

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologique

Spécialité: Microbiologie appliquée.

Intitulé :

**Isolement et identification des microorganismes à partir
d'une collection végétale du service commun de
recherche pôle de vulgarisation botanique.**

Présenté par :

✓ Zouaia Ouissem
✓ Yezli Rayane.

✓ Ahmed seidChaima
✓ Yessaad Raghda

Membre de Jury:

Mme.Nasser.M	(MCB)	Présidente	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Zadri .F	(MCA)	Promotrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Labid .A	(MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

REMERCIEMENT

*En guise de reconnaissance, je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame **ZADRI FETHIA**, d'avoir accepté de m'encadrer qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Je remercie docteur **docteur Nasser** dans le département de science de la nature et de la vie pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury.*

*Je remercie **labid Asma** professeure dans département de science et de la nature et de la vie d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma formation et surtout Mme **.Machiaa Laila** .*

Mes vifs remerciements vont, également, à tous les techniciens et ingénieurs du département de biologie pour leur aide et surtout pour leurs gentillesse.

Enfin, je remercie toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.

الإهداء

بعد بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ و الصلاة و السلام على سيدنا محمد أشرف المرسلين و على آله و صحبه

أجمعين و بعد .

الحمد لله وحده ال شريك له .. الحمد هلل الذي بنعمته تتم الصالحات و بفضلله تتحقق المقاصد و الغايات ..

الحمد هلل الذي آتانا من علمه و لو قليل .. الحمد لله الذي هون علينا تعب السنين و شتى المشقات لنجازى

اليوم بأجمل اللحظات.

في هذا اليوم الذي طال انتظاره أتوجه بكل الشكر و الامتنان لكل من كان له فضل علي في مسيرتي

التعليمية . لكل أساتذتي الكرام ممن درسوني خلال كل الاطوار

إلى بؤرة النور التي عبرت بي نحو الامل و الاماني الجميلة الى من اتسع قلبه ليحتوي حلمي حين ضاقت بيا الدنيا فروض الصعاب لأجلي و سار في حلقة الدرب ليغرس معاني النور و الصفاء في قلبي إلى من علمني أن أصمد أمام أمواج البحر الثائرة ، إلى من رفعت رأسي عالياً افتخاراً به دائماً إلى قدوتي الأولى و سندي في الحياة ،

ابي الغالي

الى من بسمتها غايي و ما تحت قدميها جنتي الى من حملتني في بطنها و سقتني من صدرها و اسكنتني قلبها فغمرتني بحبها .الى

صديقتي الحميمة الى من لا اقتباس ينصفها و لا نص يكفي للحديث عنه،

امهي الغالية

إلى من هم سندي و ملاذي و رمز فخري و اعتزازي الى اعلى ما املك

الى اخوتي محمد سفيان و جابر

الى صديقتي الاولى الى نصف ابنتامي و حياتي الى وحيدة فؤادي

اخوتي امينة

الى ابن قلبي و حبيب الروح حفظك الله و رعاك و انبتك نباتا حسنا

زين

الى من طفرت بهم هدية من القدر الرفقاء الدرب و الطريق الى من شاركوني حزني قبل فرحي و دموعي قبل ضحكاتي الى اخوات

القلب و صديقات العمر

امينة هند و ملاك

الى رفيقات مشوار الماستر 2 اللاتي قاسمني لحظاته بحلوها و مرها

رغد شيما و ريان

الى زوجة اخي و كل افراد عائلتي كل باسمه و صفته

اهديكم هذا العمل المتواضع املة ان تجدوا من خلاله اصدق المشاعر الحب و التقدير و ان يزيدكم فخرا و شرف .. متمنية لكم كل

السعادة و التوفيق في حياتي

وسام

Dédicace

First and foremost, I would like to thank God for guiding me to complete this thesis.

*I humbly dedicate this profound work to **my beloved parents**, whose unwavering prayers have been the guiding force that propelled me to the culminating stage of my academic expedition.*

*I cannot forget my only sister **MAIak**, who stood by my side through all the difficulties. My aunt, who holds a special place in my heart, thanks to her support and encouragement. Remarkable individuals, without whom this accomplishment would not have been possible.*

*I also want to express gratitude to my **chingu wafa** , who was a pillar of strength and a listening ear for all my problems throughout the journey.*

*Would like to express my profound gratitude to the members of my thesis group **raghda , wissem and chaima**, whose collaboration and dedication have been invaluable throughout this research. Each member has contributed their unique skills and perspectives, enriching the project and elevating its quality.*

*a heartfelt appreciation to **the seven lights** that illuminated my path from the beginning; they hold a special place in my heart.*

Finally, I express my heartfelt appreciation and raise my hat in acknowledgment to these.

In this moment of profound gratitude, I cannot overlook the steadfast support of my cherished sister, who stood resolutely by my side, providing solace and strength throughout the arduous journey.

Rayane

dédicase

Après avoir remercié dieu

Je dédie ce travail...A la Lune de ma vie a qui m'a donné de ça santé et de son temps, a qui m'a soutenu dans mes jours difficiles qui m'encouragent toute le temps à faire de plus, Qui a tout endurée pour m'offrir le bon entourage pour finir mes études à ma chère MAMAN M. ZABIDA

A mon héros, qui m'a comblé de soutien et sacrifice dans sa vie, à qui m'encourage dans ma vie. Dieu seul sait combien je l'aime .Sans vous et vos prières, je n'arrive pas à ce stade.

A mon meilleur papa "AMMAR "

A mes chers Frères Qui m'ont facilité la vie avec leur soutien mes frères MOHAMED et TABET

A mes chères sœurs : SARA ASSIA KHADIDJA Je n'oublierai jamais vos encouragements et votre tendresse.

A mes meilleures amies : WISSEM CHAIMA RAYANE

Je vous dédie ce travail pour tous les jours qu'au on a partagé ensemble, vous rendus mes années universitaires plus beaux. Je ne trouve pas les mots pour vous remercier pour vos soutiens, tendresse, encouragements dans mes moments difficiles avant les moments heureux.

A Les petits : LOUKMAN YOUSSEF

ZAHRA ISRAA MERIEM

A toutes membres de famille qui reste à mes cotés :

MES COUSINES

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

RAGHDA YSD.

Dédicace

À l'aide de dieu tout puissant , qui m'a tracé le chemin de ma vie .

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

A celle qui ma mise en monde, à la lumière de mes yeux, le bonheur de ma vie, Ma mère pour son soutien et ses conseils durant toutes mes années d'étude.

A mon cher père qui m'a toujours encouragé et soutenu sans cesse, pour ses sacrifices. pour lequel je souhaite une longue et heureuse vie pleine de bonheur, pour leurs sacrifices sans limites, leur amour et leur encouragement.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à:

A mon cher fiancé pour leurs soutiens et leurs sacrifices dans tout l'année de mes études .

A ma grand-mère qui me donne toujours l'espoir de vivre et leurs encouragements .

A ma chère sœur Wiam et mes chers frères khaled et Moncef qui le dieu me protège .

A toute ma grande famille (Hanane , Samia , Amira , wassila et Yacine ...) surtout à tout mes amies en particulier (Abir , soulef ,khawla , asma , Meriem).

A la fin je dédié très chaleureusement ce mémoire a mon Trinôme d'étude Raghda wissem et Rayane .

Merci pour tous .

Chaima

Liste des abréviations :

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

G : gramme

G : grossissement

GN : gélose nutritive

kg : kilogramme.

L : litre

min : minute

ml : millilitre

min : minute

mm : millimètre

PDA : Potato Dextrose Agar

PH : potentiel hydrogène

SP : espèce

C° : degré Celsius

% : pourcentage

BPH : Bonne pratique d'hygiène

BPF : Bonne pratique de fabrication

Liste des figure :

Figure	Titre de figure	Page
01	schéma représentatif du circuit des denrées au cours du stockage	4
02	schéma des opérations de constitution des banques de semences d'espèces végétales	6
03	coupe schématique d'un grain de blé	7
04	les principaux pays producteurs de blé dans le monde	8
05	anatomie de l'embryon du grain de coton	10
06	gale de l'épi sur blé dur provoquée par <i>F.culmorum</i>	12
07	(A) : symptômes typiques de la tache septorienne provoquée par <i>s.tritici</i> sur blé dur, (B) : symptômes évoluée de la tache septorienne sur le blé tendre, (C) : symptômes typiques de la tache des glumes déterminés par <i>s.nodorum</i> sur le blé	13
08	les rouilles du blé (A) : les rouilles brune sur feuille de blé (B)	14
09	rouille du maïs sur les feuilles	15
10	symptômes de <i>rhizoctonia solani</i> sur le maïs	15
11	symptômes et caractéristiques morphologique de <i>colletotrichumgossypii</i> var <i>.cephalosporioides</i> .A. plantes inoculées présentant des lésions typiques sur les jeunes feuilles .B.conidies .barre d'échelle =20µm.C-D.cultures sur PDA ,7jours de croissance a partir d'une seule conidie, de haut en bas	16
12	principaux caractères morphologique des <i>aspergillus</i>	17
13	schéma d'un pénicille	18
14	principaux caractère morphologique de <i>penicillium</i>	19
15	carte géographique de site d'accueil	19
16	site d'échantillonnage	20
17	échantillons de prélèvement sur la collection des céréales	21
18	méthodes de prélèvement de poudre	22
19	Prélèvement des graines	24

