microscopiques. Les isolats obtenus sont :

- Pour le blé : *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *Penicillium sp.*
- Pour le maïs : *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Fusarium oxysporium*.
- Pour l'orge : *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*

L'intervalle de température qui favorise la croissance est défini comme suit :

- Pour le *Penicillium* : 20-27°C ; Pour l'*Aspergillus* : 22-25°C ; Pour le *Fusarium* : 22-37°C

Ces isolats se différencient en couleur et en aspect macroscopique, il y a des colonies blanches, vertes, bleu vertes, jaune et parfois vert d'olive selon le genre. D'ailleurs, les aspects microscopiques sont aussi distinctes dont il y a des moisissures ; filamenteuses présentant de thalle et conidiophores et des conidies globuleuses et sub-globuleuses de caractéristiques différentes d'un champignon à un autre.

En effet, le défi le plus important c'est d'être capable d'exploiter ces résultats *in vivo*, avec un risque moindre de contamination ou encore de changement de la qualité de nos aliments (céréales).

## Références bibliographique

- AGRIOS, G. N.** (1997). Control of plant diseases. *Plant pathology*, vol. 5, no 3, p. 295-357.
- ASSOCIATION FOR THE DEVELOPEMENT OF AGRICULTURE AND RURAL AREAS (AGRADEA).** (2017) (en ligne). [www.agridea.ch](http://www.agridea.ch) , consulte en 2018.
- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W., BLACKWELL, M.** (1996). *Introductory mycology* .4<sup>ème</sup> éd. USA : Wiley.880 pages.
- BADILLET, G., BIEVRE, C., et GUEHO, E.** (1987).*Champignons contaminants des cultures*. : Champignons opportunistes. Atlas clinique et biologique. Varia. p 132-216.
- BELKACEM-HANFI, N., Semmar, N., PERRAUD-GAIME, I., CHERNI, M., CHERIF, I., BOUDABOUS, A., GUESMI, A. Et ROUSSOS, S.** (2013). Spatio-temporal analysis of post-harvest moulds genera distribution on stored durum wheat cultivated in Tunisia. *Journal of Stored Products Research*, vol 55, p.116-123.
- BENNETT, J. W. et KLICH, M.** (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology review*.vol.16, no.3, p. 497–516.
- BERGQUIST, R et MASIAS, O. R.** (1974). Physiologic specialization in *Trichometasphaeria turcica* f. sp. Zeae and *T. turcica* f. sp. Sorghi in Hawaii. *Phytopathology*, vol. 64, no 5, p. 645-649.
- BOTTON, B, BRETON, A., FÈVRE, M., GAUTHIER., GUY, P. ; JEAN-PAUL**
- BOUGHEDID, K et FILALI, M.** (2015).Isolement et identification de champignons antagonistes de champignons phytopathogènes de l'orge.67 pages. Mémoire de master. Biotechnologie des mycètes, fermentation et production de substances fongiques, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Frères Mentouri, Constantine. Algérie.
- BOUKAZE.K et OUSSAID Y.** (2013). Reconnaissance et identification des principales maladies cryptogamiques du blé et de l'orge. Institut national de la protection des végétaux. ISBN : 978-9961-9523-1-3.P.8.19.23.26.25.27.
- BOUZIDI, H.,** (1979) : Généralité. Revue trimestriel scientifique et technique d'information, Institut de développement des grandes cultures, Alger. 32 p.

- DEDI, J K É et DIOMANDE, B Y.** (2017) Caractérisation de la mycoflore de grains de maïs (*Zea mays*) destinés à la préparation d'aliments composés pour la volaille. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 11, no 6, p.2594-2603.
- DIGUTA, C. F.,** (2010).Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisins. 154p.Thèse de Doctorat. Univ. De Bourgogne, Institut universitaire de la vigne et du vin. France.
- DONGMO, J C.** (2009). Performances des hybrides variétaux et top-cross de maïs (*zea mays* l.) sur sols acides de la zone forestière humide du Cameroun.mémoire, université de Yaoundé I – DESS .Inter. J. Syst. Bacteriol,vol49,p. 833-837.
- EBELING, W., NISHIDA, T, et BESS, H.A.** (1953). Field experiments on the control of the melon fly. *Dacus cucurbitae*. *Hilgardia*.vol.21, no.17, p.563-591.
- EZZAHIRI, B** (2011). Les maladies du blé : identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. *Transfert de technologie en agriculture*, vol. 77, no.77, p. 1-4.
- FEILLET, P.** (2000). *Le grain de blé : composition et utilisation*.1ere éd. Paris Editions Quae.308 pages.
- FERADJI, KH et SAADA, I.** (2018). Diagnostic des maladies cryptogamiques rencontrées chez le blé durant la campagne agricole 2017/2018 dans la région de Bouira. Etude de la mycoflore associée à la semence de blé. 65 Pages .mémoire de master, Protection des végétaux, faculté de sciences de la nature et la vie Université de AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA.
- FORGET-RICHARD, F ; OSWALD, I.**(2012).Mycotoxines : quelles avancées scientifiques pour une meilleure maîtrise des risques .*Innovations Agronomiques*, Vol.24, p.17-33.
- FONTAINE, L., ROBIN, N., BRUYÈRE, J., CHEYRON, P.** (2013) Agir rapidement pour contenir la carie commune : exploration de diverses méthodes de contrôle. *Innovations agronomiques*, vol.32, p.35-46.
- GACEM, M A,**(2011)Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. . Thèse de magister- université KASDI MERBAH-Ouargla.
- GALTIER, P, LOISEAU, N., OSWALD, I P et PUEL, O.** (2006) Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.no.1, 12.pages.

