

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس  
Université M'Hamed bougara de Boumerdes



## Mémoire

Faculté Des Sciences

Département de Biologie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Mémoire de projet de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Thème :

**Isolement et identification de quelques champignons  
Mycotoxinogènes du blé tendre variété HD et ANZA de la  
CCLS de BLIDA**

Présenté par :

- ✚ BOUINOUNE Fedwa
- ✚ HOUHAT Silya
- ✚ MORSLI Noussaeiba

Examineurs :

AMGHAR FATEH  
ACHEUK FATMA

(PRESIDENT MCA UMBB)  
(EXAMINATEUR PROFESSEUR UMBB)

Encadré par : Mme HALOUANE Fatma

( PROFESSEUR UMBB)

Co-promotrice : Mme BENNACER Amel

( DOCTORANTE UMBB)

Promotion : 2019/2020



## **REMERCIEMENT**

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté de réaliser ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme HALOUANE FATMA, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire. Ainsi que notre Co-promotrice Mme BENNACER AMEL qui nous a vraiment aidé pour réussir notre travail et nous a fourni toutes les informations nécessaires.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.*



# *Dédicace*

*On dédie ce travail :*

*A nos parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer notre respect, notre amour éternel et nos considérations pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre instruction et notre bien-être. On vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous nous portez depuis notre enfance et on espère que votre bénédiction nous accompagne toujours.*

*A*

*Nos sœurs et frères*

*Une spéciale dédicace à ma chère cousine aimé Bouattoura Meriem, et ma sœur Houhat Sara qui m'ont donné un soutien moral ainsi que mon chère amie Belkhir Asma*

*A*

*Oussama Hafi*

*SILYA*

*FEDWA*

*NOUSSA*

## **Table de matières.**

<b>Sommaire</b>	-
<b>Liste des abréviations</b>	-
<b>Liste des figures</b>	-
<b>Liste des tableaux</b>	-
<b>Résumé</b>	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
	<b>02</b>

### **Chapitre I**

#### **Rappel bibliographique**

I.1.Généralité sur le blé tendre	<b>03</b>
I.1.1. Origine du blé tendre	<b>03</b>
I.1.2. Composition biochimique du grain de blé tendre	<b>04</b>
I.1.3. Information sur la plante	<b>04</b>
I.1.4. Classification botanique du blé tendre	<b>05</b>
I.1.5. La récolte	<b>05</b>
I.1 .6. La production en Algérie et dans le monde	<b>06</b>
I.1.6.1. Dans le monde	<b>06</b>
I.1.6.2. En Algérie	<b>07</b>
I.1.7. Les variétés existantes	<b>09</b>
I.2.Les principaux contaminants de stocks	<b>10</b>
I.2.1. Altérations d'origine biologique	<b>10</b>
I.2.2. Micro-organismes	<b>10</b>
I .2 .2.1. Ravageurs animaux	<b>15</b>
A. Rongeurs	<b>15</b>
B. Oiseaux	<b>15</b>
C. Insectes	<b>15</b>
I.3. Influences des contaminants sur la qualité du blé et sur l'économie du pays	<b>16</b>
I .4. Méthodes de lutte contre les microorganismes	<b>17</b>
I .5. Champignons toxigènes	<b>18</b>
I .5 .1. Définition des mycotoxines	<b>18</b>
I.5.2. Effets des champignons et de leurs mycotoxines sur la santé humaine	<b>19</b>

### **Chapitre II**

#### **Matériel et méthode**

I.1.Matériel	<b>21</b>
II.1.1. Matériel biologique	<b>21</b>
II.1.1.1. Variétés de blé tendre échantillonnées	<b>21</b>
II. 1.1.2. Précautions d'échantillonnage	<b>22</b>

II. 1.2. Matériel non biologique	22
II. 2. Méthodes	22
II. 2. 1. Etude physico-chimique du blé tendre sain et altéré	22
II.2. 1.1. Détermination du pourcentage des grains brisés	22
II.2. 1. 2. Détermination de la teneur en eau (humidité)	22
II.2. 1. 3. Détermination de taux de Cendres	23
II.2. 1. 4. Potentiel d'Hydrogène (pH)	24
II.2. 2. Etude mycologique du blé tendre sain et altéré	24
II.2. 2.1. Méthode directe.	24
II.2.2.2. Méthode indirecte.	25
a) Etude macroscopique	27
b) Etude microscopique	28

## **Chapitre III**

### **Résultats et discussion**

III.1. Analyse physico-chimique du blé tendre	29
III.1.1. Détermination du pourcentage des grains brisés	29
III.1.2. Détermination de la teneur en eau (humidité)	30
III.1.3. Cendres totaux	31
III.1.4. Potentiel d'Hydrogène (pH)	31
III.2. Analyse mycologique	32
III.2.1. Isolement des moisissures	32
III.2.2. Identification des souches fongiques isolées	35
III.2.2.1. Etude macroscopique	36
III.2.2.2. Etude microscopique	43
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques</b>	-
<b>Annexes</b>	-

## Listes des abréviations

<b>Q/ha</b>	Quintaux par hectare.
<b>Ha</b>	Hectare.
<b>q</b>	Quintal.
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
<b>U.S.A</b>	United State American.
<b>Kg</b>	kilogramme.
<b>ITGC</b>	Institut Technique des Céréales et des Fourrages.
<b>Qx</b>	Quintal.
<b>A</b>	Aspergillus.
<b>C.C.L.S</b>	Coopérative des Céréales et des Légumes Secs.
<b>°C</b>	Degré Celsius.
<b>pH</b>	Potentiel d'Hydrogène.
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar.
<b>g</b>	Gramme.
<b>ml</b>	millilitre.
<b>var</b>	variété.

## Listes des figures

<b>Figure1</b> : Carte de diffusion de la culture du blé, ( <b>Bonjean, 2001</b> ).	<b>3</b>
<b>Figure 2</b> : Structure du grain de blé ( <i>d'après Surget&amp;Barron, 2005</i> ) <sup>4</sup>	
<b>Figure 3</b> : les stades phrénologiques de blé.	<b>6</b>
<b>Figure 4</b> : Evolution de la superficie des céréales en Algérie ( <b>Série B ; MADRP 2017</b> )	<b>7</b>
<b>Figure 5</b> : Évolution de la production des céréales en Algérie ( <b>Série B ; MADRP 2019</b> ).	<b>8</b>
<b>Figure 06</b> : Évolution des rendements des blés en Algérie ( <b>Série B ; MADRP 2019</b> ).	<b>9</b>
<b>Figure 7</b> : Schéma d'une tête aspergillaire ( <b>Anonyme, 2012</b> ).	<b>11</b>
<b>Figure 8</b> : Schéma d'un pénicille. ( <b>Visagieet al., 2014</b> ).	<b>12</b>
<b>Figure 9</b> : Schéma d'un Fusarium(a) Microconidie ; (b) Chlamidospores( <a href="http://www.telmeds.org">www.telmeds.org</a> ). <sup>13</sup>	
<b>Figure 10</b> : Appareil reproducteur des mucorales ( <b>Dufresne et St-Germain, 2013</b> ).	<b>14</b>
<b>Figure 11</b> : échantillon de blé tendre local HD.	<b>21</b>
<b>Figure 12</b> : échantillon de blé tendre importé ANZA.	<b>21</b>
<b>Figure 13</b> : protocole d'isolement des souches fongique par la méthode de dilution. ( <b>Meghazi, 2015</b> ).	<b>26</b>
<b>Figure 14</b> : variations du pourcentage de grains cassés des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ SEM ( $p < 0.05$ ).	<b>29</b>
<b>Figure 15</b> : Variations du pourcentage du taux moyen d'humidité des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ SEM ( $p < 0.004$ )	<b>30</b>
<b>Figure16</b> : Variations du taux de cendre des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ SEM ( $p < 0.01$ ).	<b>31</b>
<b>Figure17</b> : Variations des valeurs de PH des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ SEM ( $p < 0.05$ ).	<b>32</b>
<b>Figure 18</b> : L'aspect macroscopique des de quelques souches fongiques isolées sur le milieu PDA de l'échantillons ANZA.	<b>33</b>
<b>Figure 19</b> : l'aspect macroscopique des de quelque souche fongique isolées sur le milieu PDA de l'échantillons HD <b>Légende</b> : <b>a</b> : noir, <b>b</b> : vert et <b>c</b> : blanc.	<b>34</b>

**Figure 20** : Pourcentage de contamination de chaque échantillon.

**35**

## Listes des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Évolution de la superficie, production et rendement des blés dans le monde au cours de la dernière décennie. (FAO, 2017).	<b>6</b>
<b>Tableau 2</b> : principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associé	<b>19</b>
<b>Tableau 3</b> : Effets des principales mycotoxines sur l'homme et mécanismes d'action Cellulaires et moléculaires identifiés (d'après AFSSA 2009).	<b>20</b>
<b>Tableau 4</b> : Pourcentage des grains cassés des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD).	<b>29</b>
<b>Tableau 5</b> : Taux moyen d'humidité des échantillons de blé tendre ANZA et HD	<b>30</b>
<b>Tableau 6</b> : Taux de cendre totaux des échantillons analysés (sain et altéré).	<b>31</b>
<b>Tableau 7</b> : La moyenne de PH des échantillons analysés (ANZA et HD).	<b>32</b>
<b>Tableau 8</b> : Codage des souches isolées et purifiées des échantillons ANZA et HD	<b>35</b>
<b>Tableaux 9</b> : Caractères macroscopiques des souches isolées des échantillons de blé tendre ANZA	<b>36</b>
<b>Tableau 10</b> : Caractères macroscopiques des souches isolées des échantillons de blé tendre HD.	<b>38</b>

## Résumé :

Les céréales constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme, en particulier le blé qui est un produit agricole facilement contaminé par les moisissures qui produisent des métabolites appelés mycotoxine. L'objectif de ce travail est l'isolement et l'identification de quelques champignons mycotoxinogènes de blé tendre de variété HD et ANZA de la CCLS de Blida. L'isolement des échantillons de blé tendre sain et altéré a été fait par deux méthodes (direct et indirect). L'identification de ces derniers se base sur l'observation microscopique et macroscopique. 25 isolats fongiques ont été obtenus et identifiés, parmi eux : 10 isolats du genre *Mucors*, 15 isolats de genre *Aspergillus*.

**Mots clés :** blé tendre, identification, isolement, mycotoxine, *Aspergillus*, *Mucors*.

### ملخص:

الحبوب مصدر الغذاء الرئيسي للإنسان وخاصة القمح، الذي يعتبر منتج زراعي يتسم بسهولة عبر القوالب التي تنتج نواتج أيضية تسمى السموم الفطرية لهدف من هذا العمل هو عزل وتحديد عدد قليل من الفطريات السامة الفطرية من صنف القمح اللين HD و ANZA من CCLS في ولاية البليدة. تم عزل عينات القمح اللين الصحية والفاصة بطريقتين (مباشرة وغير مباشرة). يعتمد فيهما على الملاحظة العين المجردة والميكروسكوبية. تم الحصول على 25 عزلة فطرية من بينها: 10 عزلات من جنس *Mucors* (عفنة) و 15 عزلة من جنس *Aspergillus*. (رشاشيات نوع من أنواع الفطريات)

الكلمات المفتاحية: القمح اللين، التعرف، العزل، السموم الفطرية، فطر الرشاشيات، العفنة.

### Abstract:

Cereals have always been the main food source for humans, especially wheat, which is an agricultural product easily contaminated by molds which produce metabolites called mycotoxins. The objective of this work is the isolation and identification of some mycotoxigenic fungi of soft wheat variety HD and ANZA from the CCLS of Blida. The isolation of healthy and spoiled soft wheat samples was done by two methods (direct and indirect). The identification of these is based on microscopic and macroscopic observation. 25 fungal isolates were obtained and identified, among them: 10 isolates of the genus *Mucors*, 15 isolates of the genus *Aspergillus*.

**Keywords:** soft wheat, identification, isolation, mycotoxin, *Aspergillus*, *Mucors*.

# **Introduction**

## Introduction

---

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées, appartenant à la famille des poacées dont les graines présentent par leur abondance et leur composition un pouvoir nutritionnel important et un intérêt majeur pour l'alimentation de l'Homme et les animaux. (**Reed, 1992**). La connaissance des phénomènes régissant leur conservation et la maîtrise des techniques de leur stockage sont déterminantes pour la survie de la population mondiale qui enregistre des taux d'accroissement à peine concevables faisant passer l'humanité de 1,5 milliards d'individus vers 1850 à plus de 7 milliards aujourd'hui. (**Mason et al., 2017**).

Ils fournissent 57 % de protéines consommées contre 23 % apportées par les tubercules et les légumineuses ainsi que 20 % par les produits d'origine animale (**Godon, 1982**).

Parmi les céréales, le blé occupe la première place de la production mondiale et la deuxième après le riz. Comme source de nourriture pour la population humaine ; il assure 15% de ses besoins énergétiques (**Bajji ; 1999**).

La filière blé est une filière stratégique pour l'Algérie, dont la production, reste insuffisante pour satisfaire la demande nationale ; qui ne cesse d'augmenter. A cet effet, la place qu'occupent les importations dans l'approvisionnement du marché de blé, est importante voire nécessaire. (**Godon, 1982**). Et place l'Algérie parmi les plus gros importateurs de blé dans le monde. (**Talamalil, 2000**).

L'altération des céréales durant le stockage a été largement étudiée par (**Tahani et al., 2008**). La contamination fongique compte parmi les principales causes des détériorations des grains des céréales. Concernant la mycoflore, la flore de contamination est due aux souches *Aspergillus* et *Penicillium*. Lors de cette dernière, les paramètres régulant la croissance fongique et qui permettraient la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en microflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité et la température de stockage des grains (**Zia-ur rahman, 2006**).

Les altérations induites par ces flores peuvent mettre en danger la santé du consommateur, à travers la dépréciation du grain sur le plan nutritionnel et hygiénique. Parmi ces altérations, on peut citer les modifications organoleptiques, la perte de matières sèches et enfin la synthèse de métabolites secondaires toxiques tels que les mycotoxines.

## Introduction

---

Les mycotoxines sont responsables d'intoxication aiguës parfois mortelles, notamment chez les animaux d'élevages. L'homme est particulièrement concerné par le risque d'intoxication chronique en raison de la présence dans son alimentation de traces de certains de ces contaminants qui sont génotoxique et cancérogènes.