20	Ensemencement des échantillons	25
21	désinfection des graines	26
22	isolement des échantillons par la techniques d'épuisement par stries (les milieux de cultures PDA+GN)	27
23	purification des colonies des champignons	28
24	les étapes de préparation de la lame pour l'état frais	29
25	les étapes de coloration de Gram	30
26	préparation de la lame pour l'identification microscopique des souches	34
27	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) : coloration de gramme de <i>Bacillus Sp.G40X10</i>	35
28	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Penicillium Sp.G40X10</i>	36
29	L'Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Cladosporium flavum.G40x10</i>	36
30	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Rhizophus satolonifer40X10</i>	36
31	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Rhizopus spG40X10</i>	37
32	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) d' <i>Aspergillus niger G40X10</i>	37
33	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) d' <i>Aspergillus fimugatus.G40x10</i>	38
34	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) d' <i>Aspergillus flavus G40X10</i>	38
35	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) <i>Alternaria Sp.G40X10</i>	39
36	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) du <i>Fusarium spG10X10</i>	39
37	Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) du <i>Mucor sp G40X10</i>	40
38	Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichophyton sp G40X10</i>	40
39	Aspect microscope d'arthropodes G40X10	41
40	Aspect microscopique des souches fongiques non identifie	42

Listes des tableaux

Tableau	Titre de tableau	Page
01	classification botanique du blé	8
02	Classification botanique du maïs	9
03	les principales moisissures contaminant les céréales	18
04	Présentation des genres des souches obtenus	32

Table des matières

Remercîment	
Dédicace	
Listes des abréviations	
Listes des figures	
Listes des tableaux	
Table des matières	
Résumé	
Introduction.....	1
Chapiter I : Syntèse Bibliographique.....	3
I- Stockages des grains et collections :.....	3
I-1- Les collections inertes :	3
I-1-1 L'intérêt des collections :	3
I-1-2 Les types de collections :.....	5
a- in situ :	5
b- ex situ :	5
I- 2-Généralité sur les céréales	7
I-2-1- Le blé :.....	7
I- 2-1-a Importance du blé à l'échelle mondiale :	8
I-2-1-b Importance du blé en Algérie :	9
I-2-2 Le maïs (<i>Zeamays</i>) :	9
I- 2-2-a Importance du maïs dans le monde :	9
I- 2-2-b Importance du maïs en Algérie :	10
I-3- Le cotonnier.....	10
I-2-3 Importance du cotonnier :	10
II-Microorganismes pathogènes et les végétaux.....	11
II-1- Bactéries	11
II-2- Les champignons :.....	11
II-2-1 Définition :	11
II-2-2 Les Facteurs De Croissance Des Champignons :	11
II-2-2 –a La température :	11
II-2-2-b L'humidité :	11
II-2-2 –c Le pH :	12
II-2-2Les arthropodes :	12
II-2-1 Les maladies fongiques du blé :	12
II-2-1-1 La fusariose :	12

II- 2-1-2 La Septoriose :	13
II-2-1-3 Les rouilles :	13
II-2-2 Les maladies fongiques du maïs :	14
2-2-1 Le charbon commun :	14
II-2-2-2 Rouille du maïs :	14
II-2-2-3 Rhizoctone :	15
II-2-3 Les maladies Fongique de coton :	15
II-2-3-1 La maladie du ramulose :	15
II-2-4 Principales moisissures d'altération des céréales stockées :	16
2-4-1 Le genre <i>Aspergillus</i> :	16
II-2-4-2 Le genre <i>Penicillium</i> :	16
II- 2-5 L'effet néfaste des champignons sur les semences :	17
II-2-6 Traitement des graines lors de stockage :.....	18
Chapitre II : Matriel et Methodes	19
I- Description des structures apparentées au travail	19
I-1 Site d'accueil :	19
I-2 Site d'échantillonnage :	19
II- Matériel et Méthodes :	20
II-1 Matériel végétal :	20
II-1-1-prélèvement de poudre :	20
II-1-2-Prélèvement des graines :	21
II-2 Méthodes :	22
II-2-1 Préparation des milieux de cultures :	22
II-2-1-1 Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) :	22
II-2-1-2 Milieu GN (Gélose nutritive) :	23
II-2-2 Ensemencement des milieux de culture :	24
1- Pour le prélèvement en poudre :	24
2- Pour les prélèvements en graines :	24
Désinfection des graines de cotonnier :	24
Ensemencement des graines :	25
II-2-3 Repiquage et purification des souches :	26
II-2-4 Identification des souches	27
II-2-4-1 Cas des bactéries	27
II-2-4-2 Cas des champignons	28
a-Caractérisation macroscopique :	29
b-Caractérisation microscopiques	30
II-2-4-3 Préparation des lames pour la microscopie.....	30
a-Technique de scotch :	30

Chapitre II: Résultats et Discussion	31
I- Résultats	31
I-1 Isolement et identification la flore fongiques et bactériennes :	31
1- 1. Isolement et identification de Bactéries :	34
1-2 Identification de genres fongique :.....	37
1-2-1 Penicillium Sp.	35
I-2-2 Cladosporium Flavum :	35
2-3 Rhizopus stolonifer :	38
2-4 .Rhizopus sp :	36
2-5 Aspergillus Niger :	39
2-5 Aspergillus fimugatus :	37
2-6 Aspergillus flavus :	40
2-7 Alternaria sp :	41
2-8 Fusarium sp :	39
2-9 Mucor sp :	42
2-10 Trichophyton sp :	40
3- Les arthropodes :	43
4- .Les Microorganisme non identifiées :	41
II- Discussion :	44
Conclusion	47
LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	49

Résumé :

La contamination par les microorganismes représente l'une des causes majeures d'altération de collections végétales stockées, et leur importance est encore trop souvent sous-estimée. Les altérations causées par les moisissures du stockage, entraînent des pertes sur les plans technologique, commercial, hygiénique et nutritionnel.

Notre objectif par ce travail, est l'isolement et l'identification des différents microorganismes présents dans une collection végétale du service commun de recherche, pôle de vulgarisation botanique de Skikda, qui est une collection très précieuse et diversifiée datant des années cinquante. A cet effet, un échantillonnage a été fait à partir des graines de blé et de cotonnier et les épis de blé et de maïs et ont été isolés sur deux milieux de culture pda et gn

Les résultats obtenus révèlent la présence de huit genres identifiés de champignons pathogènes et opportunistes tels que le *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Mucor* et un genre de bactérie : *Bacillus*. Ceci démontre une grande diversité des moisissures rencontrés et indique un niveau élevé de détérioration de la collection. De plus, la grande fréquence de moisissures sur les graines de coton non désinfectées en comparaison avec celles désinfectées, démontre que les graines n'ont pas été traitées avant leur stockage, ce qui a favorisé la multiplication fongique avec les conditions environnementales non contrôlées. De ce fait, le traitement des semences et le contrôle des conditions de stockages sont des facteurs très importants pour la durée de vie des semences et leur qualité. A travers notre étude, il est impératif de trouver des solutions pour sauver les espèces végétales de cette collection et d'avertir le personnel d'entretien sur les mesures sanitaires à prendre pour leur santé.

Mots clés : Collection végétale, moisissures, stockage, bactéries, les champignons

Abstract :

Microbial contamination is a significant factor leading to the deterioration of preserved plant collections, yet its importance is often underestimated. Storage molds cause losses in terms of technology, commerce, hygiene, and nutrition.

The objective of our study is to isolate and identify the different microorganisms present in a valuable and diverse plant collection dating back to the 1950s, located at the joint research service and botanical extension pole of Skikda. To achieve this, we conducted sampling from wheat and cotton seeds, as well as wheat and corn ears, which were then isolated on two culture media : potato dextrose agar (PDA) and nutrient agar (GN).

The results obtained indicate the presence of eight identified genera of pathogenic and opportunistic fungi : *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichophyton*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Alternaria*, and *Mucor*. Additionally, one genus of bacteria, *Bacillus*, was identified. This diversity of molds highlights a significant level of deterioration within the collection. Furthermore, the higher occurrence of molds on non-disinfected cotton seeds compared to disinfected ones suggests that the seeds were not treated prior to storage, allowing uncontrolled fungal growth under environmental conditions. Consequently, seed treatment and proper storage control are crucial factors for preserving seed lifespan and quality. Our study emphasizes the urgent need to find solutions for preserving the plant species in this collection and to educate the maintenance staff about necessary sanitary measures.

Keywords : Plant collection, molds, storage, bacteria, fungi.

التلوث بالكائنات الدقيقة هو واحد من الأسباب الرئيسية لتدهور مجموعات النباتات المحفوظة ، وغالبًا ما يتم تقدير أهميتها بشكل غير كافٍ بسبب العفن التخزيني خسائر في التكنولوجيا والتجارة والصحة والتغذية.

هدف دراستنا هو عزل وتحديد مختلف الكائنات الدقيقة الموجودة في مجموعة النباتات القيمة والمتنوعة التي تعود إلى الخمسينيات في خدمة البحث المشترك وقطب التعميم النباتي في سكيكدة. لتحقيق هذا الهدف ، أجرينا دراسة على بذور القمح وسنابله والقطن والذرة ، ثم عزلناها في نوعين من أوساط الزرع: (PDA) و (GN).

أظهرت النتائج الحاصلة وجود ثمانية أنواع من الفطريات : الكلاوسوبوريوم والفيوزاريوم والبنسيليوم والتريكوپيتون والرايزوبوس والأسبرجيلوس والألتيرناريا والميوكور وجنس واحد من البكتيريا: باسيلوس. هذه الأنواع من العفن تبرز مستوا كبير من الضرر داخل المجموعة النباتية . وعلاوة على ذلك ، تكون درجة تواجد الفطريات على بذور القطن غير المعقمة اعلى بالمقارنة بتلك المعقمة وهذا راجع الى عدم معالجة البذور قبل التخزين ، مما يسمح بنمو فطري غير متحكم فيه بوجود ظروف بيئية مساعدة. وبالتالي ، فإن معالجة البذور ومراقبة تخزينها هي عوامل مهمة للحفاظ على عمرها وجودتها. تؤكد دراستنا على الحاجة الملحة لإيجاد حلول للمحافظة على أنواع النباتات في هذه المجموعة وتوعية العاملين في هذا المركز بالإجراءات الصحية اللازمة.