- GAY, J. P. et MÉNETRIER, M. A.** (1978). *Développement et croissance chez le maïs*. Pau [FRA] : AGPM Association Générale des Producteurs de Maïs, Paris. Dunod. p 44
- GODON, B.** 1991. Les constituants des céréales : nature, propriétés et teneurs. In : GODON B. *Biotransformation des produits céréaliers*. Ed. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 540 pages.
- GOUACHE.** 2002. Variétés à usages industriels réservés et production en filières : facteurs clés en matière de production de la propriété intellectuelle. C. R. Agric. Fr., **88**(2): 13-22.
- HORSLEY, R. D., FRANCKOWIAK, J. D., et SCHWARZ, P. B.** 2009. Barley. In: *Cereals*. Springer, New York, NY. p. 227-250.
- HUART A.** (2004). Les ingrédients qui composent l'aliment volaille. ECO CONGO F- EPA5-5, vol.12.
- ISIK K., CHUN J., HAH Y.C. and GOODFELLOW M.** (1999). *Nocardia Salmocida* : à fish pathogen.
- JANATI, A.** (1990). Les cultures fourragères dans les oasis, option méditerranéennes séminaires n 11: le système agricole oasisien actes du colloque de Tozeur (19-21 NOV. 1988) CIHEAM. PARIS. pp163-169.
- JOSINE C.,** (2006) : *L'orge au fil de temps, usages culinaire, Ecologie et environnement*. Orge.
- KANG, Z., & BUCHENAUER, H.**(2002). Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue. *European Journal of Plant Pathology* .vol.108, no.7, p.653-660.
- KLICH, M. A.** (2007). *Aspergillus flavus* : the major Producer of aflatoxin. *Molecular plant pathology*, vol.8, no.6, p.713-722.
- KROGH, P.** (1987). Ochratoxin A in food. *Mycotoxins in food*. p. 97-112.
- LACRIOX. M.** (2008). Maladies des céréales et de la luzerne, Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation (QUEBEC), p.26.
- LANZA, F. E., ZAMBOLIM, L., DA COSTA, R. V., QUEIROZ, V. A. V., Cota, L. V., da SILVA, D. D., ... & FIGUEIREDO, J. E. F.** (2014). Prevalence of fumonisin-producing *Fusarium* species in Brazilian corn grains. *Crop Protection*, vol.65, p.232-237.

**LARPENT.** (1990).*Moisissures utiles et nuisibles* : Importance industrielle.2ème éd. France : Dunod 512. (Collection).

**LARONE, D. H.** (2011). *Medical important fungi. A guide to identification*.5ème éd. USA .*American Society for Microbiology*.p.485.

**LARPENT, J-P et LARPENT-G.** (1997).*Mémento Technique de Microbiologie* .3 ème éd. Lavoisier : Londres, New York, Paris. TEC DOC.p1038.

**LESAGE, Véronique.**2011. Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignées quasi-isogéniques.238 pages. Thèse de doctorat. Physiologie et génétiques moléculaire, université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II. France.

**LOUZE, H, HADJAISSA, F, et AOUAR, L.** (2018).Isolement et identification des moisissures de stockage du blé tendre (*Triticum aestivum* L) et blé dur (*Triticum durum* L).57 pages. Mémoire de master, microbiologie appliquée, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Larbi Ben M'hidi, Oum El Bouaghi, Algérie.

**MAHIDEB, N. et MERROUCHE, H.** (2015).Étude des moisissures potentiellement productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non traités).69pages. Mémoire de master, Biotechnologie des Mycètes, Faculté des Sciences de la Nature *et* de la Vie, université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

**MALLEK, H.** (2017). Contribution à l'étude de la mycoflore associée aux grains de blé et d'orge dans la wilaya de Bouira.54 pages. Mémoire de master, santé des plantes, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences agronomiques de la terre. Université de Akli Mohand Oulhadj, Bouira.