L'objectif de la présente étude est l'isolement et l'identification de quelques champignons mycotoxinogènes du blé tendre de la variété HD et ANZA de la CCLS de Blida. Nous avons 3 chapitres : 1<sup>er</sup> chapitre rappel bibliographique ; 2<sup>ème</sup> chapitre matériels et méthodes ; 3<sup>ème</sup> chapitre résultats et discussion.

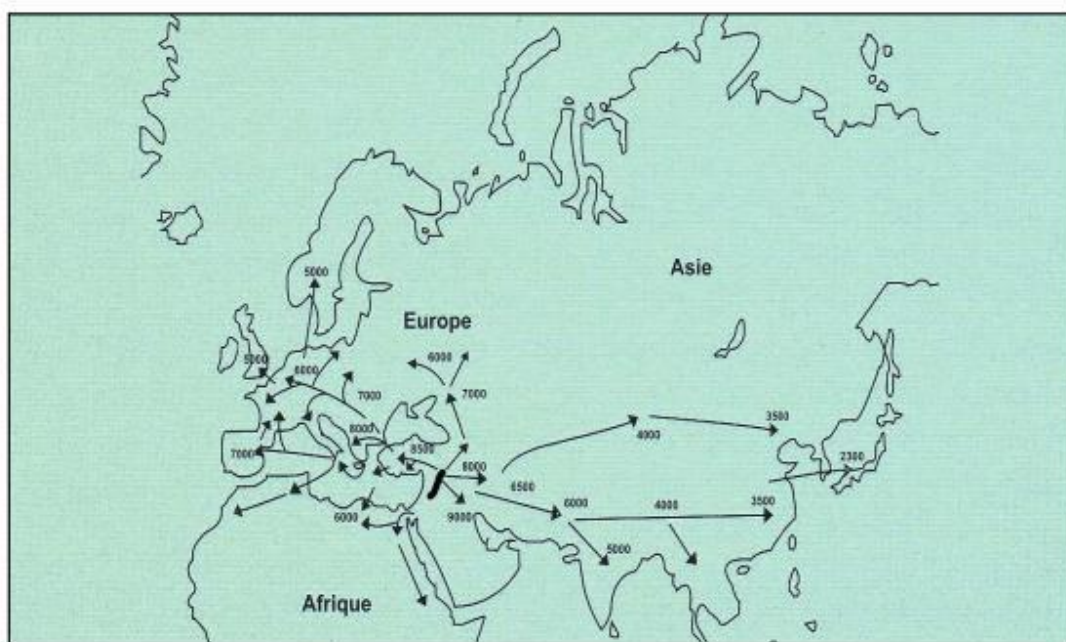
# **Chapitre I**

## **Rappel bibliographique**

## I. 1.Généralité sur le blé tendre :

### I.1.1. Origine du blé tendre :

Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe (**Doussinault et al., 1992**). C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe. La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (**Bonjean, 2001, Boulal et ; al., 2007**).



**Figure1** : Carte de diffusion de la culture du blé, (**Bonjean, 2001**).

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Gramineae. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscents, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments (**Feuillet, 2000**). Le genre *Triticum* appartient à la tribu des Triticées au sein de la famille des Poacées et plus largement au groupe des angiospermes monocotylédones (**Bolot et al., 2009**).

### I.1.2. Composition biochimique du grain de blé tendre :

Le grain de blé est constitué principalement d'amidon (environ de 70%), de protéines (10 à 15%) et de pentosanes (8 à 10%) ; les autres constituants qui se trouvent en quantités faibles, sont les lipides, la cellulose, les sucres libres, les minéraux et les vitamines (Feillet,2000), (Feillet. Pierre., 2000).

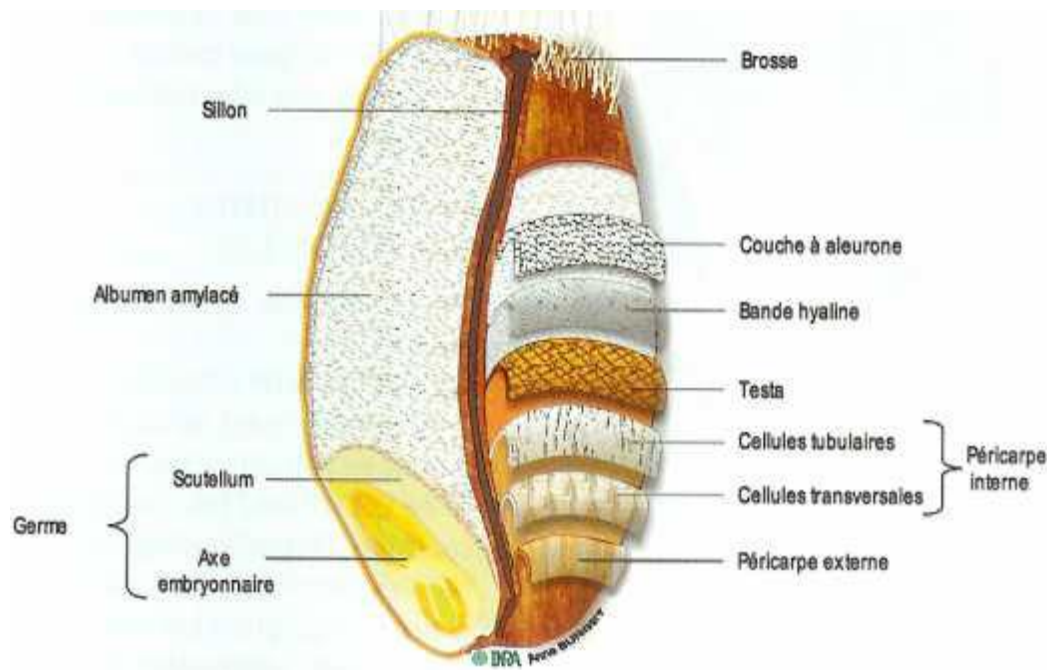


Figure 2 : Structure du grain de blé (d'après Surget & Barron, 2005).

### I.1.3. Information sur la plante :

Céréale appartenant au genre *Triticum*, le blé a suivi le processus naturel de l'évolution. Cette plante annuelle de la famille des graminées existait à l'état sauvage il y a de cela des siècles. C'est une plante herbacée annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs de cette plante sont nombreuses, petites et peu visibles. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. La fleur est cléistogame, c'est-à-dire qu'elle reste fermée, la pollinisation s'effectuant par autogamie qui est le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse. (Armand et Germain, 1992).

**I.1.4. Classification botanique du blé tendre :**

Règne : végétal <i>Plantae</i>
Sous-règne : <i>Tracheobionta</i>
L'embranchement : <i>Magnoliophyta</i>
Classe : <i>Liliopsysda</i>
Sous-classe : comelinidae
Ordre : <i>Cyperales</i>
Famille : <i>Poaceae</i>
Sous-famille : pooideae
Tribu : Triticeae
Genre : <i>Triticum</i>
Espèces : <i>Tritucumaestivum</i>

Blé Tendre. (**Bonneuil et al., 2009**).

**I.1.5. La récolte :**

Le développement du blé tendre d'hiver (figure 3) commence par le semis en automne (Octobre-Novembre) et la germination quelques jours après le semis puis entame sa levée avant l'hiver. Une fois les conditions rassemblées (température, humidité...) le blé va croître et laisser apparaître ses talles pour la fin de l'hiver, on parle de tallage (Février). Les talles (tiges secondaires) commencent à apparaître et entrent en compétition avec les plantes adventices.

Ensuite, la tige principale du blé commence à croître en hauteur, cette étape est appelée la montaison. C'est à la fin de la montaison que les épis se développent et que le blé arrive au stade de l'épiaison (Mai-Juin). Enfin, le plus souvent la moisson du blé se réalise au mois de juillet. (**Deroulers, 2014**).

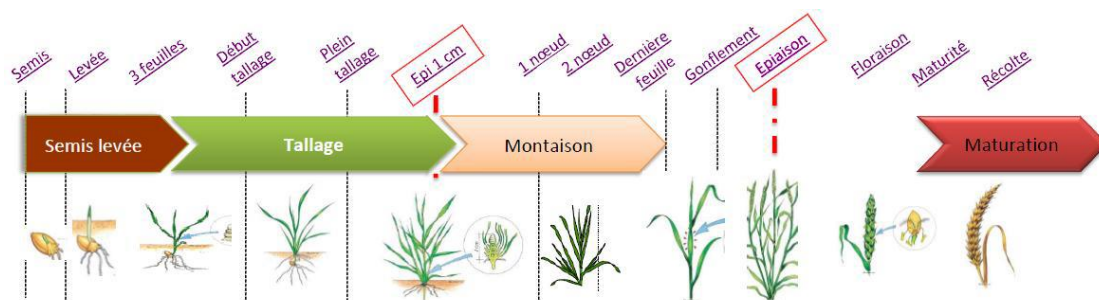


Figure 3 : Les stades phénologiques de blé

I.1 .6. La production en Algérie et dans le monde :

I.1.6.1. Dans le monde :

Du point de vue superficie, le blé est la céréale la plus largement cultivée dans le monde avec une superficie annuelle moyenne de 219 millions d’hectares entre 2010 et 2017. La superficie emblavée a connu une petite évolution depuis 2010 jusqu’à 2017, suivi par l’évolution de quantités de production (tableau N° 01), en passant de 640 millions de tonnes en 2010 à 715 millions de tonnes en 2017. Cette tendance à la hausse s’explique par l’intensification qui a permis d’augmenter les rendements en passant de 2.79 tonnes par hectare (q/ha) en 2010 à 3.26 tonnes par hectare en 2017 (FAO ,2017).

Tableau 1 : Évolution de la superficie, production et rendement des blés dans le monde au cours de la dernière décennie. (FAO, 2017).

Année	Superficie récolte (ha)	Production (tonne)	Rendement (tonne /ha)
2010	215 457 789	640 258 978	2.97
2011	220 452 680	697 614 006	3.16
2012	217 792 267	672 694 662	3.09
2013	218 875 322	710 947 981	3.25
2014	219 876 659	762 302 081	3.30
2015	223 880 891	751 863 360	3.36
2016	220 252 643	749 014 842	3.40
2017	218 543 071	771 718 579	3.53
MOY	219 390 290	715 051 811	3.26

Depuis 2010 jusqu'à 2016, le commerce annuel global du blé est supérieur à celui du Maïs et du riz combinés, en termes de volume, les USA (27,19Mt), le Canada (19.98 Mt) la France (19.44 Mt) et l'Australie (18Mt) sont les plus grands exportateurs au monde (FAOSTAT, 2019).

I.1.6.2. En Algérie :

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, elles fournissent plus de 60 % de l'apport calorifique et 75 à 80 % de l'apport protéique de la ration alimentaire (Djermoun, 2009). La consommation nationale est estimée à environ 224 kg/habitant/an (ITGC, 2010).

De ce fait ; La filière céréalière constitue une des principales filières de la production Agricole en Algérie. La superficie emblavée annuellement se situe entre 3 et 3,5 millions d'hectares, soit 40 % de la superficie agricole utile du pays, la superficie récoltée annuellement représente 78 % (MADRP, 2014).

Le graphe suivant montre l'évolution des superficies emblavées en céréales selon des espèces cultivées en Algérie.

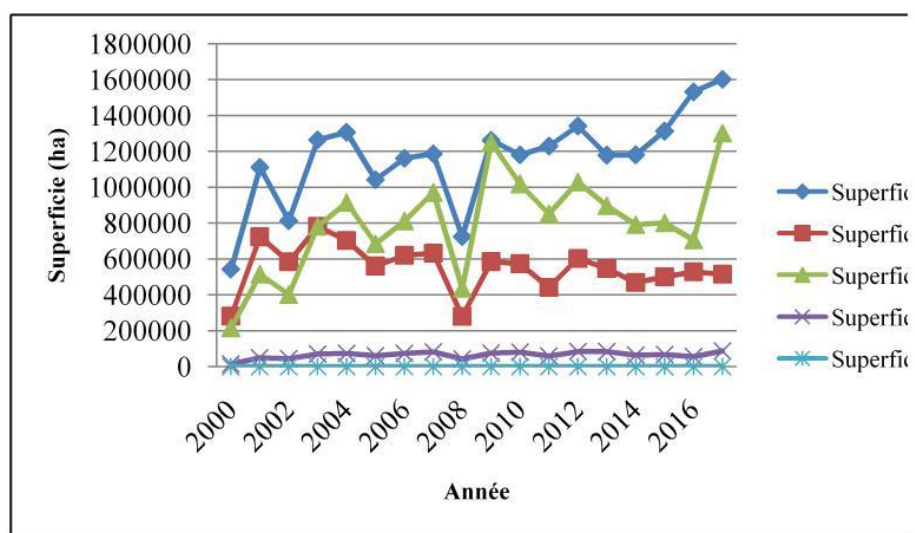
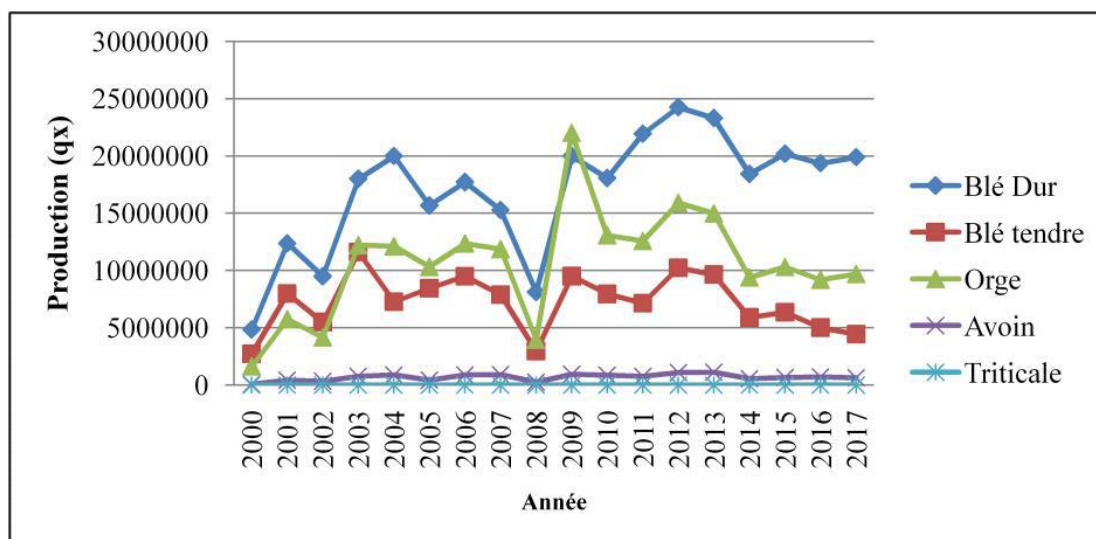


Figure 4 : Evolution de la superficie des céréales en Algérie (Série B ; MADRP 2017).