الكلمات المفتاحية: مجموعة نباتية ، عفن ، تخزين ، بكتيريا ، فطريات.



INTRODUCTION

Le grand nombre des espèces végétales rares ou endémiques existant en Algérie, appelle à d'urgentes solutions de préservation de la flore. L'établissement d'un réseau de banques de semences pourrait fournir la solution la plus pratique à ce problème. Actuellement, il est techniquement possible de préserver à long terme des semences viables, en utilisant des méthodes de conservation. Les banques de semences revêtent alors une grande importance voire impérative et constituent donc, un complément à la conservation des espèces végétales au sein de leurs habitats naturels (Meddouri et drridji , 2007).

Cette diversité a été très remarquée par l'occupation coloniale, qui a mis un réseau de jardins botaniques rassemblant des espèces très diversifiées locales et aussi introduite. Parmi eux, les jardins de notre université.

En effet, les jardins de l'Université 20 Aout 1955 de Skikda (jardin botanique et jardin mexicain) sont très anciens. Ils comptent parmi les vestiges de l'ancienne école d'agriculture de Philippeville créée en 1900 et font partie d'un ensemble d'espaces verts (Sakhraoui et al, 2019). Le jardin botanique à une collection végétale créée depuis les années cinquante.

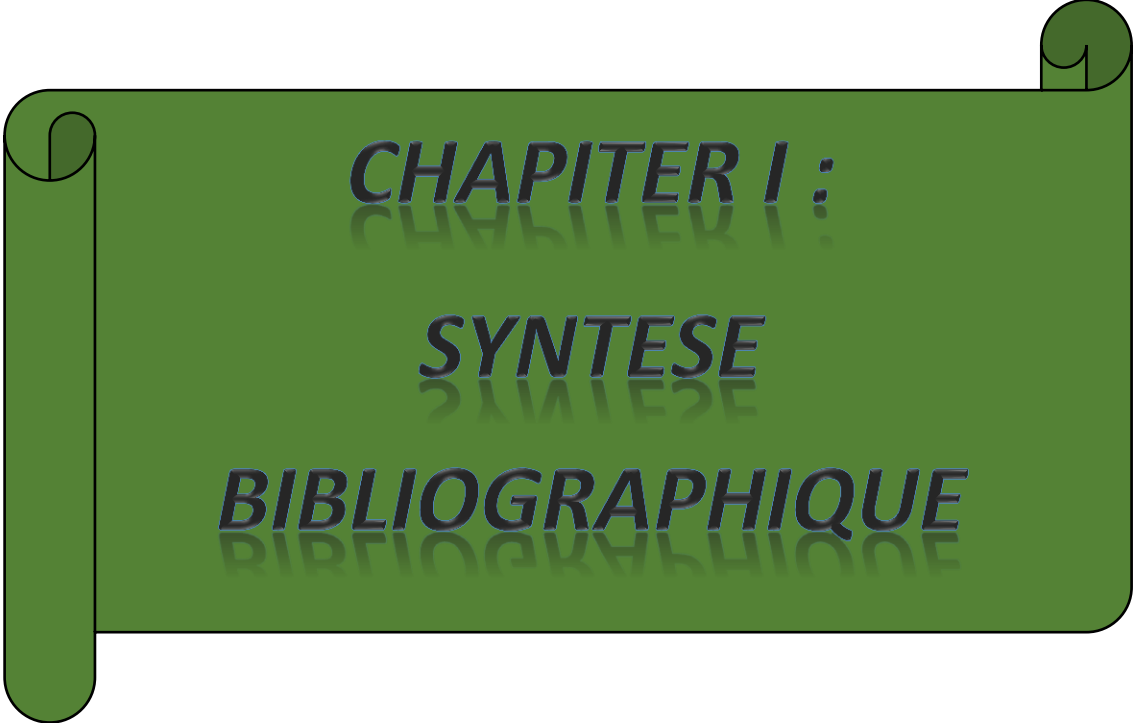
Les céréales sont des produits stockés à long terme et présentent une facilité pendant leur transport. Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertébrés, insectes, moisissures, acariens, etc.), engendrent des altérations de la qualité du grain et ainsi que la production des mycotoxines nocives à la santé des consommateurs, ils causent la perte d'une grande partie des récoltes de denrées stockés à cause des conditions environnementales (la température, l'humidité, le pH et de composition des grains de céréales), qui peut entraîner l'attaques par les moisissures, la synthèse et l'accumulation de toxines Dans l'aliment (Lakhial, 2018).

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).

Les techniques microbiologiques jouent un rôle essentiel dans l'identification des microorganismes dans les collections végétales. Elles permettent de détecter les pathogènes, de caractériser les symbiotes bénéfiques, d'étudier la diversité microbienne et de contribuer à la conservation des ressources génétiques. Ces informations sont précieuses pour la protection des plantes, l'amélioration de l'agriculture et la préservation de la diversité biologique.

Dans cette optique, l'objectif de notre travail est l'isolement et l'identification des agents pathogènes dans la collection de semences du Service Commun de recherche. Pole de vulgarisation botanique de l'université 20 Aout 1955.Skikda. Cette identification permettra de juger de l'état phytosanitaire actuel de cette précieuse collection, afin de pouvoir préserver ces ressources génétiques. En effet, cette étude constitue une première étape cruciale, pour déterminer les moyens de gestion et de préservation à court et à long terme de cette collection.

Pour ce faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre étude a été réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les collections et le stockage des végétaux, généralité sur les céréales et les semences étudiée, généralité sur les moisissures et particulièrement les genres d'altération et le traitement des gaines lors de stockage. La deuxième partie, illustre le matériel et les méthodes utilisés ainsi que les principaux résultats obtenus et la discussion. L'étude est achevée par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus et des perspectives qui en découlent.



CHAPITER I :
SYNTESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapiter I : Syntése Bibliographique.

I- Stockages des grains et collections :

Le stockage est l'opération qui consiste à la conservation des céréales, pour une période donnée, dans un magasin suivant des règles qui permettent la bonne conservation des grains (**Laurent et al.,2003**).Les céréales sont produites une fois par an et leur utilisation s'étalent sur toute l'année, d'où la nécessité de les conserver soit à la ferme (production nationale) soit auprès d'organismes spécialisés (production nationale et importation). Le bon stockage et la bonne conservation ont pour but de préserver au maximum les qualités originelles des grains (**Ndiaye, 1999**). Il existe différents modes de stockage : Stockage dans des silos souterrains (Matmoura) ; Stockage en vrac ; Stockage en sac ; Stockage en silo métallique : Stockage dans des silos en béton armé. Le circuit des denrées au cours du stockage est représenté dans le schéma de la **Fig 01**.

I-1- Les collections inertes :

Les collections inertes sont des outils essentiels à la connaissance de la diversité du monde végétal et à l'identification des plants, dont les jardins botaniques font un usage courant. La constitution des collections est le résultat d'un travail d'échange et de recherche accumulés au fil des années (**Joly, 2019**).

I-1-1 L'intérêt des collections :

Une banque de semences (graines), qui ne constitue en aucun cas un substitut – mais plutôt un complément- à la conservation des espèces végétales au sein de leurs habitats naturels.

Les banques de semences sont une méthode d'urgence pour la conservation des plantes et assurent deux fonctions majeures :

- ❖ Préserver à long terme les semences des espèces végétales rares ou endémiques, et ainsi Éviter d'éventuelles extinctions d'espèces vulnérables ou en danger dans un futur proche,
- ❖ Améliorer la disponibilité du matériel végétal difficile à obtenir pour des objectifs de recherches appliquées en phytotaxonomie, stimulant ainsi la connaissance de ce matériel (**Meddour et Derridji, 2007**).