**MALLOCH, D.** (2016), (en ligne) ,149 p. Disponible sur <http://www.en.psilosophy.info> , consulte en 2019.

**MERABTI, R.** (2015) Blé dur fermenté lemzeiet : étude du nouveau procédé de fermentation à l'extérieur du matmor et caractérisation de l'écosystème (interactions du microbiote avec la matrice).173 pages. Thèse de doctorat, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A), Université des Frères Mentouri-Constantine 1.Constantine.Algérie.

**MOTKOVA, P et VYTRÁSOVÁ, J.** (2012). Comparison of methods for isolating fungal DNA. *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 29, no Special Issue, p. S76-S85.

**MUNKACSI, A B., STOXEN, S, et MAY, G.** (2007). Domestication of maize, sorghum, and sugarcane did not drive the divergence of their smut pathogens. *Evolution*, vol.61, no.2, p. 388-403.

**NASRAOUI, B.** (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie du Kef. *Centre de Publication Universitaire*. p 129.

**NGOM, S.** (2004). Ebauche d'un référentiel sur la composition chimique et valeur nutritive des matières premières utilisables en alimentation des volailles au Sénégal. 158 pages. Thèse de troisième cycle de chimie et biochimie. Faculté des sciences. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Sénégal.

**NGUYEN M T, M.**(2007). Identification Des Espèces De Moisissures, Potentiellement Productrices De Mycotoxines Dans Le Riz Commercialisé Dans Cinq Provinces De La Région Centrale Du Vietnam - Etude Des Conditions Pouvant Réduire La Production Des Mycotoxines. 147 pages. Thèse De Doctorat D'université : Génie Des Procédés Et De L'environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique. France.

**PAGEAU, D et FILION, P.** (2009). Fusariose : réduire les risques aux champs. *Journée d'informations sur les mycotoxines*. Consulté le (1er décembre 2009), vol. 21, p. 01-16.

**PERRY, J. J. et STALEY, J. T. Lory S.,** (2004). *Microbiologie*. Edition .France : Dunod vol. 848. p.912. (Collection).

**PFOHL-LESZKOWICZ, A.** (2009). Mycotoxines : facteur de risque de cancers. *Journal africain du cancer*, vol. 1, no. 1, p. 42-55.

**PITT, J. I. et HOCKING, A. D.** (1997). *Fungi and food spoilage*. 2<sup>ème</sup> éd. *Blackie Academic and Professional, New South Wales, Australia*. Sydney. p.593. (Collection)

**PITT, John I. et HOCKING, Ailsa Diane.**(1988). A laboratory guide to common *Penicillium* species. *North Ryde, NSW Australia: CSIRO Food Research Laboratory*.

**PONS-GUIRAUD, A.** (2003) Actualization des effets secondaires des produits de comblement des rides. *Nouv Dermatol*, vol. 22, p. 205.

**RAPER, K B., FENNELL, I., Fennell, P K. Austwick, C.** (1995). *The genus Aspergillus. The genus Aspergillus*. Edition réimprimée. University of Minnesota : Williams & Wilkins. p 686.

**RASTOIN, J-L et BENABDERRAZIK, H.** (2014). Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb : pour un co-développement de filières territorialisées. Region Centrale Du Vietnam - Etude Des Conditions Pouvant Reduire La Production Des Mycotoxines. 147pages. Thèse De Doctorat D'université : Génie Des Procédés Et De L'environnement. Toulouse : Institut National Polytechnique. France.

**SAKHRI, A.** (2012). Isolement des mycètes producteurs de la stérigmatocystine à partir d'aliment (maïs) et étude de son effet toxique sur Wistar albinos. 64 pages. Magister en Biochimie. Faculté des sciences de la nature et de la vie Université de Mentouri. Constantine. Algérie.

**SAYOUD, R. et BELKACEM, K.** (1996). Situation des maladies des céréales en Algérie. In : *Proceeding. Symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires. Actes IAV Rabat, Maroc.* p. 69-70.

**SIOU, D.** (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. 189 pages. Thèse de doctorat. Faculté des sciences de la vie et science du végétale : du gène à l'écosystème. Université de Paris-Sud 11.

**Takahashi J.A., Monteiro de Castro M.C., Souza G.G., Lucas E.M.F., Bracarense A.A.P., Abreu L.M., et al.** (2008). Isolation and screening of fungal species isolated from Brazilian cerrado soil for antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* and *Listeria monocytogenes*. *J. med. Mycol*, vol.18, p.198-204.

**WEINDERBORNE, G.** (2000). Whole wheat and white wheat flour; the mycobiota and potential Mycotoxins. *Food Microbiology*, vol.17: p.103-107

**WILCOXSON, R. D. et SAARI, E. E.** (1996). Smut diseases of wheat. *Concepts and methods of disease management. Mexico, DF CIMMYT.* vi 66 pages.

**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.