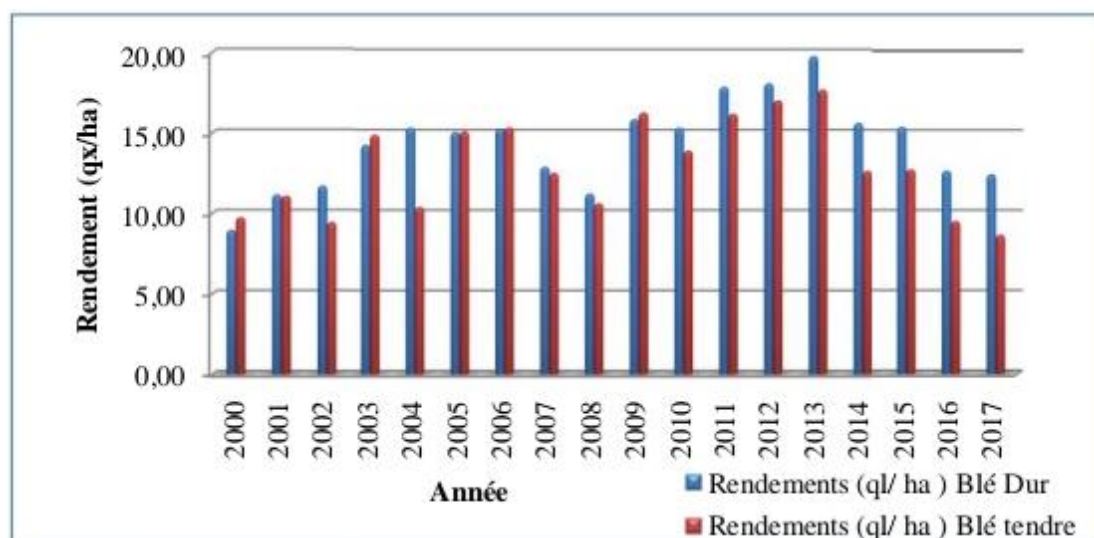
La figure ci-dessous montre nettement que la production des céréales en Algérie est très instable pendant les dix-sept années précédentes, où nous avons noté que le blé dur est la céréale la plus produite en Algérie avec une production moyenne de 17 068 119qx, suivi par le blé tendre par une production moyenne est de l'ordre de 7 240 532.2 qx (pendant 17 ans).



**Figure 5 : Évolution de la production des céréales en Algérie (Série B ; MADRP 2019).**

La production des céréales en Algérie reste fortement tributaire des conditions Abiotiques (déficit hydrique, gelées.....) et Biotique comme les maladies fongiques, ce qu'il ressort nettement de l'analyse de la (figure N° 04), où nous avons noté une variation des rendements selon l'espèce et selon les différentes campagnes.

L'analyse des données collectées (figure 06) ressort que la campagne agricole 2013/2014 présente les plus grands rendements de blé dur et le blé tendre, suivi Respectueusement par les deux campagnes 2012/2013, 2011/2012.



**Figure 06 :** Évolution des rendements des blés en Algérie (Série B ; MADRP 2019).

L'écart important entre les besoins nationaux en blés et le niveau de production Nationale conduit l'Algérie à importer de production nationale de grosse quantité chaque année, soit 5,05Mt en 2010 à 8,22 Mt en 2016, (FAOSTAT, 2019).

Ce qui classe l'Algérie au deuxième rang des pays importateurs du blé dans le monde, soit 7,04 Mt, après l'Égypte. (10.37 Mt), depuis 2010 jusqu'à 2016. (FAOSTAT, 2019).

L'Algérie est donc confrontée à un problème de dépendance extérieure qui s'accompagne de lourdes factures (un milliard sept cent quatre-vingt-dix millions quatre cent soixante-treize mille en 2016) (FAOSTAT, 2019).

### I.1.7. Les variétés existantes :

Selon l'institut technique des grandes cultures ; 3 variétés sur une vingtaine de variété de blé tendre inscrites sont cultivées en Algérie, il s'agit de :

- **Mahon Démias**, c'est un blé introduit par les colons français en Algérie. Il est rustique et tardif. Doté d'une paille haute, cette variété est à semer en zones sèches et sur les sols légers.

➤ **Anza**, d'origine américaine (Californie), est la variété de blé tendre qui est connue en Algérie sous le nom de Ghriss 75. Introduite depuis 1978, elle est précoce et très productive, grâce à son tallage-épi élevé.

➤ **Hidhab** est une variété précoce à paille moyenne et à épi long. Elle est résistante à la verse et à la rouille brune. Hidhab présente de bonnes caractéristiques technologiques pour la panification **Zeghouane et al., (2008) ; Fellahi et al., (2013)**.

## **I.2. Les principaux contaminants de stocks :**

### **I.2 .1. Altérations d'origine biologique :**

Il faut souligner qu'un stock de grains est un écosystème artificiel créé par l'homme et constitué d'un ensemble de différentes entités vivantes, d'une part et obligatoirement les grains avec leur germes et microorganismes (moisissures, levures, bactéries), d'autre part, de façon non obligatoire mais cependant très fréquente, les animaux prédateurs (insectes, acariens, rongeurs et oiseaux) (**Multon et al., 1982**).

### **I. 2.2. Micro-organismes :**

Les micro-organismes et notamment les moisissures sont toujours présentes à la surface des grains sous la forme de spores. Dès que les conditions de température et humidité deviennent favorables, ces micro-organismes se développent en envahissant progressivement le grain. Les conditions climatiques en régions tropicales et notamment en zones humides sont très favorables à la croissance de ces micro-organismes (**Coraf, 2007**).

En zones sèches, les risques d'attaque par les moisissures sont également présents si les conditions de stockage sont mauvaises. Les moisissures altèrent l'aspect, l'odeur et goût des grains sur lesquels elles se développent rendant ces derniers impropres à la consommation humaine ou animale (**Coraf, 2007**).

La microflore et particulièrement les moisissures constituent en cours de stockage, la cause principale d'altérations diverses et par la suite de pertes inestimables. Ce sont surtout les *Aspergillus* et les *Penicillium*, hôtes normaux et habituels des grains qui sont susceptibles de se développer abondamment au cours de stockage défectueux (**Kheladi, 2009 ; Meghazi, 2015**).

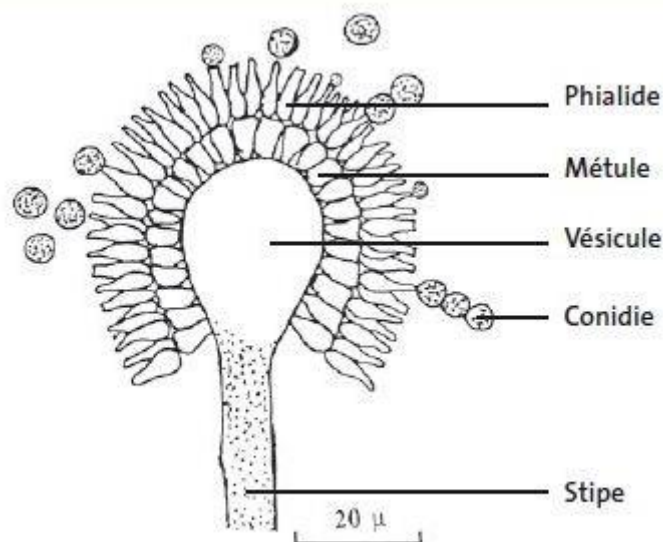
En effet, la contamination qui débute au champ, va se poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et de stockage. La prolifération de ces

moisissures sur le blé stocké engendre deux conséquences ; altérations de la qualité du grain qui va se répercuter sur la valeur nutritionnelle des produits dérivés et la production de mycotoxines (Pitt et Hocking, 1991 ; Meghazi, 2015).

✓ *Aspergillus* :

Ce sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, appartenant à la famille des *Aspergillaceae*, et à la classe des *Ascomycètes* (Galinas, 1995 ; Champion, 1997).

Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, ce genre comprend de 180 à 250 espèces selon les auteurs dont seules *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, et *A. niger* sont considérées comme thermotolérantes. Quand les grains sont récoltés humides, insuffisamment séchés ou lorsqu'elles prennent de l'humidité pendant les stockages, les *Aspergillus* peuvent évoluer rapidement et se transforment de saprophytes en parasites et entraînent une baisse importante de la faculté germinative sur les semences (Champion, 1997).

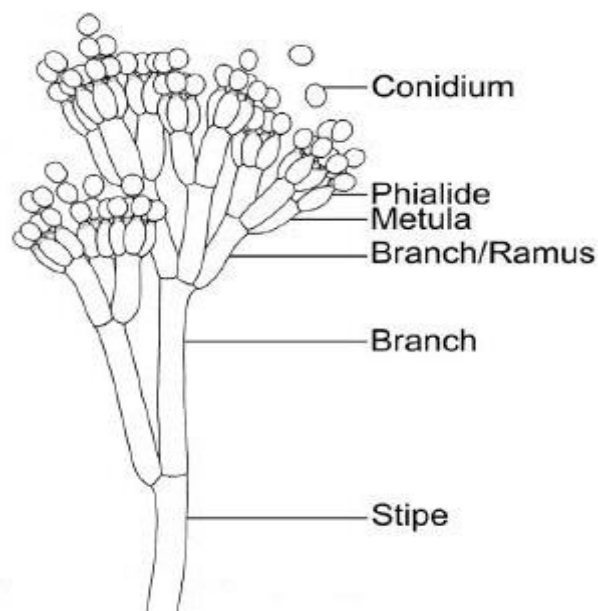


**Figure 7** : Schéma d'une tête aspergillaire (Anonyme, 2012).

✓ *Penicillium* :

De tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus ubiquitaire. Il comporte plus de 200 espèces qui se rencontrent partout de l'équateur

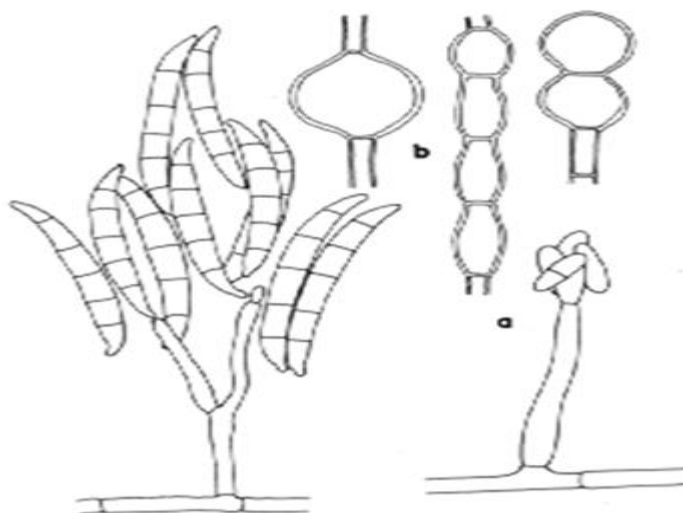
aux pôles (**Reboux *et al.*, 2010**). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles rappelant ainsi la forme d'un pinceau. A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation (**Champion, 1997**).



**Figure 8** : Schéma d'un pénicille. (**Visagie *et al.*, 2014**)

✓ ***Fusarium*** :

Le nom *Fusarium* vient de « *fusus* » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées. Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivants en saprophytes. Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (**Chabasse *et al.*, 2005**). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (**Abramson *et al.*, 2001**).



**Figure 9** : Schéma d'un *Fusarium*(a) Microconidie ; (b) Chlamidospores

([Www.telmeds.org](http://www.telmeds.org)).

- Fusariose du blé :

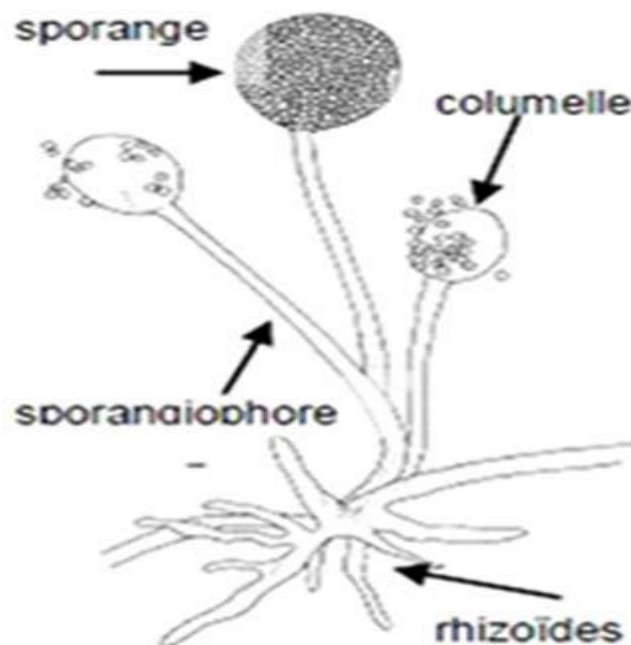
La fusariose est une maladie des céréales dite « à petits grains » que l'on retrouve partout dans le monde. La fusariose peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* (Parry *et al.*, 1995) dont le nom donné est relié à l'allure fusiforme de ses spores (Pageau et Fillion, 2009).

La fusariose est la principale cause de déclassement pour la commercialisation du blé au Québec. La présence de vomitoxine au-dessus de seuils critiques rend le grain impropre à la consommation, en diminue la qualité, l'usage, la valeur commerciale et le prix. Puis qu'aucun fongicide biologique n'est encore commercialisé, il est opportun de vérifier le potentiel de produits à l'étude et de développer des stratégies intégrées de lutte à la maladie (Vachon, 2011).

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).

✓ *Mucorale* :

Cette sous famille regroupant les genres *Absidia* sp., *Mucor* sp., *Rhizomucor* sp. Et *Rhizopus* sp. (**Rebouxet al., 2010**). Les mucorales sont des champignons cosmopolites très répandus, saprophytes du sol où ils se nourrissent à partir de végétaux, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires comme les céréales, les fruits et légumes, certaines espèces sont pathogènes de plantes. Le champignon émet généralement des stolons qui adhèrent au substrat par de sorte de racines appelées rhizoïdes. Le thalle est constitué de filaments siphonnés non cloisonnés, à partir des stolons, se forment des filaments dressés appelés sporangiophores porteurs de sporanges où sont produites les spores **Chabasse et al., (2002) ; Meghazi, (2015)**.