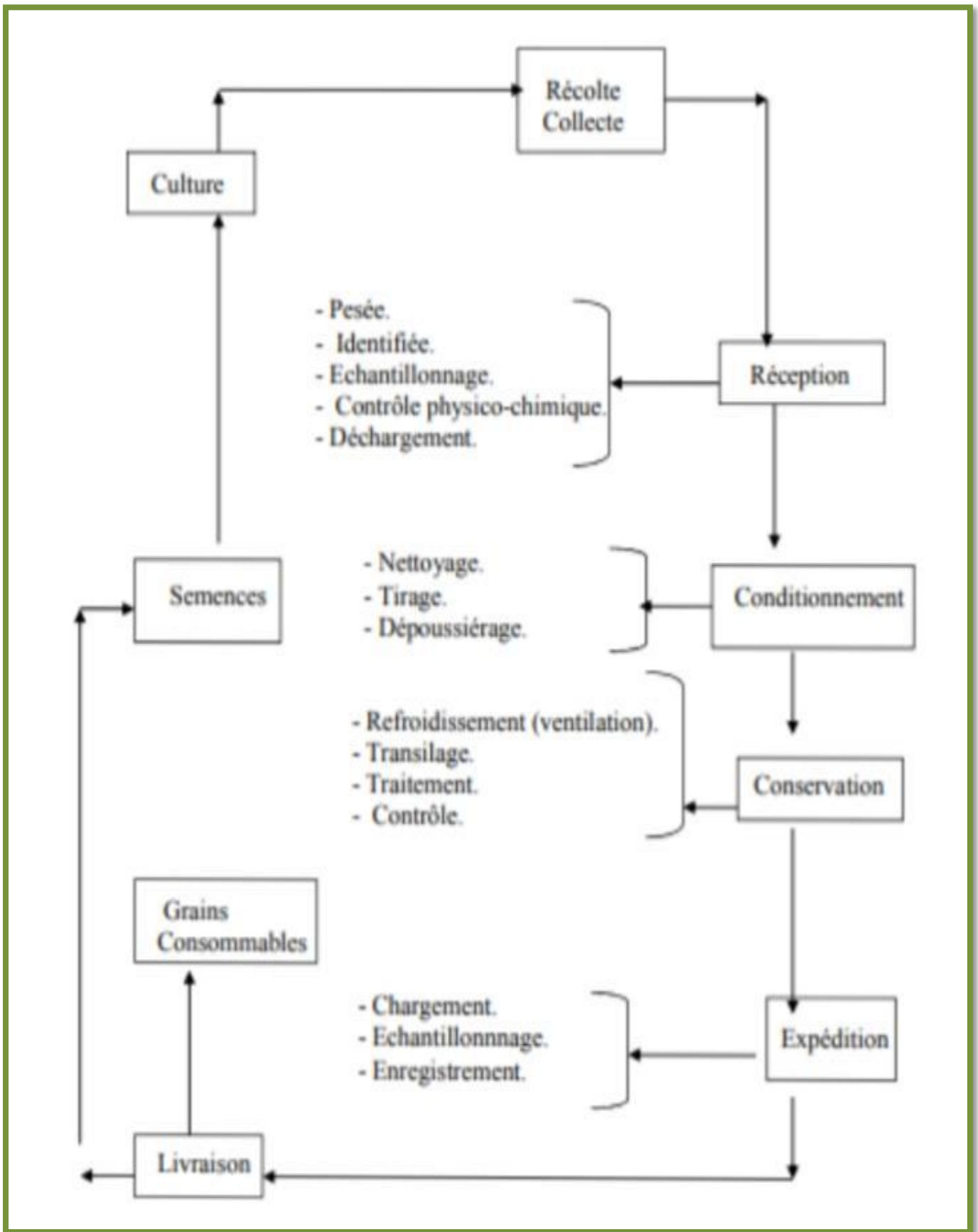


Figure 01 : Schéma représentatif du circuit des denrées au cours du stockage (Philippe, 2004)

I-1-2 Les types de collections :

a- *in situ* :

Depuis les années 1970, l'Algérie accorde une grande importance à ces ressources Phylogénétiques par des inventaires floristiques et faunistiques afin de conserver la Biodiversité. Compte tenu de l'érosion génétique que subissent les écosystèmes forestiers, la Conservation *in situ* est l'une des étapes fondamentale. L'intensification des Recherches dans le domaine de la sélection génétique permet un gain génétique Appréciable relatif à l'adaptation, la croissance, la productivité et la résistance aux Maladies. (Fao ,2012).

b- *ex situ* :

Les collections *ex situ* de ressources phylogénétiques ont été en première ligne de l'émergence de l'Engagement international et donc Du traité international (Louaffi, 2007).Ce mode de conservation consiste à préserver durablement des ressources génétiques en dehors du site Où elles ont été collectées. En matière Forestière, on procède par récolte de Graines, greffes, boutures ou même Tissus pour la culture *in vitro*. Cette Préservation est dite « statique » s'il s'agit de collections maintenues dans Les chambres froides ou les pépinières des centres de recherche. Elle Est dite « dynamique » dans le cas de Plantations conservatoires ou de vergers à graines donnant naissance à de nouvelles populations forestières par reproduction sexuée. (Ecolin et al. ,2012)(Iddri,2007) .

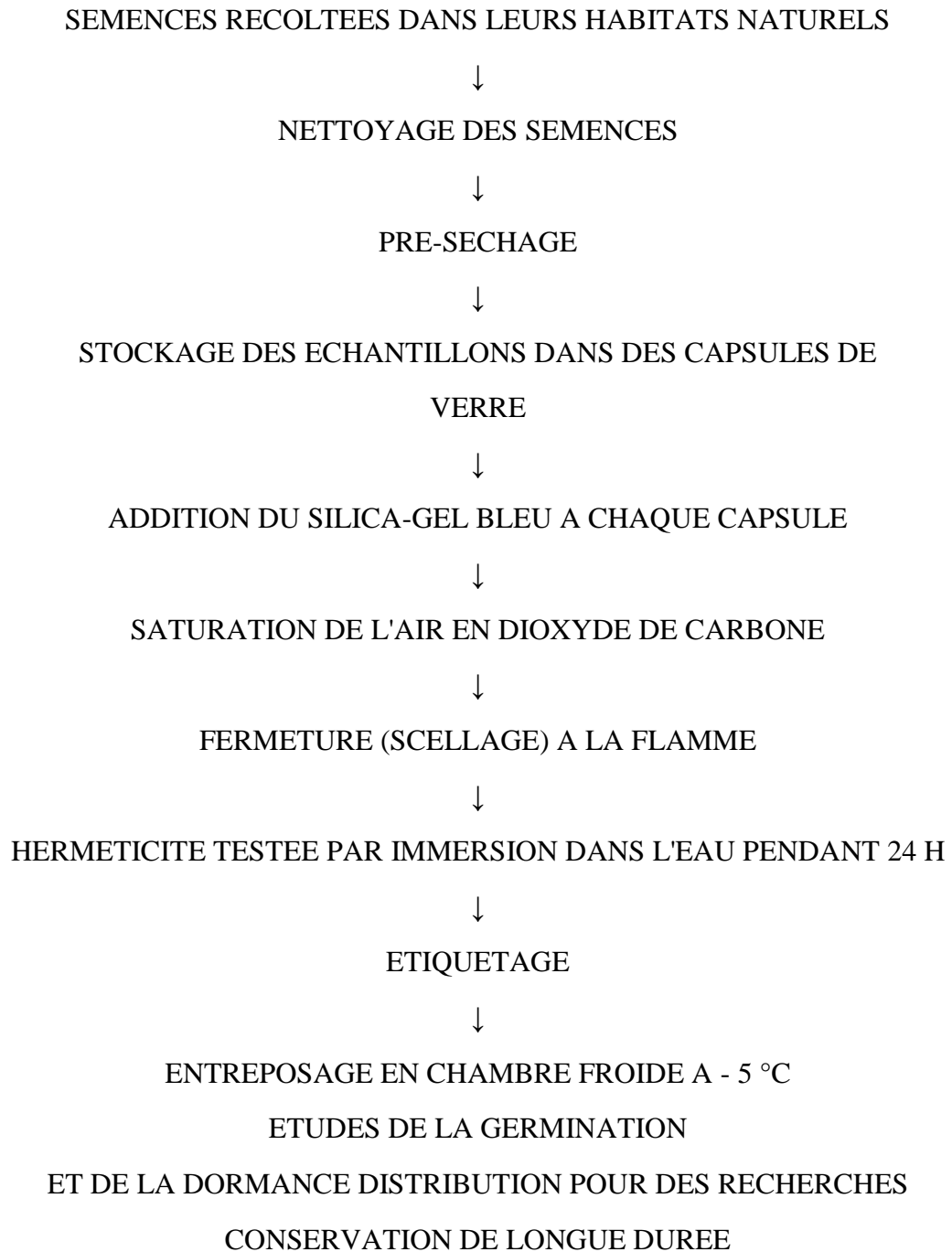


Figure 02 : Schéma des opérations de constitution des banques de semences d'espèces végétales sauvages (**Gomez-Campo, 1985**).

I- 2-Généralité sur les céréales

Les céréales sont des espèces généralement cultivées pour leur grain, dont l'album en amylacé, réduit en farine, est consommable par l'homme ou par les animaux domestiques (**Doumanji et al. 2003**). La plupart des céréales appartiennent à la famille des Graminées (ou *Poacées*). Ce sont : le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs, le riz, le millet, le sorgho. Les unes appartiennent à la sous-famille des *Festucoïdées* : blé, orge, avoine, seigle ; les autres à la sous-famille des *Panicoïdées* : maïs, riz, sorgho, millet. Enfin, une céréale, le sarrasin appartient à une autre famille, celle des *Polygonacées* (**Moule, 1971**). La nécessité de stocker les céréales procède de plusieurs facteurs, dont le principal est l'étalement de la consommation de denrées récoltées ponctuellement dans l'année. S'y ajoutent de nombreux facteurs socio-économiques dont l'importance pour le revenu des paysans est énorme (**Ntsam, 1989**).

I-2-1- Le blé :

Le blé est une plante annuelle monocotylédone qui produit un fruit sec et indéhiscents appelé caryopse (**FIG 03**). Il appartient au genre *Triticum* Les deux variétés de blé les plus cultivées dans le monde sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*). Le **TABLEAU 01** présente la classification botanique du blé.

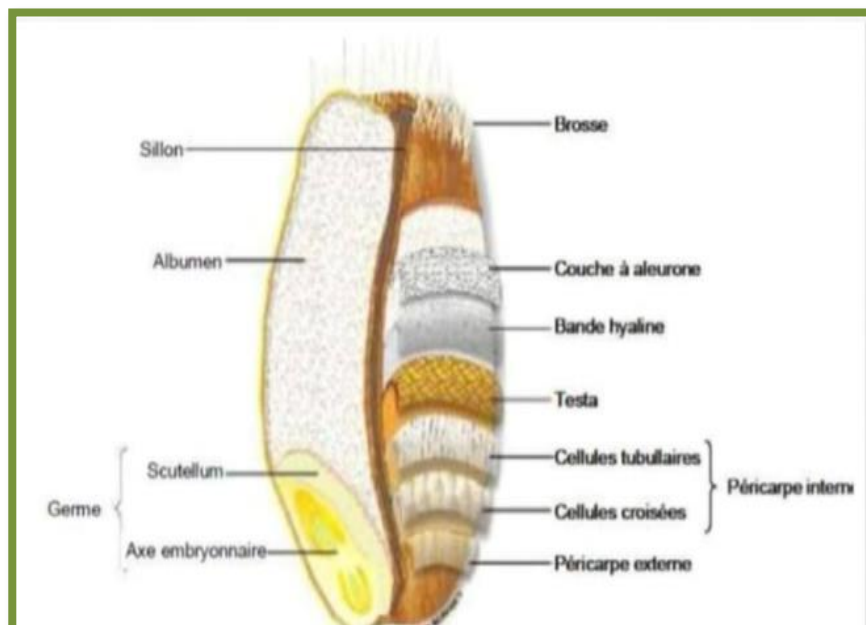


Figure 03 : Coupe schématique d'un grain de blé (Surget et Barron ,2005).