**Figure 10** : Appareil reproducteur des mucorales (**Dufresne et St-Germain, 2013**).

Il faut savoir que, le plus souvent, les végétaux sont contaminés par les moisissures lors de la culture, et que la croissance du champignon et la production des toxines se poursuivent après la récolte (**Pfhol-leszkowics, 2009**). Au champ, les grains sont surtout contaminés par les moisissures qui ont besoin de fortes activités de l'eau pour proliférer (**Proctor, 1995**). La flore des champs est constituée par des espèces potentiellement parasites, des *Fusarium*, *Epicoccum*, *Botrytis*, etc (**Multon, 1982**) À l'entreposage, les grains sont infestés par les moisissures qui se développent à de faibles

teneurs en eau (**Proctor, 1995**). La flore de stockage regroupe essentiellement les espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (**Gwimer, 1996**) dans laquelle les *Penicillium* et les *Aspergillus* sont dominants (**Moreau, 1996 ; Feillet, 2000**).

### **I .2 .2.1. Ravageurs animaux :**

La faune déprédatrice des céréales entreposées est composée de différentes espèces de Rongeurs, d'oiseaux, d'Acariens et d'Insectes (**Nacef et al., 2004**).

#### **A. Rongeurs :**

Les rongeurs consomment le grain et endommagent les sacs, les palettes et les magasins. Ils contaminent également avec leurs urines et leurs déjections beaucoup de grains, ce qui en altère donc la qualité. Ils contaminent les céréales qui, une fois consommées par l'homme, peuvent lui occasionner des maladies (**Bell, 2000**).

#### **B. Oiseaux :**

Ils sont présentés par les pigeons, les moineaux et les étourneaux. Les dégâts occasionnés par les oiseaux sont d'ordre quantitatif, par prélèvement de grains, et surtout qualitatif, par dépôts de fientes, de plumes, de cadavres sur les grains ou de débris végétaux utilisés pour la construction de leur nid. Leur présence est liée à un mauvais entretien des locaux et des abords extérieurs (**Bell, 2000**).

#### **C. Insectes :**

De tous ravageurs, ce sont les insectes qui causent d'importantes pertes économiques au niveau du stockage des céréales. Deux ordres principaux comprennent la majorité des espèces inféodées au stock. Il s'agit des lépidoptères et les coléoptères. Ces derniers sont à l'origine de la plupart des dommages subis dans les réserves des denrées stockées et sont susceptibles de causer des dégâts aux grains stockés, en particulier les espèces de *Tribolium castaneum* et de *Sitophilus granarius* qui sont très fréquentes (**Karahacane, 2015**).

### I. 3. Influences des contaminants sur la qualité du blé et sur l'économie du pays :

Le développement non souhaité des moisissures sur une denrée est associé à de multiples nuisances : modification de l'aspect de l'aliment et de ses caractéristiques organoleptiques et chimiques. (D'mello et al., 1997). Ces aléas conduisent généralement à l'élimination des produits, ce qui entraîne aujourd'hui à l'échelle mondiale une perte de la production alimentaire estimée à 5 à 10%. (Yiannikouris., Jouany., 2002).

Ses dégâts conduisent à des dommages économiques et à un grave problème dans le stockage des grains (Garcia et al.,2005). En effet, sa présence dans les grains entreposés affecte directement à la fois la quantité et la qualité de la marchandise (Rahman et al.,2011 ; Sagheer et al.,2011).

Les insectes des denrées stockées dont *Tribolium castaneum* représentent une partie très importante des ravageurs des denrées stockées (Syed Shayfur et al., 2007). Ils peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés. D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale.

En outre ; l'infestation par les insectes affecte la teneur globale en matière grasses des graines avec tendance à favorise la libération d'acide gras.

Les effets de l'infestation par les insectes sur la valeur nutritionnelle des grains stockes sont liés à la composition alimentaire de ce type de denrée ; à la répartition des nutriments dans la graine et aux habitudes alimentaires des insectes (FAO, 1984). C'est ainsi que les charançons ; qui se nourrissent principalement de l'album en amylicé ; réduisent la valeur calorique du blé mais ont un effet moindre sur les protéines et les vitamines concentrées essentiellement dans le germe et l'assise à aleurone. Par contre, les légumineuses infestées les coléoptères perdes des protéines et des vitamines en plus des hydrates de carbone du fait que ces éléments nutritifs sont répartis plus uniformément dans la graine. Par ailleurs, l'infestation par les insectes d'échantillon de blé, maïs et sorgho en grains, entraîne des changements nets dans la teneur en calcium, phosphate, zinc, fer, cuivre, et manganèse. Ceci est également fonction des habitudes alimentaires des insectes et de la distribution des minéraux dans les grains (Sudesh et al., 1992).

La même réflexion peut être faite quant à la digestibilité des protéines et de l'amidon de céréales en grain infestées (**Sudesh et Kapoor, 1992**).

Outre la réduction de la qualité nutritionnelle des graines, une autre conséquence de l'infestation par les insectes et l'augmentation du volume des selles du consommateur (**Kritchvsky, 1977 IN FOA, 1984 ; cherbut et champ, 1987**).et la réduction de la durée du transit intestinal qui se traduit par une assimilation moins efficace de certains élément nutritifs (protéine, calcium, fer, zinc) : la consommation d'aliment infesté a aggravé la sous-alimentation et la malnutrition.

Dans le cas des grains moisissés, il a été démontré que l'activité vitale des moisissures entraînent une modification sensible du substrat sur lequel elles vivent, une perte de matière sèche, une réduction de la valeur nutritionnelle par la modification de la composition du substrat et la synthèse de mycotoxine (**Multon, 1982 ; cahaghier 1989**).

#### **I.4. Méthodes de lutte contre le microorganisme :**

La lutte biologique repose sur l'utilisation d'organismes vivante pour diminuer la population des pathogènes, de manière à réduire les dégâts dans la culture. Champignons, nématodes, bactéries, insectes, tous les organismes sont potentiellement des prédateurs pour les parasites et les ravageurs (**Anonyme, 2006**).

Cette méthode entre dans le cadre du développement durable et de la sauvegarde des écosystèmes. Elle vise à réduire les populations des insectes ravageurs, en utilisant leurs ennemis naturels qui sont soit des prédateurs, soit des parasites ou des agents pathogènes, ainsi que des produits naturels d'origine végétale comme des poudres minérales des huiles végétales, huiles essentielles..., issue du phénomène de la phytothérapie.

Les plantes aromatiques ont été utilisées pour des fins médicaux ; elles sont traditionnellement utilisées pour protéger les graines entreposées (**Sanon et al., 2002**). Actuellement, la lutte biologique est la méthode la plus favorisée dans les programmes de recherche vus ses intérêts économiques et agro-environnementaux qui permettent le maintien d'un équilibre bio écologique (**Amari et al., 2014**).

### I.5. Champignons (les toxigènes) :

Les consommateurs sont aujourd'hui très sensibles à la notion du risque alimentaire. Si le risque infectieux ou parasitaire est bien compris, celui associé à la présence naturelle des moisissures (champignons microscopiques filamenteux) et de leurs toxines au sein de l'alimentation est le plus souvent ignoré. De nos jours, la qualité et la sécurité des produits agro-alimentaires courants sont menacées par un grand nombre de toxines naturelles, les mycotoxines. Leur contamination par les champignons microscopiques toxigènes et leur impact néfaste sur la santé humaine et animale ainsi que sur le commerce international sont de plus en plus approuvés par les autorités aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement.

En effet dans certaines conditions climatiques ou de mauvaise conservation, ces micro-organismes peuvent se développer et conduire à une production de mycotoxines pouvant être néfaste à la santé des animaux et de l'homme en provoquant un certain nombre de troubles voire des maladies graves.

Plusieurs espèces de ces micromycètes appartenant principalement aux quatre genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Alternaria* sont aptes à excréter une ou plusieurs mycotoxines : aflatoxines, ochratoxines, fumonisines, trichotécènes, patuline, zéaralénone, alternariols, etc. (D'mello et al., 1997).

#### I.5.1. Définition des mycotoxines :

Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « *Mycos* », qui signifie champignon, et du latin « *Toxicum* » signifiant poison. Les mycotoxines sont donc des substances toxiques, sécrétées essentiellement par les micromycètes. Ce sont plus précisément des métabolites dits secondaires, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensables au fonctionnement des champignons. Ils résultent de la dégradation de métabolites Primaires rassemblant les sucres, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques, qui eux participent à la nutrition et à la croissance d'un organisme (Leszkowicz, 1999).

.

**Tableau 2** : Principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associé

<b>Espèce fongique productrice</b>	<b>Mycotoxine associée</b>
<i>Aspergillus sp.</i>	Gliotoxine, fumagilline; acide helvalique; tryptidine; tryptacidine; fumitremorgine ; fumiquinozoline ; aflatoxine ; ochratoxine; stérigmatocystine.
<i>Alternaria sp.</i>	Alternariol; acide tenuazolique.
<i>Claviceps sp.</i>	Alcaloïde (ergotamine et dérivés)
<i>Fusarium sp.</i>	Trichothécènes (dioxynyvalenol; toxine T-2; diacétoxyscirpénol ; novalénol) ; zéaralénone ; fumonisines; fusarine ; moniliformine.
<i>Penicillium sp.</i>	Ochratoxine A ; penitrem A ; acide cyclopiazonique ; patuline ; citrinine.

**I.5.2. Effets des champignons et de leurs mycotoxines sur la santé humaine :**

Trois effets pathologiques nocifs pour la santé humaine sont reconnus comme pouvant être consécutifs à l'exposition aux champignons : les effets immunologiques, les infections fongiques et les intoxications par les mycotoxines. Ces dernières sont détaillées dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Effets des principales mycotoxines sur l’homme et mécanismes d’action cellulaires et moléculaires identifiés (d’après AFSSA 2009).

Mycotoxine	Effets	Mécanismes d’action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 et M1	-Hépatotoxicité -Génotoxicité -Cancérogénicité -Immunomodulation	-Formation d’adduits à l’ADN -Péroxydation lipidique -Bioactivation par des CYP 450 -Conjugaison aux Glutathion-transférases
Ochratoxine A	-Néphrotoxicité -Génotoxicité -Immunomodulation	-Impact sur la synthèse des protéines -Inhibition de la production d’ATP -Détoxication par les peptidases
Trichothécènes (A et B)	-Hématotoxicité -Immunomodulation -Toxicité cutanée	-Induction de l’apoptose sur progéniteur -Hématopoïétique et cellules immunitaires -Impact sur la synthèse des protéines -Altération des immunoglobulines
Patuline	-Neurotoxicité -Mutagenèse in vitro	-Inhibition indirecte d’enzymes
Zéaralénone	-Fertilité Reproduction	-Liaison aux récepteurs œstrogéniques -Bioactivation par des déshydrogénases

		-Conjugaison aux glucuronyltransférases
Fumonisine B1	-Lésion du système nerveux central -Hépatotoxicité -Génotoxicité -Immunomodulation	-Inhibition de la synthèse de céramide et altération du rapport sphinganine /sphingosine -Altération du cycle cellulaire

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthode**

## II .1. Matériel :

### II.1.1. Matériel biologique :

#### II. 1.1.1. Variétés de blé tendre échantillonnées :

Les analyses effectuées ont porté sur les grains des échantillons de blé tendre, variété ANZA importé de France, et une variété locale HD, qui ont été prélevés le mois d'octobre de l'année 2019 au niveau de la CCLS de la wilaya de Blida.



**Figure 11** : Echantillon de blé tendre local

HD.



**Figure 12** : Echantillon de blé tendre

Importé ANZA.

L'échantillonnage du blé est fait à partir des grands hangars en vrac en métal fermés. Les échantillons sont conservés dans des sacs stériles et transportés dans une glacière au laboratoire pour être analysés.

#### II. 1.1.2. Précautions d'échantillonnage :

Avant toute analyse, il convient de prélever un échantillon représentatif du produit à analyser. Néanmoins, les techniques de prélèvements habituellement recommandées pour d'autres analyses ne sont guère probantes quand il s'agit d'analyses microbiologiques. En général, sur les produits secs, granuleux et pulvérulents, la microflore est toujours répartie de façon très hétérogène (**Dunoyer,1989**).

A ce titre, il faut noter que les résultats des examens microbiologiques n'ont de valeur que si certaines précautions d'échantillonnage ont été respectées :

- Prises d'échantillons avec des instruments stériles ;
- Mise de l'échantillon dans des récipients ou sachets stériles ;

- Respect des règles d'hygiène générale pour la personne effectuant le prélèvement ;
- Rapidité de l'acheminement des échantillons dans l'attente de leurs analyses ;
- Conservation des échantillons dans un endroit frais et sec (8 à 15°C) mais jamais à des températures négatives (**Dunoyer,1989**).

**II. 1.2. Matériel non biologique :**

Le matériel utilisé pour la réalisation de cette étude est composé :

- Une verrerie ;
- Un équipement ;
- Un appareillage ;
- Des réactifs et des produits chimiques.

**III.2. Méthodes :****II. 2. 1. Etude physico-chimique du blé tendre sain et altéré :****II.2. 1.1. 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 des microorganismes à l'intérieur de la graine, d'où l'importance de leur élimination.

Dans chaque échantillon de blé tendre, on calcule le pourcentage des grains endommagés. On comptabilise les grains cassés par rapport à une prise d'essai de 100 graines (**Multon, 1982 ; Gacem et al., 2011**).

**II.2. 1. 2. Détermination de la teneur en eau (humidité) :**

La détermination de la teneur en eau a été réalisée selon la méthode mentionnée par **Simpson. (1999)** et **Zerrad. (2006)** :

- Pour déterminer la teneur en eau, nous avons placé 2 échantillons de poids déterminé dans une étuve à 75°C. Les échantillons ont été pesés chaque 24 h jusqu'à la stabilisation du poids sec de la matière végétale (**Simpson, 1999 ; Zerrad, 2006**).

- Selon la Pharmacopée Européenne (2014), le pourcentage du poids d'eau est exprimé par rapport au poids initial selon la formule suivante :

$$X \% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

Où :

X% : Taux de l'eau en pourcentage.

M1 : Masse de l'échantillon fraîche en gramme.

M2 : Masse de l'échantillon après séchage en gramme.

### II.2. 1. 3. Détermination de taux de Cendres :

La détermination de taux de cendres est indispensable, et a pour but de constater le changement de la teneur en minéraux dans les échantillons du blé tendre. L'utilisation de la matière minérale est un indicateur de croissance microbienne et d'activités enzymatiques, puisque tous les microorganismes ont besoin de plusieurs micronutriments (minéraux) qui sont des éléments nécessaires à leur développement et à l'activité de plusieurs enzymes **Dupin *et al.*, (1992) ; Prescott *et al.*, (2010).**

La teneur en matière minérale est déterminée selon la norme NF V03-720.

- **Principe** : La matière minérale est obtenue après incinération de 5g d'échantillon dans un four à moufle de marque HERAUS M110 réglé à  $600 \pm 50^\circ\text{C}$  pendant une heure.
- **Expression des résultats** : Le pourcentage de la fraction minérale est calculé selon la formule suivante :

$$C = M_2 - M_1 / P_e$$

Où :

M<sub>2</sub> : Le poids du creuset après calcination en gramme.

M<sub>1</sub> : Le poids du creuset vide en gramme.

P<sub>e</sub> : la prise d'essai de l'échantillon en gramme.

### II.2. 1. 4. Potentiel d'Hydrogène (-pH-) :

Le -pH- donne la concentration en ions hydronium ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) ou hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ) de manière implicite, cette relation peut être formulée selon **Alexéev (1980)**, mathématiquement par :

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-\text{pH}} \longrightarrow \text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] \text{ (log de base 10)}$$

Plus couramment le -pH- mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Ainsi, dans un milieu aqueux à 25°C :

- Une solution de -pH-=7 est dite neutre ;
- Une solution de -pH-<7 est dite acide ; plus son -pH- s'éloigne de 7(diminue) et plus elle est acide ;
- Une solution de -pH->7 est dite basique ; plus son -pH- s'éloigne de 7(augmente) et plus elle est basique.

La mesure de -pH- est faite à l'aide d'un -pH- mètre de marque **Metler Toledo**.

### II.2. 2. Etude mycologique du blé tendre sain et altéré :

Cette étude concerne la recherche de la flore fongique filamenteuses.

Pour isoler la mycoflore filamenteuse (moisissures) des échantillons de blé, nous avons utilisé deux méthodes :

#### II.2.2.1. Méthode directe :

L'isolement des moisissures à partir des échantillons du blé (sains et altérés) de la variété ANZA a été effectué selon la méthode directe proposée par **Champion (1997)**. Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une pailasse soigneusement nettoyée.

Les grains de blé sélectionnés au hasard de chaque échantillon sont placés sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) à l'aide d'une pince, préalablement désinfectée à l'alcool et flambée en passant d'une boîte à l'autre (2 boîtes pour chaque échantillon), à raison de cinq grains par boîte. L'ensemble est incubé à 28°C pendant 4 à 7 jours. Le développement bactérien a été inhibé par l'adjonction d'antibiotique (Augmentin, principe actif).

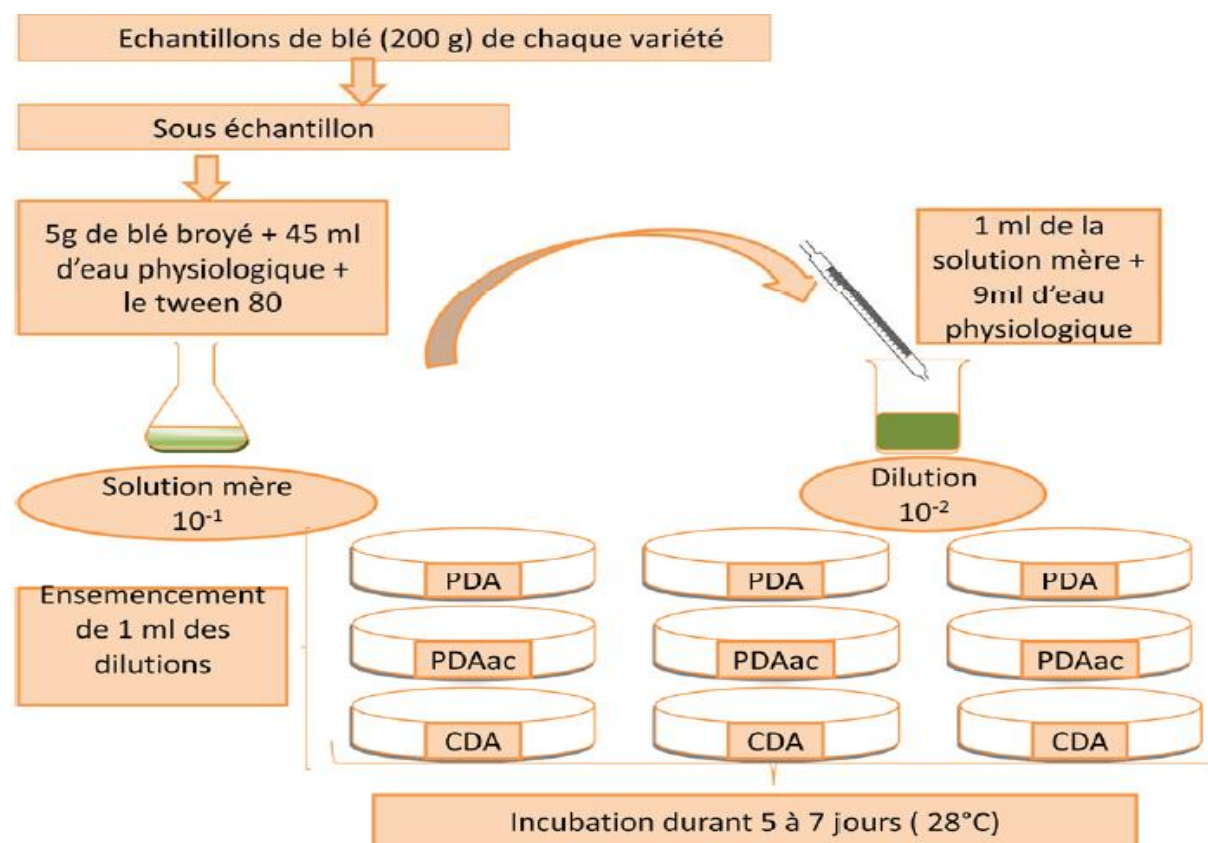
Ainsi, les grains de chaque échantillon du blé (sains et altérés) sont broyés grossièrement et dispersés directement sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA à l'aide d'une cuillère stérile (2 boîtes pour chaque échantillon). Le tout est porté à l'incubation pendant 5 à 7 jours à 28°C.

#### **II.2.2.2. Méthode indirecte (ou méthode de dilution) :**

De chaque échantillon du blé tendre (sain et altérés), 10g de grains broyés grossièrement ont été additionnés à 40 ml d'eau physiologique plus quelques gouttes de tween 80, ce qui correspond à la solution mère. (Figure 13)

À partir de la dilution mère ( $10^{-1}$ ), des dilutions décimales ont été réalisées pour chaque échantillon de blé (figure 13) :

- Homogénéiser la suspension mère par agitation du flacon de prélèvement ;
- Procéder tout d'abord à la numérotation des tubes en les étiquetant respectivement de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  cellules/ml pour les différentes dilutions ;
- Prélever à l'aide d'une pipette graduée, 1ml d'échantillon mère, puis l'additionner à 9ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai pour obtenir la dilution  $10^{-2}$  et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-3}$ . Chaque fois agitée les tubes à l'aide d'un vortex et les pipettes sont changées entre chaque prélèvement.



**Figure 13** : Protocole d'isolement des souches fongiques par la méthode de dilution. (Meghazi, 2015)

Des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, sont ensemencées avec 0.5 ml des dilutions qu'on étale à l'aide d'un râteau, sur toute la surface de la boîte de Pétri coulée (Le râteau en verre est flambé avant et après chaque utilisation). Sur les boîtes ensemencées, on indique le numéro de l'échantillon, la dilution ainsi que la date d'ensemencement. Les boîtes sont incubées dans l'étuve à 28°C, pendant 4 à 7 jours jusqu'à apparition du mycélium. Il est à noter que trois répétitions sont réalisées pour chaque dilution, avec des boîtes témoins ensemencées par l'eau physiologique.

#### ✓ Purification des isolats :

Des observations quotidiennes ont été effectuées jusque l'apparition d'un bon développement de colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (Botton et al.,1990 ; Guiraud, 1998).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse de platine stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte PDA.

Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boîtes sont incubées à 28°C pendant 7 jours jusqu'à obtention des souches pures.

### ✓ **Identification des isolats :**

L'identification des genres fongiques repose sur l'identification de critères morphologiques ; d'une part par l'observation macroscopique du mycélium, et d'autre part l'étude microscopique des structures reproductrices :

#### **a) Etude macroscopiques :**

Les caractères morphologiques et culturels sont déterminés après ensemencement des souches pures sur les milieux de cultures spécifiques. L'identification se fait à l'œil nu, elle se base essentiellement sur les caractères suivants :

- **L'aspect des colonies :** Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien) ;
- **Le relief des colonies :** il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure) ;
- **La taille des colonies :** Elle peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites 3-3.5 cm (*Cladosporium sp.*), étendue 4-5 cm (*Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*), et envahissants (*Botrytis sp.*, *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*)
- **La couleur des colonies :** est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*).

- **Les structures de fructification** : la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnostic (**Botton *et al.*, 1990 ; Tabuc,2007 ; Amani Lahouar,2016**).

**b) Etude microscopique :**

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

✓ **Préparation microscopique à l'aide d'un ruban adhésif transparent (Technique du drapeau) :**

- Un petit morceau de scotch est appliqué par sa face collante sur la colonie à l'aide d'une pince, puis déposer sur une goutte de bleu de méthylène sur une lame porte –objet.
- Une deuxième goutte (plus réduite) est alors déposée sur la face supérieure du scotch qui est ensuite recouverte d'une lamelle couvre-objet.
- L'excès de colorant autour de la lamelle est éliminé avec une feuille de papier buvard (**Chabasse *et al.*,2002**).
- Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements **x40** et **x100** à l'aide d'un microscope optique.

✓ **Conservation des souches :**

- **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**).

- **Glycérol 20% :**

Les souches fongiques purifiées sont conservées par congélation en présence de substance cryoprotectrices tel que le glycérol 20% (**Bouchet,1999**). Une suspension de spores est préparée par raclage de la surface de culture puis conservée à – 20°C en présence du glycérol à 20%. Les cultures sont alors stockées à – 20°C en cryobilles

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

### III.1. Analyse physico-chimique du blé tendre :

Les résultats des paramètres physico-chimiques de nos échantillons (blé tendre ANZA et HD) sont représentés par les paramètres suivants :

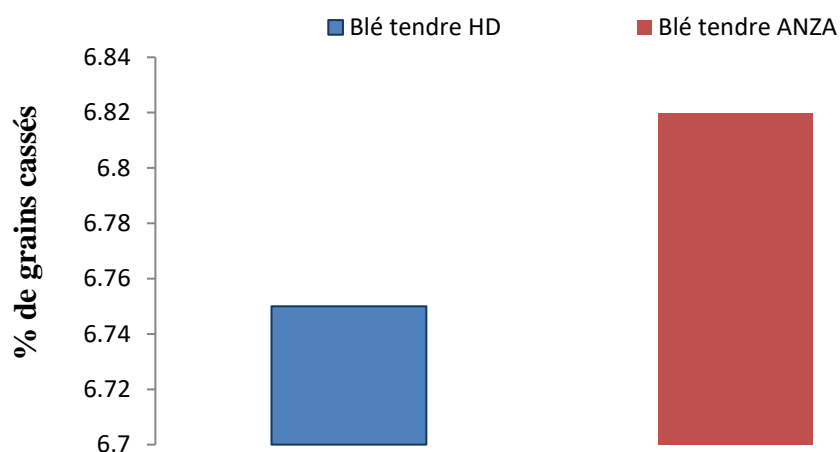
#### III.1.1. Détermination du pourcentage des grains brisés :

Sur les 100 grains prélevés (au hasard), une constatation de l'état physique a été effectuée. D'après les résultats affichés sur le tableau 4, le blé tendre var HD présente un taux de grains cassés légèrement inférieur  $11.5\% \pm 0.70$  au blé tendre var ANZA  $16\% \pm 1.41$  (tableau 4 et figure 14).

**Tableau 4** : Pourcentage des grains cassés des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD).

Echantillons	Blé tendre HD	Blé tendre ANZA
Grains cassés	$11.5 \pm 0.70$	$16 \pm 1.41$
P-Value	0.05	

Les résultats de l'analyse de variance (Tableau 4) mettent en évidence l'absence de différence significative ( $p \leq 0.05$ ) de grain cassé entre les échantillons (échantillon sain et échantillon altéré de la même variété), ces dernières ont été regroupés en un seul groupe homogène.



**Figure 14** : Variations du pourcentage de grains cassés des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  SEM ( $p < 0.05$ ).

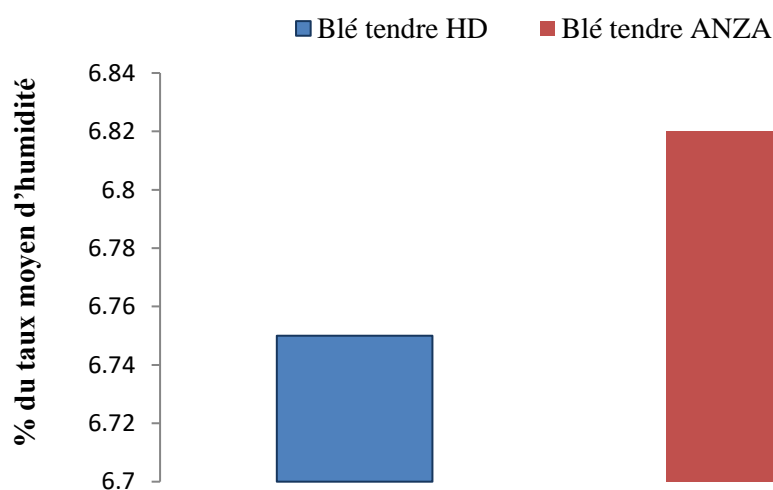
### III.1.2. Détermination de la teneur en eau (humidité) :

Les deux échantillons de blé tendre révèlent des taux d'humidités plus ou moins importants. Les valeurs moyennes des deux échantillons de blé sont plus ou moins proches. Elles sont respectivement de l'ordre de  $10.39\% \pm 0.08$  et  $12.1\% \pm 0.13$  pour celui du var ANZA et var HD (tableau 5 et figure 15).