Tableaux01 : classification botanique du blé (Fillet, 2000).

Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorales
Super ordre	Comméliniflorales
Famille	Graminae et ou Poaceae
Tribu	Triticeae
Sous tribu	Triticinae
Genre et espèce.	<i>Triticum durum</i> Desf

I- 2-1-a Importance du blé à l'échelle mondiale :

Dans le monde Le blé constitue la principale culture céréalière dans le monde et représente environ 31% de la consommation globale en céréales, les principaux pays producteurs étant la Communauté Européenne et la Chine qui produit chacune 16% de la production mondiale. Les principaux pays exportateurs sont les Etats-Unis (28%) et Canada (17%) (Allain, 2014) (Fig04).

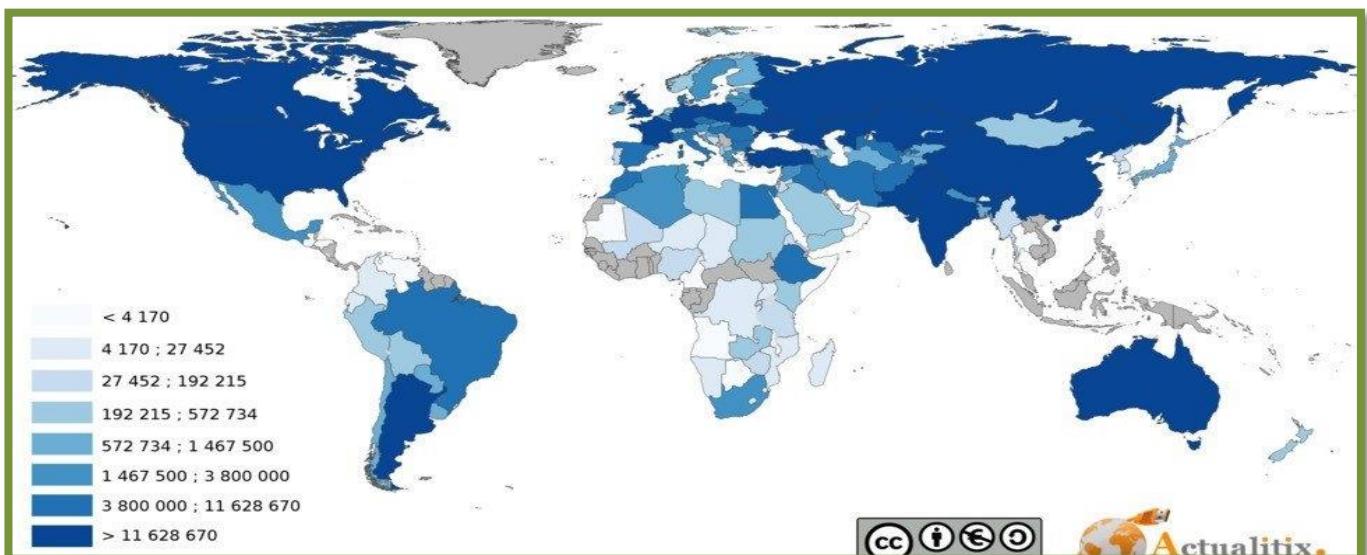


Figure04 : Les principaux pays producteurs de blé dans le monde (FAO, 2014)

I-2-1-b Importance du blé en Algérie :

Le blé (dur et tendre) constitue la base de l'alimentation de la population algérienne. Il est utilisé pour fabriquer le pain, le couscous, les gâteaux et les pâtes alimentaires, il est aussi utilisé pour la production animale et pour l'amendement du sol. Malgré la place stratégique des céréales dans le système alimentaire algérien et dans son économie nationale (Ammar, 2015). Leur production reste insuffisante et ne répond qu'à 25-30% des besoins de la population (Chourghal et al. 2016).

I-2-2 Le maïs (*Zeamays*) :

C'est la céréale la plus riche en énergie grâce à sa teneur élevée en amidon qui constitue 72 à 73 % de son poids et en matière grasse, apprécié par les animaux (Ngom, 2004). Les autres glucides sont des sucres simples présents sous forme de glucose, de saccharose et de fructose dans des proportions allant de 1 à 3% du grain (Gouache, 2002). Le tableau 02 représente la classification botanique du maïs.

Tableau 02 : Classification botanique du maïs (USDA-ARS, 2018, USDA-NRCS ,2016).

Règne	Plantes (règne végétal)
Sous-règne	Trachéobiontes (plantes vasculaires)
Super-embranchement	Spermatophytes (plantes à graines)
Embranchement	Magnoliophytes (plantes à fleurs)
Classe	Liliopsides (monocotylédones)
Sous-classe	Commélinidés
Ordre	Cypérales.
Famille	Poacées / Graminées (famille des graminées)
Tribu	Andropogonées
Genre	<i>Zea L.</i>
Espèce	<i>Zea mays L.</i>

I- 2-2-a Importance du maïs dans le monde :

Le maïs est la céréale la plus cultivée à travers le monde, avec d'importantes surfaces consacrées à la production de maïs fourrager pour l'alimentation du bétail. La superficie totale occupée par cette culture est d'environ 140 millions d'hectares, et la production mondiale n'a cessé de croître, passant de 325 millions de tonnes dans les années 1980 à 650 millions de tonnes dans la décennie actuelle (Iram et Meriem, 2013).

I- 2-2-b Importance du maïs en Algérie :

Entre 1961 et 1989, après l'indépendance, la surface consacrée à la culture du maïs a diminué de 6 000 hectares à 1 000 hectares. À partir des années 90, cette culture a suscité un désintérêt total, entraînant une chute des surfaces cultivées de maïs à 450 hectares. En 2009, une surface de 168 hectares a été allouée à cette culture, pour un rendement total de 34,226 quintaux par hectare. (FAO STAT ,2011).

I-3- Le cotonnier

Le germe dans une graine de coton mature contient la radicule, l'hypocotyle, un épi cotyle primitif et deux cotylédons(Fig.05). Les cotylédons sont la source d'énergie pour la germination et le développement précoce de la plante (Maedaet al. ,2021).

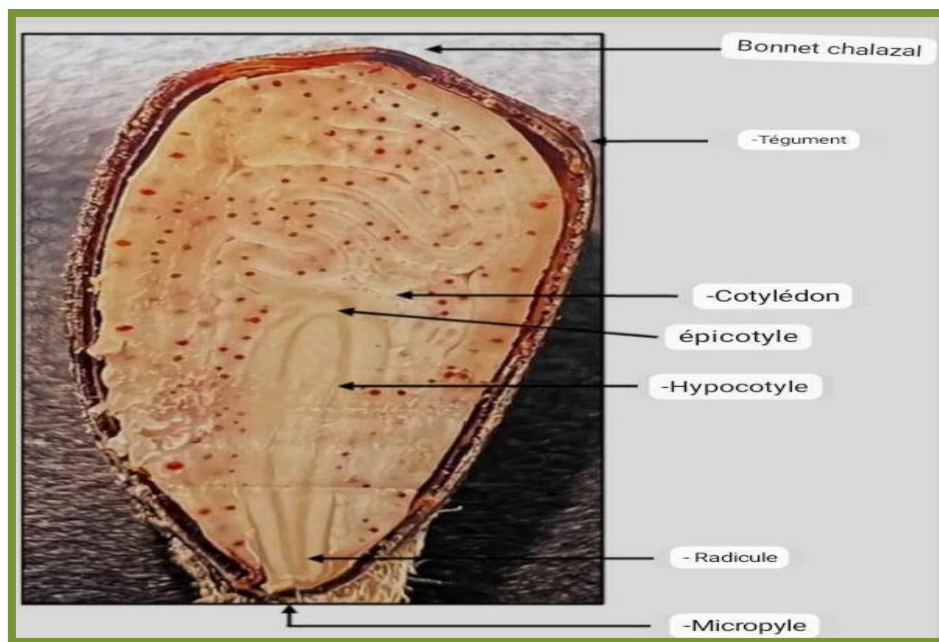


Figure 05 : Anatomie de l'embryon de la graine de coton (Marsa et al. 2015).

I-2-3 Importance du cotonnier :

Le coton est principalement cultivé sur le continent asiatique (~70%), suivi des Amériques, qui ont près de 20% de la culture mondiale de coton. L'Afrique cultive près de 6% de la culture mondiale de coton, tandis que l'Europe en cultive moins de 2%. La fibre obtenue à partir du coton est une matière première pour l'industrie textile. La graine peut être extraite pour obtenir de l'huile (près de 20% de la graine est de l'huile) ; cette huile peut être utilisée pour produire de l'huile végétale, de la margarine, des savons, etc. (khawar et al. 2020).