**Tableau 5** : Taux moyen d'humidité des échantillons de blé tendre ANZA et HD

Echantillons	Blé tendre ANZA	Blé tendre HD
Taux moyen d'humidité	$10.39 \pm 0.08$	$12,1 \pm 0.13$
P-Value	0.004	

Par ailleurs, l'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas une différence significative ( $p \leq 0.05$ ) de taux d'humidité entre les échantillons (sains et altéré de la même variété) analysés, et sont regroupées aussi en un seul groupe homogène (Tableau 5).



**Figure 15** : Variations du pourcentage du taux moyen d'humidité des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  SEM ( $p < 0.004$ ).

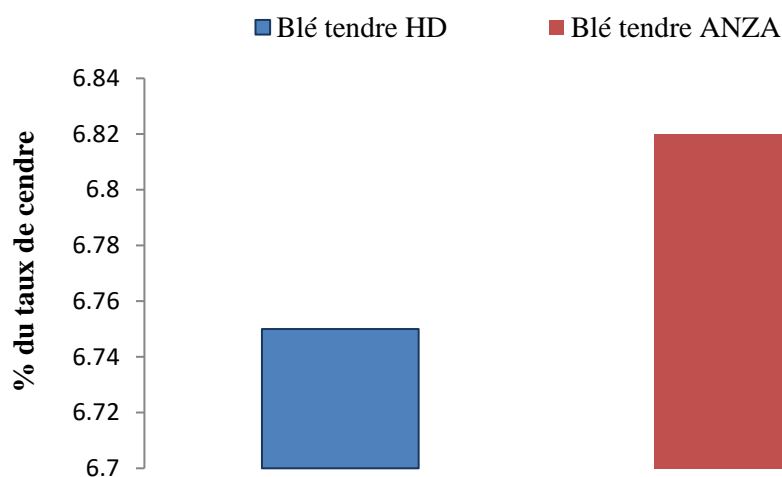
### III.1.3. Cendres totaux :

Nos échantillons de blé tendre var ANZA présentent un taux de cendre légèrement inférieur  $1.30\pm 0.01$  à celui du blé tendre var HD qui est égale à  $1.43\pm 0.01\%$  (tableau 6 et figure 16).

**Tableau 6** : Taux de cendre totaux des échantillons analysés (sain et altéré).

Echantillons	Blé tendre ANZA	Blé tendre HD
Taux de cendre	<b>1.30±0.01</b>	<b>1.43±0.01</b>
P-Value	<b>0.01</b>	

Ainsi, l'analyse de la variance montre qu'il n'y a pas une différence significative ( $p \leq 0.05$ ) Dans le taux de cendre entre les échantillons analysées, ils ont été regroupés aussi en un seul groupe homogène (Tableau 6).



**Figure16** : Variations du taux de cendre des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  SEM ( $p < 0.01$ ).

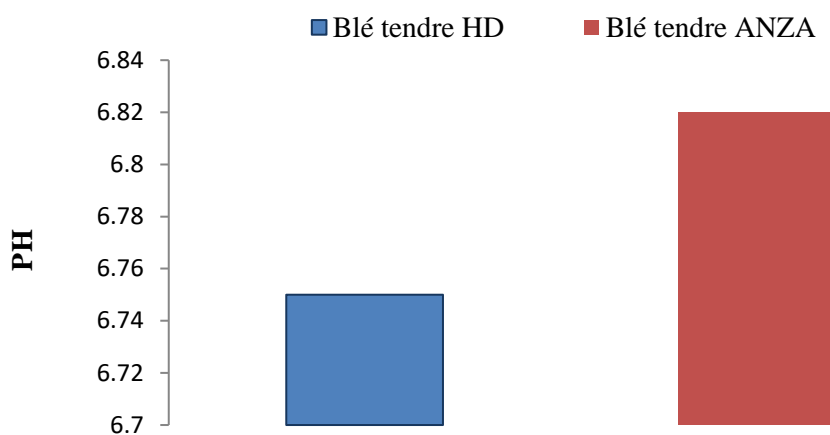
### III.1.4. Potentiel d'Hydrogène (-pH-) :

Les valeurs moyennes du -pH- des différents échantillons du blé tendre démontrent que l'ensemble des échantillons présente un -pH- légèrement acide avec des valeurs

moyennes de  $6.82 \pm 0.04$  pour le blé tendre ANZA et de  $6.75 \pm 0.08$  pour le blé tendre HD (tableau7 et figure 17).

**Tableau 7** : La moyenne de -pH- des échantillons analysés (ANZA et HD).

Echantillons	Blé tendre ANZA	Blé tendre HD
-pH-	$6.75 \pm 0.08$	$6.82 \pm 0.04$
P-Value	0.34	



**Figure17** : Variations des valeurs de -pH- des échantillons analysés (Blé tendre var ANZA et HD). Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  SEM ( $p < 0.05$ ).

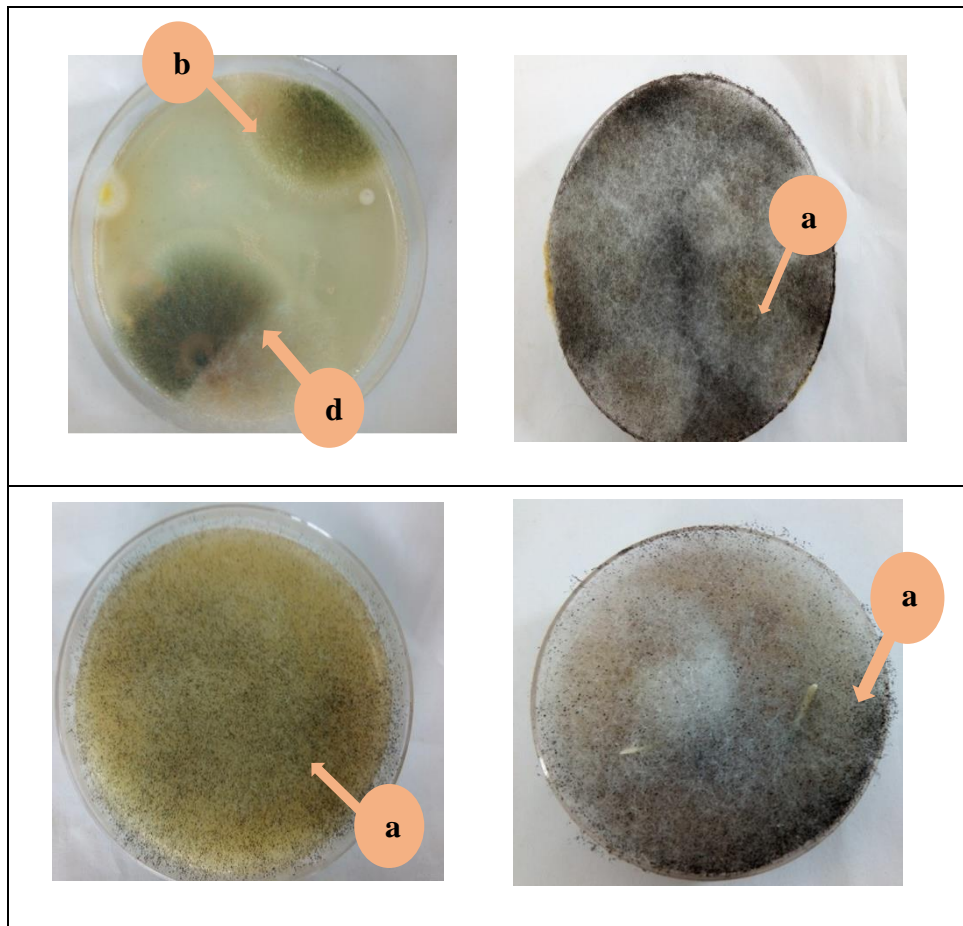
D'après le tableau7, l'analyse de la variance montre qu'il y a une différence significative ( $p \leq 0.05$ ) dans la moyenne de -pH- entre les variétés analysées ; elles ont été regroupées en deux groupes différents.

### III.2. Analyse mycologique :

#### III.2.1. Isolement des moisissures :

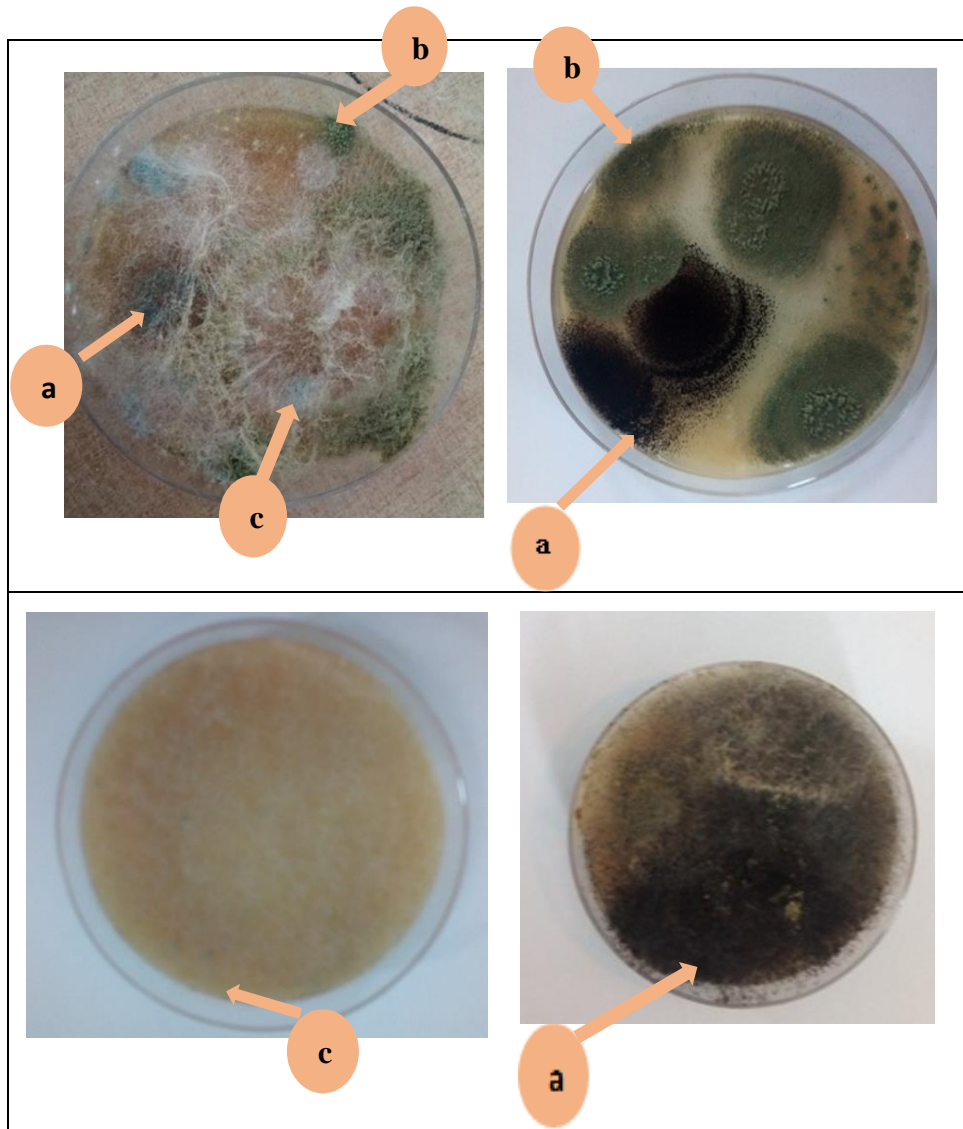
Au terme de l'analyse mycologique, nous avons obtenu 25 souches des moisissures dans les échantillons variété ANZA et HD de blé tendre. Nous avons obtenu 08 isolats fongiques à partir des grains de blé sain (figure 18), le taux de leur contamination s'est

révélé très élevé malgré leur apparence saine, et 17 isolats fongique à partir des grains altérés (figure 19).



**Figure 18** : Aspect macroscopique des de quelques souches fongiques isolées sur le milieu PDA de l'échantillons ANZA

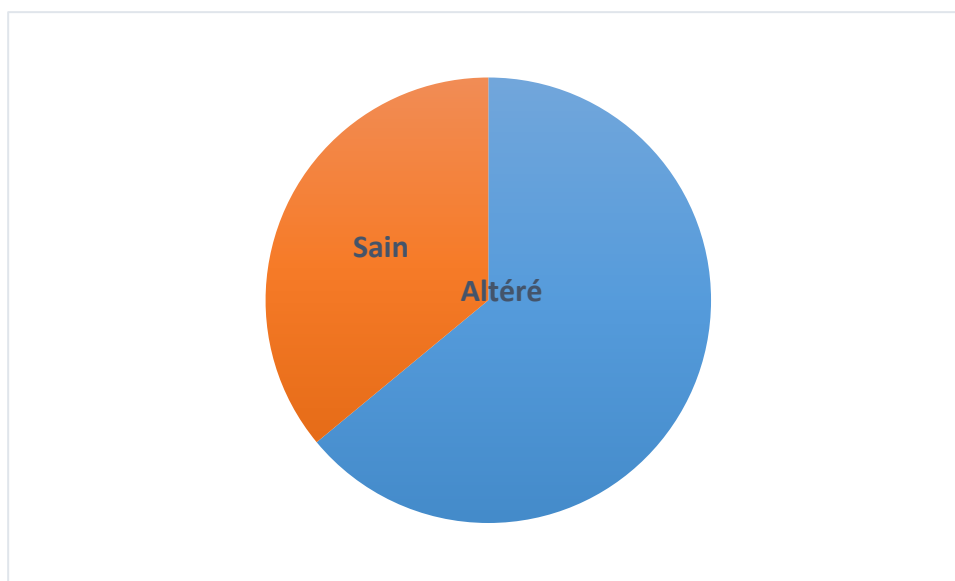
**Légende** : a : noir, b : vert et d : gris.



**Figure 19** : Aspect macroscopique des de quelque souche fongique isolées sur le milieu PDA de l'échantillons HD

**Légende** : **a** : noir, **b** : vert et **c** : blanc.

Les résultats présentés dans la figure 20, montrent un pourcentage de contamination plus élevé pour l'échantillon ANZA que pour l'échantillon HD ;



**Figure 20** : Pourcentage de contamination de chaque échantillon.

Les souches isolées seront codées en tenant compte de la variété, la couleur des colonies fongiques obtenue dans chaque boites (Tableau 8).

**Tableau 8** : Codage des souches isolées et purifiées des échantillons ANZA et HD.

Variété	Echantillon ANZA	Echantillon HD
ANZA (Z)	Z (a,b,c...ect)1	H(a,b,c...ect)1,
HD (H)	Z (a,b,c...ect)2...etc.	H(a,b,c...ect)2...etc.