II-Microorganismes pathogènes et les végétaux

II-1- Bactéries

Les bactéries phytopathogènes sont de petits bâtonnets unicellulaires, elles n'ont pas de noyau distinct, ni de membrane nucléaire. Ces bactéries sont disséminées par le vent, les insectes, les éclaboussures d'eau de pluie et les moyens mécaniques (**Prescott et al., 1987**) Ce sont des pathogènes très courants sur les cultures, dans les matières organiques en décomposition et dans le sol (**Laffont, 1985**).L'infection, pour se produire, requiert la présence d'eau. Les bactéries pénètrent dans le tissu de la plante-hôte grâce à des blessures superficielles ou des stomates ouverts, elles envahissent alors le système vasculaire ou les espaces intercellulaires et provoquent la nécrose par les toxines ou les enzymes qu'elles secrètent (**Prescott et al., 1987**).Pour le blé une seule bactérie est à l'origine de la glume noire et la strie bactérienne, *Xanthomonas translucens*. Un exemple de maladie bactérienne dévastatrice du maïs est la pourriture bactérienne provoquée par *Erwiniacarotovora f. sp. Zeae*. Un exemple de maladie bactérienne du coton est la bactériose du coton causé par *Xanthomonas. Campestris pathovarmal vacearum* (E.F.Smith) Dye. (**Sayegh et al ,2009**).

II-2- Les champignons :

II-2-1 Définition :

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

II-2-2 Les Facteurs De Croissance Des Champignons :

II-2-2 –a La température :

Elle joue un rôle prépondérant sur la croissance mycélienne. D'une manière générale, les moisissures peuvent se développer sous des températures allant de moins zéro à plus de 50°C (**Proctor, 1995**).

II-2-2-b L'humidité :

Divers types d'aliments sont caractérisés par leur activité d'eau, cette exigence varie selon les espèces de moisissures et a une grande influence sur leur croissance mycélienne, la sporulation et surtout sur la germination des spores (**Moreau, 1996**).

Celles qui colonisent les milieux solides comme les grains de céréales en cours de stockage ou encore les produits céréaliers séchés sont qualifiés de xérophiles c'est-à-dire aimant les milieux secs (**Cahagnier, 1998 ; Guiraud, 2004**).

II-2-2 –c Le pH :

Les moisissures sont extrêmement tolérantes aux variations du pH (2 à 9) avec un optimum de croissance entre 4 et 6,5. De plus, les moisissures peuvent adapter localement leur pH pour qu'il soit optimum pour leur survie (**Chene, 2006**).

II-2-2 Les arthropodes :

Les arthropodes tels que les insectes, les acariens et leurs interactions complexes, contribuent à la prolifération des moisissures et ce par leur rôle de vecteurs de spores (**Proctor, 1995**

II-2-1 Les maladies fongiques du blé :

Le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies fongiques ou cryptogamiques à différents stades de croissances, lorsque les conditions climatiques sont favorables, ces maladies peuvent facilement se propager provoquant des symptômes qui leurs sont spécifiques (**Ezzahiri, 2001**).

II-2-1-1 La fusariose :

Les fusarioses sont parmi les maladies les plus dangereuses du blé, elles provoquent une baisse du rendement par la diminution de la faculté germinative des semences, du nombre de grains par épi et du poids de mille grains (**Gutzwiller et al, 2005**). Les deux maladies les plus courantes provoquées par les *Fusaria* sont la fusariose de l'épi et les pourritures du collet (**Zillinsky, 1983**) (**Fig.06**).



Figure 06 : gale de l'épi sur blé dur provoquée par *F.culmorum* (Zillinsky, 1983).

II- 2-1-2 La Septoriose :

Selon (Zahir et al, 2007), cette maladie cryptogamique foliaire rencontrée dans toutes les régions de production du blé (Shipton et al. 1971), est causé par deux champignons parfaits : *Septoria tritici* et *Septoria nodorum*, qui diffèrent par les symptômes et la biologie (Zilinsky, 1983) (la Tâche septorienne et la septoriose des glumes) (Fig.07).

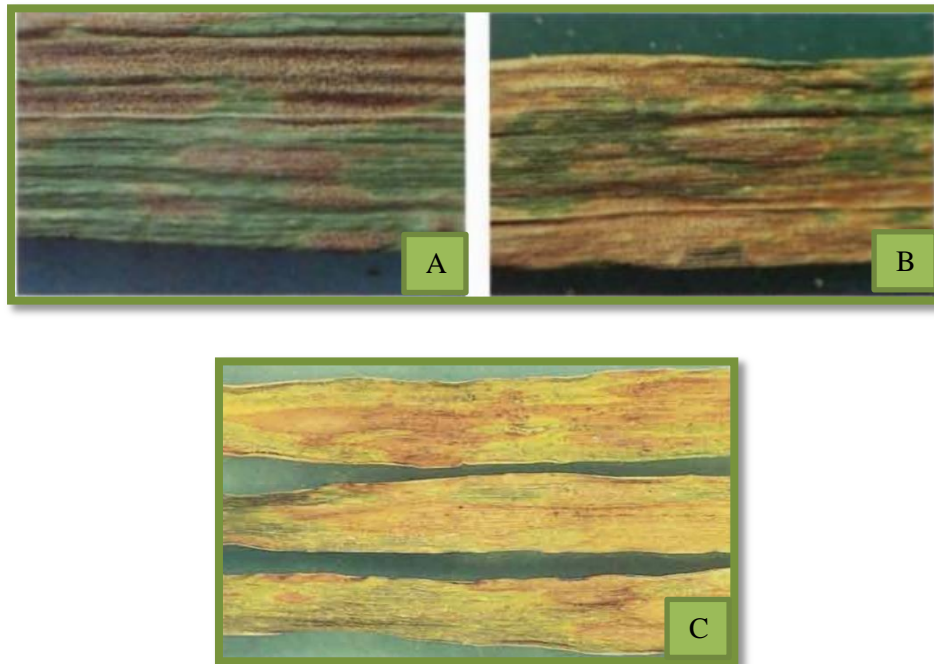


Figure 07 : (A) : Symptômes typiques de la tache septorienne provoquée par *S.tritici* sur blé dur, (B) : Symptômes évoluée de la tache septorienne sur blé tendre, (C) : Symptômes typiques de la tâche des glumes déterminés par *S. nodorum* sur le blé (Zillinsky, 1983).

II-2-1-3 Les rouilles :

Les rouilles sont parmi les maladies les plus dévastatrices du blé. Trois espèces de rouilles s'attaquent au blé : la rouille brune, la rouille noire et la rouille jaune. Les trois rouilles s'attaquent aussi bien au blé tendre qu'au blé dur. Concernant leur importance relative, la rouille brune est la plus répandue dans sa distribution, alors que la rouille noire est la plus dévastatrice quand elle se développe. La rouille jaune est limitée au climat tempéré froid et aux zones d'altitude. (Ezzahiri, 2001) (Fig.08).

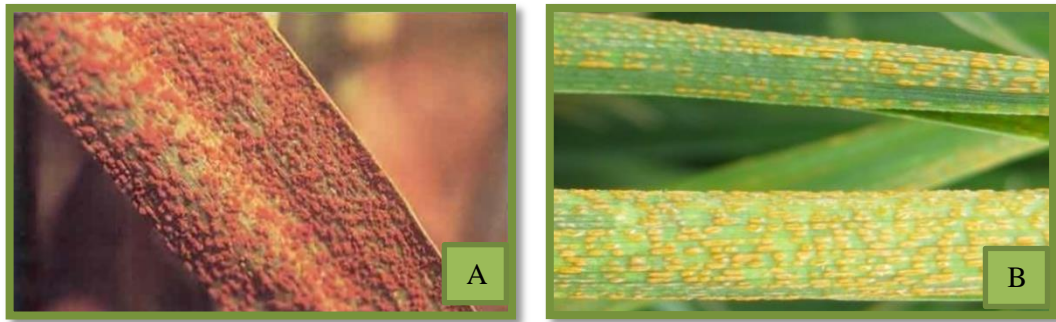


Figure 08 : les rouilles du blé (A) : la rouille brune sur feuille de blé (Zillinsky, 1983). , (B) : la rouille jaune sur une feuille de blé (Murray et coll, 2005).

II-2-2 Les maladies fongiques du maïs :

2-2-1 Le charbon commun :

Un champignon *Ustilago Maydis* cause le charbon commun qui est une maladie systémique du maïs de grande culture. Les épis infectés sont plus petits, arrondis, ont moins de soies et peuvent présenter des tumeurs. Les tumeurs sont couvertes d'une mince couche de tissu et contiennent des masses de spores noires. (Munkacsi et al., 2007).

II-2-2-2 Rouille du maïs :

Le champignon responsable *Puccinia sorghi* conduit à l'apparition des pustules brunes de 1mm sur les feuilles inférieures et ensuite sur toutes les parties aériennes de la plante (Fig.09). Les facteurs qui favorisant cette maladie sont soit les régions chaudes et humidité élevée ou sol infecté (Berquist et Masias, 1974).



Figure09 : Rouille du maïs sur les feuilles (Agridea, 2017).

II-2-2-3 Rhizoctone :

Le champignon causal dans cette maladie est, *Rhizoctonia solani* lors de l'étape 5 à 6 feuilles apparaissent des taches brun foncé. Le champignon provoque un dessèchement des feuilles et des branches feuillues qui se prolonge jusqu'à la fin du cycle de vie des plantes. Les spores conservent dans les restes de plantes, racines, les mauvaises herbes ou de la terre (Agrios, 1997).



Figure 10 : *Rhizoctone solani* sur le maïs.

<https://plantix.net/fr/library/plant-diseases/100283/banded-leaf-and-sheath-blight>.