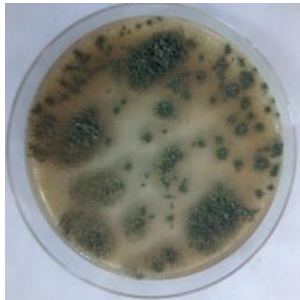


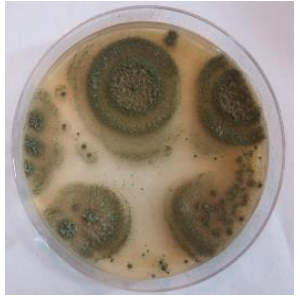





### III.2.2. Identification des souches fongiques isolées :

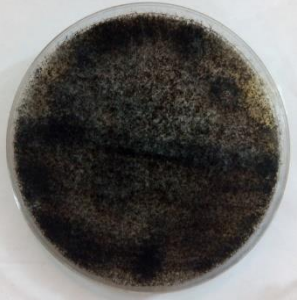
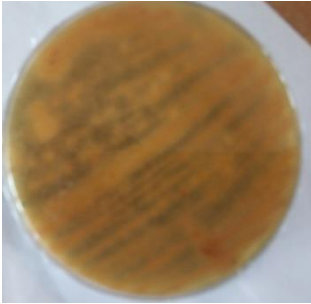




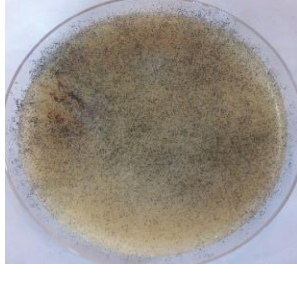


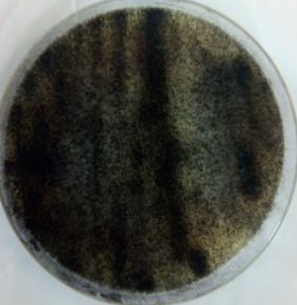

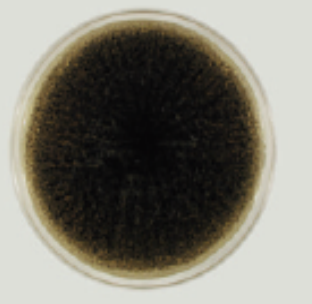
L'identification des genres fongiques a été réalisée essentiellement selon les clefs de détermination rapportée par **Botton et al.,(1990)**; **Guiraud,(1998)**; **Leyral et al.,(2003)**ainsi que celles de **Chabasse et al.,(2002)**.

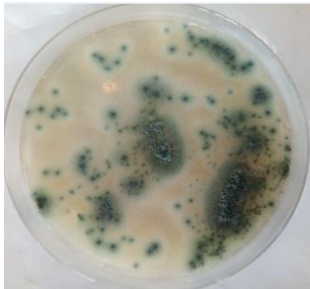
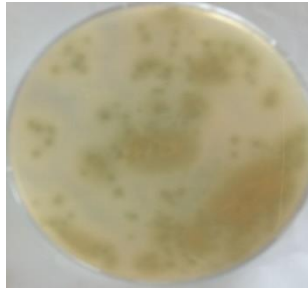
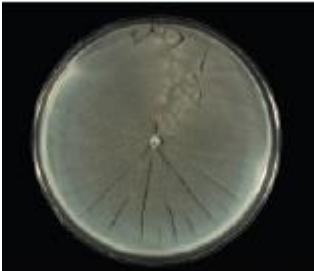
III.2.2.1. Etude macroscopique :

Les caractères macroscopiques des différentes souches, isolées des échantillons cultivés sur milieu PDA, a été réalisée par observation, à l'œil nu, des caractères culturaux tel que, l'aspect du mycélium des souches isolées, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche. Les résultats obtenus, ont été résumés dans les tableaux 9 et 10 des échantillons ANZA et HD respectivement.



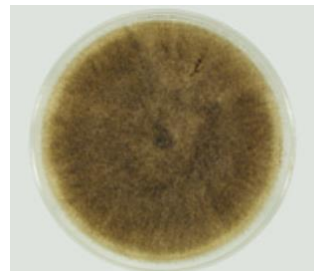
**Tableaux 9** : Caractères macroscopiques des souches isolées des échantillons de blé tendre ANZA


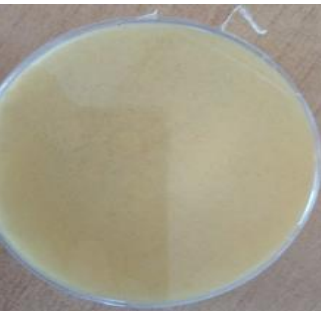
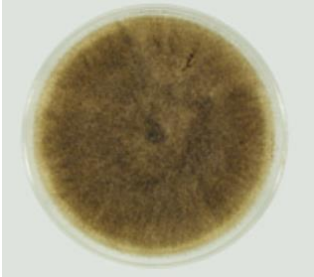


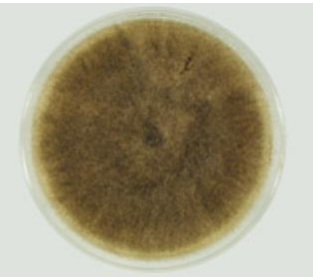
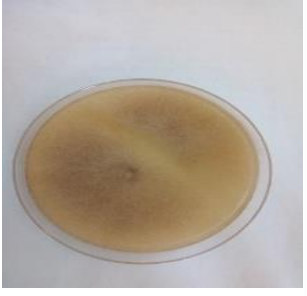

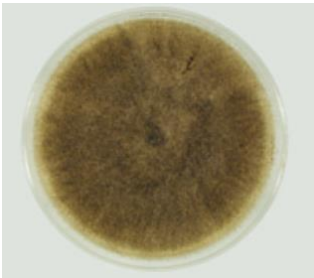


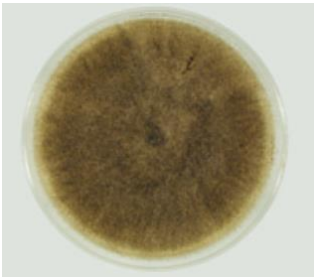
Code de la souche	Aspect macroscopique des isolats		Aspect macroscopique	Référence (Chabasse <i>et al.</i> ,2002)
	Surface	Revers		
Zb1			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.</p> <p><b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide.</p>	
Zb2			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.</p> <p><b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide.</p>	
Zc3			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.</p> <p><b>Verso</b> : incolore à jaune pâle. Croissance rapide.</p>	



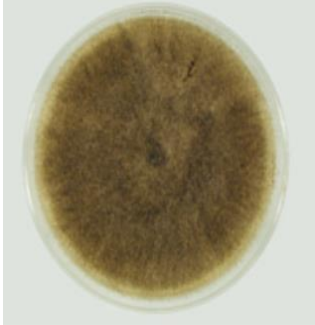


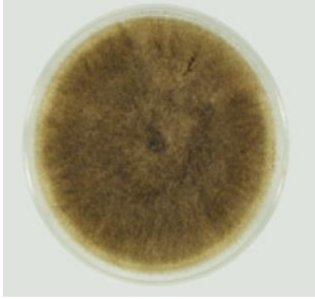
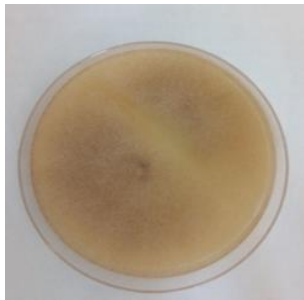
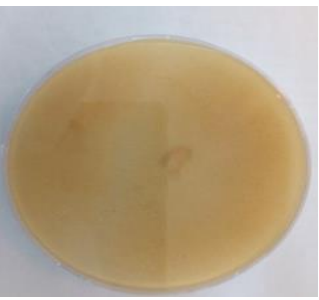
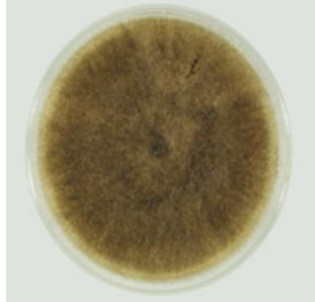
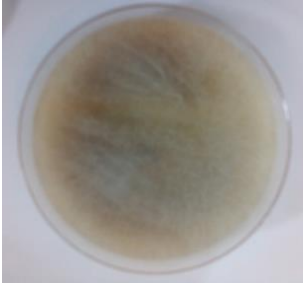

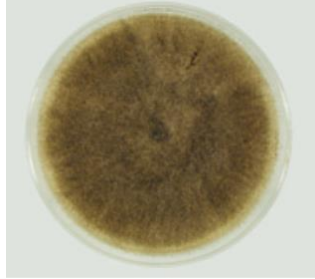
<p><b>Zc4</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle.                  Croissance rapide.</p>	
<p><b>Zc5</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle.                  Croissance rapide</p>	
<p><b>Zc6</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle.                  Croissance rapide.</p>	
<p><b>Zc7</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle.                  Croissance rapide</p>	

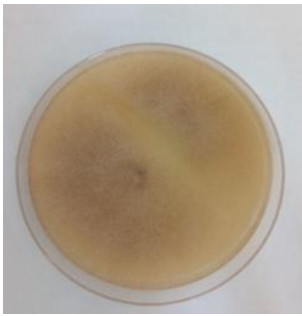

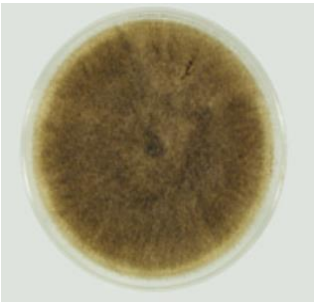
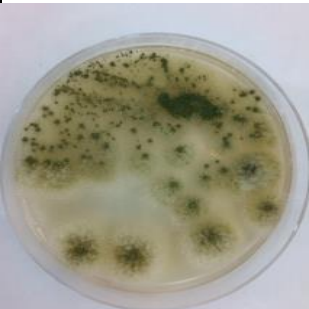
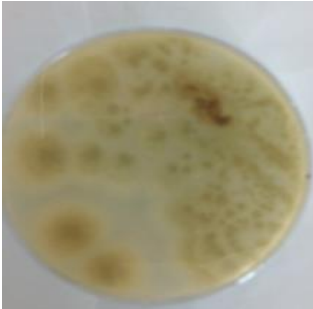





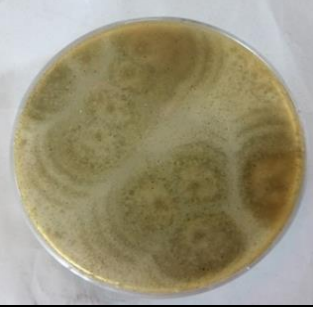

<p><b>Zd8</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies Duveteuses À poudreuse, de Couleur blanche Puis bleu-vert, virant En suite au vert Foncé à gris noirâtre</p> <p><b>Verso</b> : incolore, jaune, vert ou brun- rouge suivant les souches.</p> <p>Vitesse de Croissance très rapide.</p>	
-------------------	---	---	---	---

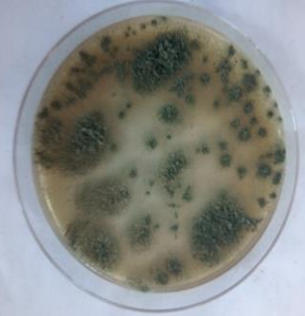





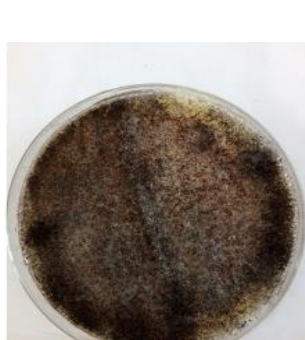

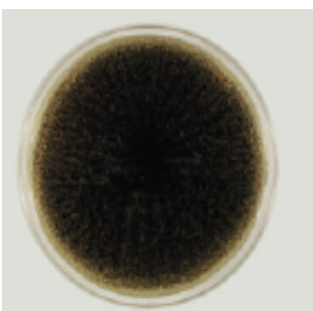



**Tableau 10** : Caractères macroscopiques des souches isolées des échantillons de blé tendre HD.

Code de la souche	Aspect macroscopique des isolats		Aspect macroscopique	Référence (Chabasse <i>et al.</i> ,2002)
	Surface	Revers		
<p><b>Ha1</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant</p> <p><b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	

<p><b>Ha2</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive</p>	
<p><b>Ha3</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	
<p><b>Ha4</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	
<p><b>Ha5</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	

<p><b>Ha6</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive</p>	
<p><b>Ha7</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive</p>	
<p><b>Ha8</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	
<p><b>Ha9</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive</p>	

<p><b>Hb10</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies ont une texture laineuse, d'abord blanches au départ, deviennent gris au brun en vieillissant  <b>Verso</b> : reste incolore. Croissance très rapide et extensive.</p>	
<p><b>Hb11</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.  <b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide.</p>	
<p><b>Hb12</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.  <b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide.</p>	
<p><b>Hb13</b></p>			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.  <b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide</p>	

<p>ZHb14</p>			<p><b>Recto</b> : colonies duveteuses à Poudreuses, d'abord Blanches, puis jaunes, puis vert-jaune.  <b>Verso</b> : incolore, rosé ou brun-rouge foncé. Croissance rapide.</p>	
<p>ZHc15</p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle. Croissance rapide.</p>	
<p>ZHc16</p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle. Croissance rapide</p>	
<p>ZHc17</p>			<p><b>Recto</b> : colonies granuleuses à poudreuse, d'abord blanches, puis jaunes, et enfin noires.  <b>Verso</b> : incolore à jaune pâle. Croissance rapide.</p>	

**III.2.2.2. Etude microscopique :**

Toutes les moisissures isolées à partir des échantillons analysés (ANZA et HD) ont été soumises à une identification microscopique une observation au grossissement X40 et X100. 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).

Dans notre étude, nous avons pu identifier deux genres de champignons.

10 souches présentes les caractéristiques suivantes :

- ✓ Filaments larges peu ou pas septés.
- ✓ Pas de stolons ni rhizoïdes.
- ✓ Sporocystophores issus le plus souvent du thalle végétatif. Ils se terminent par une columelle ovoïde sans apophyse et présentent souvent un rétrécissement sous la columelle.
- ✓ Sporocystes globuleux.
- ✓ Spores rondes à ellipsoïdales, lisses ou ornementées de spicules.
- ✓ Chlamydospores parfois présentes et abondantes

Ces souches semblent appartenir au genre *Mucor*

15 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
- ✓ Têtes conidiennes unisériées ou bisériées
- ✓ Masse conidienne rayonnante, les conidies en chaînes unicellulaires.