II-2-3 Les maladies Fongique de coton :

II-2-3-1 La maladie du ramulose :

La maladie du ramulose, causée par le champignon *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*(CGC), a longtemps été l'une des principales maladies du coton brésilien. En tant que maladie transmise par les graines, la ramulose est actuellement répandue dans tout le pays et a été introduite dans de nouvelles zones de production (Ferro et al. 2020).



Figure 11 : Symptômes et caractéristiques morphologiques de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. A. Plantes inoculées présentant des lésions typiques sur les jeunes feuilles. B. Conidies. Barre d'échelle = 20 µm.

II-2-4 Principales moisissures d'altération des céréales stockées :

2-4-1 Le genre *Aspergillus* :

Les *Aspergillus* sont des moisissures saprophytes (**Fig.10**), capables de se développer dans le sol et les détritux, dans les composts et sur les végétaux malades. Ils colonisent des plantes déjà abîmées par des blessures, des piqûres d'insectes ou des attaques d'autres champignons. Ils sont également présents à la surface des graines (**Schuster et al. 2002**). Quand les grains stockés sont humides, les *Aspergillus* peuvent évoluer rapidement et se transforment de saprophytes en parasites (**Meghazi, 2015**).

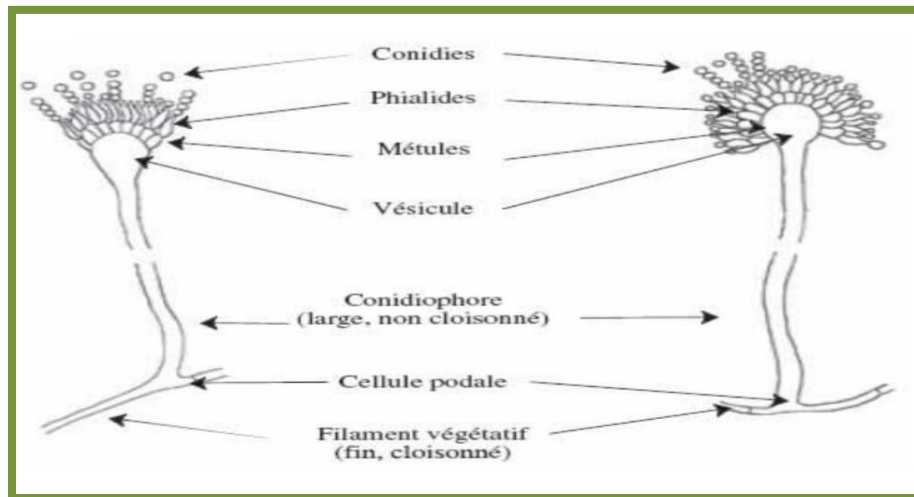
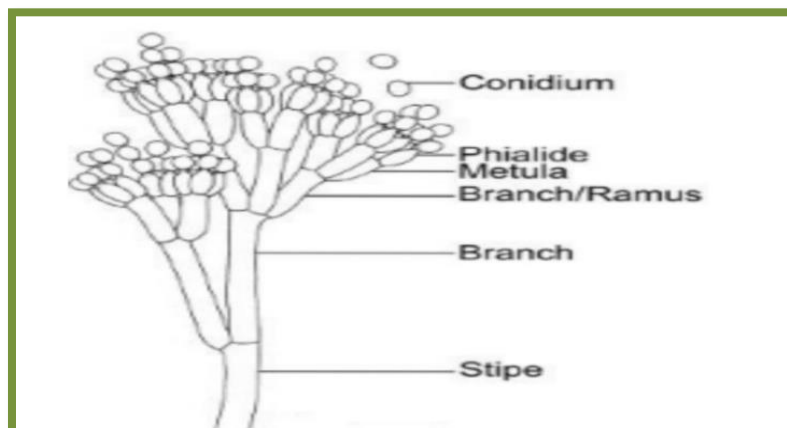


Figure 12 : Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Tabuc, 2007).

II-2-4-2 Le genre *Penicillium* :

Ce genre réunit des champignons filamenteux saprophytes (peuvent devenir parasites en présence d'humidité lors du stockage), appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en 4 articles (**Pitt et Hocking, 1988**)



(Fig.13).

Figure 13 : Schéma d'un pénicille (Pitt et Hocking, 1988).

Les espèces de ce genre sont moins fréquentes avant la récolte mais commencent à croître rapidement pendant le stockage. A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégradent pendant la conservation (Hajjaji et al. 2004).

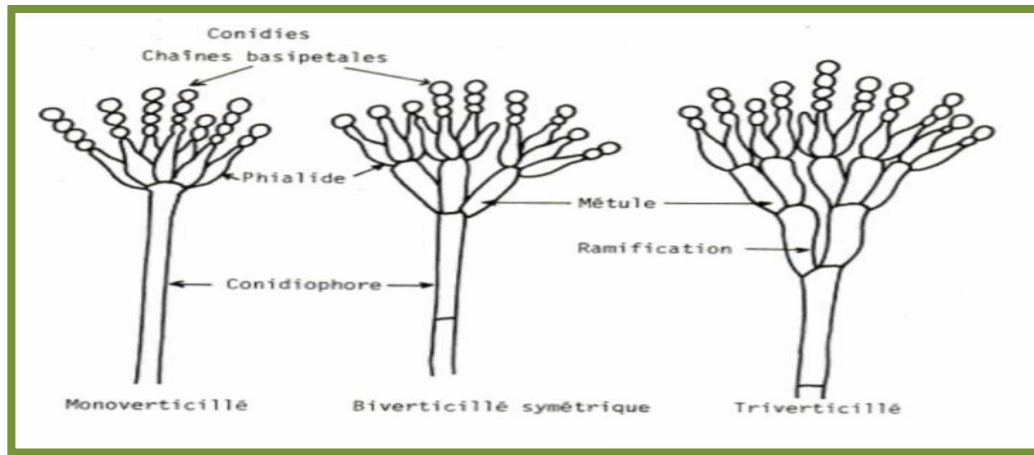


Figure 14 : Principaux caractères morphologiques de Penicillium (Botton et al ,1990)

II- 2-5 L'effet néfaste des champignons sur les semences :

Les grains de céréale forment un excellent substrat pour les moisissures (Mills, 1990).

Pendant le stockage, la récolte de céréale subit généralement la perte de qualité, qui est caractérisée par susceptibilité accrue à l'infection par les mycètes, les insectes et les acarides (Fonte, 1989 et Ominski, 1994).

Les mycètes causent beaucoup de genres de détérioration ou de dommages dans le grain. Ceux-ci incluent la diminution de la germination, la décoloration, les changements chimiques et alimentaires (Tableau 03), le chauffage, le durcissement (Christensen, 1982) et des mauvais goûts quia comme conséquence le rejet du produit (Kinderlerer, 1989).

Tableau 03 : les principales moisissures contaminant les céréales (adapté de Pfohl Leszkowicz, A., 1999 in Molinié et PfohlLeszkowicz, 2003).

<i>Champignons</i>	<i>Toxines</i>	<i>Denrées</i>
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines, Stérigmatocystine, Ochratoxine A	Blé, maïs,
<i>Penicillium</i>	Patuline, Citrinine, Pénitrem A, Ochratoxine A	Blé, riz, orge
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes (DON, NIV, toxine T-2, DAS), Zéaralénone, Fumonisines, Fusarine, Moniliformine	Blé, maïs, orge, riz, seigle, avoine

II-2-6 Traitement des graines lors de stockage :

Pour préserver la qualité des grains pendant le stockage, il est important de les sécher correctement. La teneur en humidité doit être proche de 15% pour les grains en général et de 13% pour les céréales à paille. Si la teneur en humidité est trop élevée, les grains doivent être séchés, soit par ventilation séchant avec de l'air réchauffé, soit par ventilation de refroidissement avec de l'air ambiant si le taux d'humidité est légèrement supérieur à la consigne. La ventilation de refroidissement réduit également le risque de développement fongique en limitant les points d'humidité favorables aux insectes morts. Le refroidissement permet de réduire la température, un facteur favorable au développement des champignons. **(Kara et Kadri ,2021)**. La déshydratation des graines peut être aussi chimique par le chlorure de calcium CaCl_2 ou le silica-gel, une substance qui peut réduire leur humidité à moins de 3% **(Meddour et Derridji, 2007)**.



CHAPITER II :
MATERIELS ET
METODES

Chapitre II : Matriel et Methodes

I- Description des structures apparentées au travail

I-1 Site d'accueil :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie du département Science de la Nature et de la vie. Situé au niveau du Hall technologique, université 20 aout 1955, Skikda.



Pendant une période d'un mois, du 10/04/2023 jusqu'au 14/5/2023.

Figure 15 : carte géographique de site d'accueil (Google MAPE 2023).

Les taches effectuées sont les suivants :

- ❖ Préparation des milieux de culture.
- ❖ L'isolement et l'identification des micro-organismes.

I-2 Site d'échantillonnage :

Le centre des Sciences. Service commun de recherche. Pole de vulgarisation botanique de l'université 20 août 1955.Skikda, Est un service de gestion et de protection d'un ensemble de jardin et d'espaces verts et de collections inertes, datant de l'époque colonial.



Figure 16 : Site d'échantillonnage (le centre des sciences).

Nous avons réalisé l'échantillonnage à partir d'une collection de 60 spécimens de semences (graines) (**fig.16**) qui d'après les enveloppes de stockage mentionnent l'année 1952. Cette collection, faisant partie d'une grande collection regroupant en plus, des collections zoologiques, des herbiers, des spécimens de vignes et de tabac et des planches pédagogiques en relation avec l'agriculture.