Ces souches semblent appartenir au genre *Aspergillus*

**Discussion :**

- 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-(**Zia-urrahman., 2006**)
- Les résultats attribués à la qualité physico-chimique indiquent que les prélèvements analysés du blé tendre (local et importé) renferment un pourcentage de grains brisés supérieur au pourcentage fixé par les normes commerciales qui imposent qu'un blé de qualité ne doit pas dépasser un pourcentage de 3% de grains cassés (**Molinié et al., 2005**). Cette augmentation dans le nombre des grains cassés pouvait être expliquée par plusieurs facteurs pouvant influencer l'état physique du grain de blé, notamment celui du local, tels que les mauvaises conditions de récolte, les caractéristiques de chaque variété, les défaillances mécaniques des appareils et surtout aux chocs infligés aux grains lors du transport mécaniques aux silos. La présence de grains brisés ne peut que favoriser le développement de foyer de contamination et par conséquent, elle ne peut être qu'en défaveur d'un stockage de longue durée (**Tahani, et al., 2008**).
- Les mesures de pH des échantillons révèlent un pH légèrement acide à neutre. Selon **Duron (1999)**, les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6. Les échantillons de la présente étude constituent un milieu favorable pour le développement des champignons (**Duron., 1999**).
- L'humidité relative qui est la quantité d'eau libre disponible dans l'échantillon est responsable de plusieurs phénomènes d'altération biologique de l'aliment notamment mycologique, (**Belli., 2004**). Notant que beaucoup de produits pauvres en eau libre non altérables par les bactéries peuvent donc être altérés par les champignons. (**Duron., 1999**).
- L'étude de la qualité microbiologique du blé tendre (local et importé) a révélé un taux de contamination total qui diffère d'une variété à une autre. Le blé tendre

importé présente un taux considérablement élevé par rapport au blé tendre local. (Tahani, et al., 2008).

- La différence de contamination fongique entre les deux variétés de blé tendre s'explique par la composition biochimique différente du blé tendre importé par rapport au blé tendre local. Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, le 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).
- La présence du genre *Aspergillus* dans la flore de contamination des céréales est signalée dans plusieurs travaux (Riba et al., 2005 ; Le Bars et al., 1987). Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage (Withlow, 2001).
- La teneur en cendre dépend essentiellement du lieu de culture et des conditions de maturation.
- Les minéraux sont présents dans le grain de blé en petite quantité, et en proportion encore plus faible dans l'albumen, moins de 1% (Matz, 1991). Le blé contient du fer, du potassium, du magnésium, du manganèse, du cuivre et du zinc. Ces constituants sont distribués principalement dans les couches extérieures et dans le germe (Manay et M., 2001). Selon Godon et Willn, (1998), la teneur et la composition minérale sont fixées quel que soit les conditions externes de la culture.
- Dans notre étude nous avons obtenu des taux de cendre qui dépasse l'énorme (1%) ce qui explique la contamination de notre échantillon, car tous les microorganismes ont besoins de micronutriments (minéraux) pour croitre. L'augmentation de la teneur en cendres du blé peut également avoir lieu suite au contact du sol lors de l'extraction du blé de l'entrepôt.

# **Conclusion et perspective**

## Conclusion et perspective

---

### Conclusion et perspective :

La détérioration du blé tendre stockée fait l'objet de nombreuses études qui ont montré que la contamination fongique de ce dernier est l'une des principales causes engendrant des pertes considérables et une variation des facteurs technologiques du blé ainsi que des pertes économiques qui sont liée à leurs effets sur la santé publique.

Dans notre travail, on s'est intéressé sur l'isolement et l'identification de quelques champignons mycotoxinogènes du blé tendre variété HD et ANZA de la CCLS de Blida. En se basant sur :

- Étude physico-chimique du blé tendre locale var HD et importé var ANZA (sain et altéré).
- Isolement ; purification et identification de la flore fongique du blé tendre stockée

Les résultats des caractères physico-chimiques ont montré que le pourcentage des grains brisées sont de 11,5% pour le blé tendre de variété HD et de 16% pour la variété ANZA. Ces pourcentages dépassent les 3%, donc c'est une entré facile pour les microorganismes notamment les moisissures attirées par la matière organique présentent dans le blé tendre, contrairement au taux d'humidité et le pH qui sont plus au moins proche. Le pourcentage d'humidité relevé est de 10,39% pour la var ANZA et de 12,1% pour la var HD. Le pH calculé est de 6,75% et 6,82% respectivement pour les variétés HD et ANZA.

Concernant la matière minérale (cendre totaux) le blé tendre var ANZA présente une valeur inferieur par rapport à celle du blé tendre HD qui est respectivement de 1 ,30% et 1,41%.

Les expériences menées ont permis d'isolé 25 souches de moisissure dans les échantillons de blé tendre var ANZA et var HD parmi eux :

- ✓ 8 isolats fongique à partir de grains sains
- ✓ 17 isolats fongique à partir de grains altérés

Et on a pu identifier 2 genres de champignons :

- ✓ 10 souches appartenant au genre *Mucor*

## Conclusion et perspective

---

- ✓ 15 souches appartenant au genre *Aspergillus*

### **Perspective :**

- Établir un système de surveillance ainsi que d'identifier les dangers associés à une contamination du blé au cours du stockage.
- Identification moléculaire des genres isolés.
- Rechercher d'éventuelle mycotoxine tout en élargissant la gamme d'analyse des aliments.

# **Références Bibliographiques**

## A

**Amari N., 2014-** Etude du choix de ponte du bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles (Cèdre, Ciste, Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. Mémoire de magistère : pp 23,25.

**Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlick B. and White N. D.G. (2001).** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les céréales. 58 p.

**Anonyme., 2006** – Les jardins potagers et la lutte biologique, Ed. S. C y. France. P45.

**Armand et Germain., 1992.** Le blé élément fondamentaux, (Ed) presses université laval, p26-30.

## B

**Bajji M, (1999).** Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et devariantssomaclonaux sélectionnés in vitro. Thèse de doctorat, faculté des sciences, université catholique de Louvain.

**Bars J. et Le Bars P., 1987.-** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section Midi-Pyrénées" à Toulouse, le 18 septembre 1987, (cf. Bulletin de l'Association des Anciens élèves de l'Institut Pasteur, 4e trimestre 1987).

**Bell A., 2000-** Lutte contre les insectes des denrées stockées au Sénégal. Ed. Biotech. Agron., Soc. p 60-61.

**Belli N., Marin S., Sanchis V. and Ramos A. J., 2004.-** Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 96: 19-27.

**Bolot S., Abrouk M., Masood-Quraishi U., Stein N., Messing J., Feuillet C. and Salse J. 2009.** The "inner circle" of the cereal genomes. *Current opinion in plant biology*, 12(2):119–125.

**Bonjean A., 2001.** Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticumaestivum* L.). Eds. Le Perhec S., Guy P. et Fraval A. *Agriculture et biodiversité des plantes. Dossier de l'environnement de l'INRA (France)*, 21 : 29-37.

**Bonneuil, Roerich R et Anglade P., 2009.** Innover autrement, la recherche face à l'avènement d'un nouveau régime de production et de régulation des savoirs en génétique végétale, Docier de l'environnement de l'INRA, 30, 2006, P.29-51.

## C

**Chabasse D., Bouchara J.P., DE Gentile L., Bruns S., Cimon B. and Penn P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n°25, Bioforma. 159 p.

**Champion, R. (1997)** Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France, 398 p.

**Coraf, 2007-** Programme de productivité agricole en Afrique de l'ouest. Plan de Gestion des pestes et pesticides. Rapport E1553., v 2. Dakar, pp 5 - 6.

## D

**Deroulers Paul ,2014.** Influence des itinéraires culturaux sur l'assemblage des communautés d'adventices en céréale d'hiver, Expertise et traitement en Environnement, p16.

**Djermoun A., 2009.** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Revue Nature et Technologie, 1 : 45-53.

**D'Mello J. P. F., Macdonald A. M. C., 1997.-** Mycotoxins. Animal Feed Science and Technology, 69: 155-166.

**Dufresne P., & St-Germain G., 2013-** Identification des champignons d'importance médicale : Stage de laboratoire, Laboratoire de Santé Publique du Québec, 57 p.

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

## F

**FAOSTAT., 2019.** Division de la Statistique.

**FAO., 2017.** Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), FAOSTAT., bulletin Bilanproduction.

**FAO, 1984.** Pertes de qualité des graines alimentaires. FAO, alimentation et nutrition, PUBL-N29, ROME (ITALIE).

**FEILLET, 2000. Feillet. Pierre., 2000.** Le grain de blé, composition et utilisation, Editions QUAE, P, 308.

**Fellahi Z., Hannachi A., Guendouz A., Bouzerzour H. et Boutekrabt A., 2013.** Genetic variability, heritability and association studies in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Electronic Journal of Plant Breeding, 4, pp 1161-1166.

**Feillet., 2000.** Le Grain de blé : composition et utilisation, Editions Quae, P.124-128.

## G

**Godon B. (1982).** Valeur meunière et boulangère des blés tendres et de leurs farines conservation et stockage des grains et produit dérivé céréales, oléagineuse protéagineux aliments pour animaux, p. 1009 –1028.

**Gelinas P. (1995)** Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.

**Gwimer J., Harnisach R. and Mück O. (1996)** manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p.

## I

**Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC), 2010.** Cultures et coûts de production des grandes cultures. ITGC, Alger, 96 p.

## K

**Kheladi M. (2009).** L'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes. Recherches économiques et managériales. N° 6 : 32-67 pp.

## M

**MADRP, 2014.** Statistique agricole : superficies, productions et rendements, série B 1980-2013.

**Mason A., Lee R., Abrigo M. and Lee S. H., (2017).** Support Ratios and Demographic Dividends: Estimates for the World United Nations Department of Economic and Social Affairs Population Division Technical Paper No. 2017,47 P.).

**Meghazi, N. (2015).** Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké (Doctoral dissertation).

**Molinié 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. Food chemistry, 92: 391-400.

**Moreau C. (1996)** les mycotoxines. In: Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec & Doc. Paris, pp.176-185.

**Multon J.L., (1982)** - Conservation et Stockage des grains et graines et Produits dérivés-Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris : pp 576.

**Multon J-L ,1982.** Les mécanismes d'altération des grains et graines dans l'écosystème post-récolte. Les pertes qui en résultent et les stratégies de défense des produits. IN : MULTON J-L (ED) conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés lavoisier tec &DOC, PARIS, VOL.1, 1-5.

## N

**Nacef et Sadok Y., 2004** - Contribution à l'inventaire des insectes et estimation des pertes du blé tendre stocké dans une région semi-aride (CCLS de Khemis – Miliana) et région humide (CCLS de Ténès). Thèse. Ing. Agro., C.U.K.Miliana, 84p.

**N. manay Shakuntala, M. shadaksharaswamy,** "foods: facts and principles". Second Edition. New age international publishers, 2001.

## P

**Pageau D. and Fillion P. (2009).** Fusariose : réduire les risques aux champs présentation lors de la journée d'information sur les mycotoxines.

**Parry, D., Jenkinson.P. and Mcleod. L. (1995)** « Fusarium Ear Blight (scab) in Small-Grain Cereals - a Review ». *Plant Pathology*. 44 (2), 207-238.

**Pfohl-Leszkowicz A.** Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Paris: Tec&Doc, 1999. 478.

**Pitt J.I. and Hocking A.D. (1991)** Significance of fungi in stored products, Proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand: Fungi and mycotoxins in stored product, 16-21.

**Proctor, D.L. (1995)** Techniques d'emmagasiner des grains : évolutions et tendances dans les pays en développement, Bulletin des services agricoles de la FAO n°109, FAO, Rome.

## R

**Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F. and Million L. (2010)** Pollution atmosphérique, Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées, *Revue française d'allergologie* 50 : 611–620.

**Reed C. 1992.** Development of storage techniques: A historical perspective. In *Storage of Cereal Grains and Their Products*. Edited by D. B, Sauer, St Paul: 143-156.

**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.

## S

**S. matz,** "the chemistry and technology of cereals food and feed " second Edition. Springer. 751 p. 1991.

**Sanson A., Gaba M., Auger J. et Guignard J., 2002-** Analyses of insecticide activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera:Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera:Pteromalidae). *J. Stor. Prod. Res.* 38: pp 129 – 138 p.

**Sudesh J., Kapoor A.C., 1992.** effets de stockage et insect infestation sur la protéine et la digestibilité de céréales. *FOOD chemistry*, 44, 209-212.

**Surget A., et Barron C. 2005.** Histologie du grain de blé, *industrie des céréales* 145 :4-7.

## T

**Tahani N., Elamrani A., Serghini-Caid H., Oouzouline M. et Khalid A., 2008.-** Isolement et Identification de souches de moisissures réputées toxigènes. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 2 (01) : 81-91.

**Talamalil, (2000).** La libération du marché des céréales en Algérie office algérien interprofessionnel des céréales OAIC Acte du premier symposium international sur la Filière blé, Alger, Algérie, P.11- 18.

## V

**Vachon1. É, Vanasse. A, Rioux. S, Dion. Y, Gauthier. A et Despérrier Roux. J.**

**Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perrone G. Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T., Samson R.A., 2014-** Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*, *Studies in Mycologie*, Vol 78: 343- 371.

## W

**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* 504: 3-17.

**Withlow L.W. and Hagler W. M. (2001).** Mycotoxin contamination of feedstuffs-An additional stress factor for dairycattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovinslaitiers. CRAAQ, Québec.

## Y

**Yiannikouris A., Jouany J. P., 2002.-** Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review, *Anim. Res.*, INRA, EDP Sciences, 51: 81-99.

## Z

**Zia-Ur-Rahman K., 2006.-** Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. *Food Chemistry*, 95 : 53-57.

**Zeghouane O., Boufenar-Zeghouane F. et Yousfi M., 2008.** La technologie semencière : la production de semence des céréales à paille en Algérie. Edition ITGC, 138 p.

# **Annexes**

**ANNEXES : Compositions des milieux de cultures utilisés PDA**

La composition pour 1 litre est suivante :

Pomme de terre	200g
Agar	15g
Glucose	20g
Eau distillée	1000ml

**N.B : Tous les milieux sont stérilisés par autoclavage durant 15 minute à120°C**