II- Matériel et Méthodes :

II-1 Matériel végétal :

L'isolement de microorganismes a été réalisé à partir de matériel végétal diversifiés s'agissant de graines et épis de blés, épis de maïs et graines de coton. En effet, la collection est très riche en termes d'espèces végétales, cependant nous nous sommes concentrés sur les échantillons qui présentent des symptômes d'infections. Pour certains, les graines semblent plus infectées que d'autres notamment ceux mis en sachet, une poudre est bien visible. Ainsi deux méthodes de



prélèvement ont été envisagées :

Figure 17 : Echantillons de Prélèvement sur la Collection des semences.

II-1-1-prélèvement de poudre :

A l'aide de la coton tige de l'écouvillon nous avons récupéré la poudre présente à l'intérieur du sachet de conservation des épis et graines de blés (sachet de nature papier sulfurisé et en sachet de plastique, respectivement) (**Fig 17 A, B et C**), ou on frottant la surface des épis de blés et de maïs contaminé (**Fig 17 D**). Les écouvillons sont placés dans des tubes à essai contenant de l'eau physiologique à 0.9%. Nous avons obtenu ainsi un total de 4 tubes à essai.

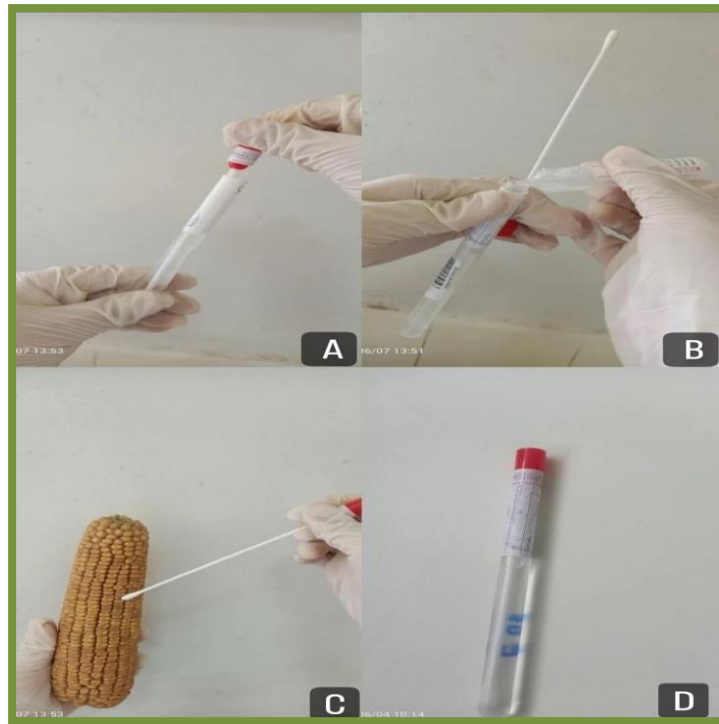


Figure 18 : Méthode de prélèvement de poudre.

II-1-2-Prélèvement des graines :

On examinant la collection nous avons constaté que pour d'autres espèces des graines présentaient un état d'infection plus prononcé. Ce qui nous a amené à prendre directement quelques graines comme échantillons. Ainsi quatre graines de deux espèces de cotonnier ont été prélevées à l'aide d'une pince.

Ainsi un total de 6 échantillons ont été récupérés à partir des deux méthodes de prélèvement ces échantillons ont été directement acheminés au laboratoire pour être ensemençer le jour même.



Figure 19 : Prélèvement des graines

II-2 Méthodes :

II-2-1 Préparation des milieux de cultures :

Nous avons utilisé deux milieux de culture sélectifs pour favoriser la croissance de différents types de micro-organismes et permettre ainsi leur isolement et identification à partir des échantillons collectés, il s'agit de :

II-2-1-1 Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) :

La plupart des mycologues utilisent couramment une gamme restreinte de milieux de culture, parmi lesquels l'agar pomme de terre (PDA) est le plus connu et le plus largement utilisé). L'utilisation de ce milieu remonte au début du 20^e siècle (**Edgerton, 1908 ; Duggar et al. 1917**). Le PDA permet une bonne croissance, et plus important encore, la sporulation et la pigmentation d'un large éventail de taxons fongiques (**Griffith et al, 2007**).

Nous avons suivi les étapes suivantes pour préparer le milieu de culture PDA à partir de pommes de terre :

1. Nous avons épluché et soigneusement lavé les pommes de terre pour éliminer toute trace de saleté ou de débris.

2. Nous avons coupé les pommes de terre en petits morceaux et les avons fait bouillir dans de l'eau pendant environ 30 minutes.
3. Nous avons filtré la solution de pommes de terre à travers un tamis fin ou une étamine pour éliminer tout résidu solide.
4. Nous avons ajouté de l'agar-agar au liquide filtré, en respectant les proportions recommandées pour le milieu de culture PDA (généralement 20-25 g d'agar-agar pour 1 L de liquide).
5. Nous avons fait bouillir le mélange à nouveau pendant environ 10 minutes pour dissoudre complètement l'agar-agar.
6. Nous avons versé le liquide chaud dans des boîtes de Pétri stérilisées, en laissant suffisamment d'espace pour permettre la solidification du milieu de culture.
7. Nous avons laissé refroidir et solidifier le milieu de culture PDA avant de l'utiliser pour isoler et cultiver des souches bactériennes.

Il est important de noter que la stérilisation est une étape cruciale dans la préparation du milieu de culture PDA, car toute contamination peut compromettre la croissance des bactéries. Nous avons donc travaillé dans un environnement stérile et manipulé le milieu de culture avec précaution pour éviter toute contamination croisée

II-2-1-2 Milieu GN (Gélose nutritive) :

Le GN a été développé pour la première fois par MacFaddin en 1976. (**MacFaddin, 1976**). La gélose nutritive se compose de peptone, d'extrait de bœuf et de gélose. Cette formulation relativement simple fournit les nutriments nécessaires de la réplication d'un grand nombre des micro-organismes qui ne sont pas très exigeants.

Dans le milieu de culture GN en utilisant de l'agar-agar, l'eau distillée et du glucose :

1- nous avons pesé les ingrédients nécessaires pour la préparation du milieu de culture GN : 20g d'agar-agar, 28g de glucoses 1000ml d'eau distillée.

2- nous avons ajouté l'agar-agar, le glucose et l'eau distillée dans un bécher et mélangé le tout par l'agitateur jusqu'à ce que les ingrédients soient bien dissous.

Chapeter II : Materiels et Methodes

3-Nous avons porté le mélange à ébullition, puis réduit la température pour le maintenir à un niveau suffisant pour la dissolution de l'agar-agar.

4-Nous avons ensuite versé le milieu de culture GN liquide dans des flacons stériles, puis dans l'autoclave pour la stérilisation.



Figure 20 : matériels utilisé dans la préparation des milieux de culture.

II-2-2 Ensemencement des milieux de culture :

1- Pour le prélèvement en poudre :

Pour les échantillons de céréales, nous avons utilisé la méthode d'épuisement par stries pour ensemercer les boîtes de Pétri contenant les milieux de culture PDA et GN.

2- Pour les prélèvements en graines :

Avant l'ensemencement les deux échantillons de graines de cotonnier, ces dernières ont été divisées en deux lots chacun : un lot de deux graines non stérilisées (mis en boîte en l'état) et un lot de deux graines stérilisées. Afin de comparer la composition en micro-organismes

Désinfection des graines de cotonnier :

Les échantillons sont examinés par la technique directe dite « direct plating » décrite par Pitt et Hocking (2009) (**Pitt et Hoking ,1989**). Elle consiste à ensemercer les grains du blé, préalablement désinfectés, Sur le milieu d'isolement choisi.

Les deux graines de chacun des deux échantillons dans une boîte de Pétri en verre et les avons traités avec de l'eau de Javel pendant environ trois minutes, suivie d'un rinçage à l'eau Distillée et d'un traitement à l'éthanol pendant quelques secondes.

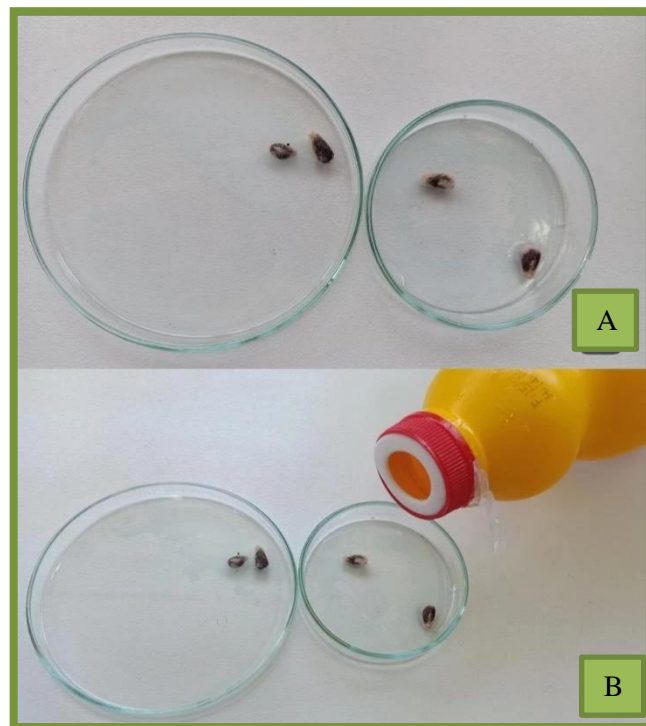


Figure 21 : Désinfection des graines.

Ensemencement des graines :

A l'aide d'une pince stérile les graines ont été déposées au contact du milieu de culture. Pour chaque échantillons les boites contenant les milieux PDA et GN ont été divisées en deux parties : une contenant une graine stérilisé et une autre non stérilisé. Ensuite a été conservées dans un endroit sombre à température ambiante dans la durée de 3 à 5 jours pour permettre la croissance des microorganismes.

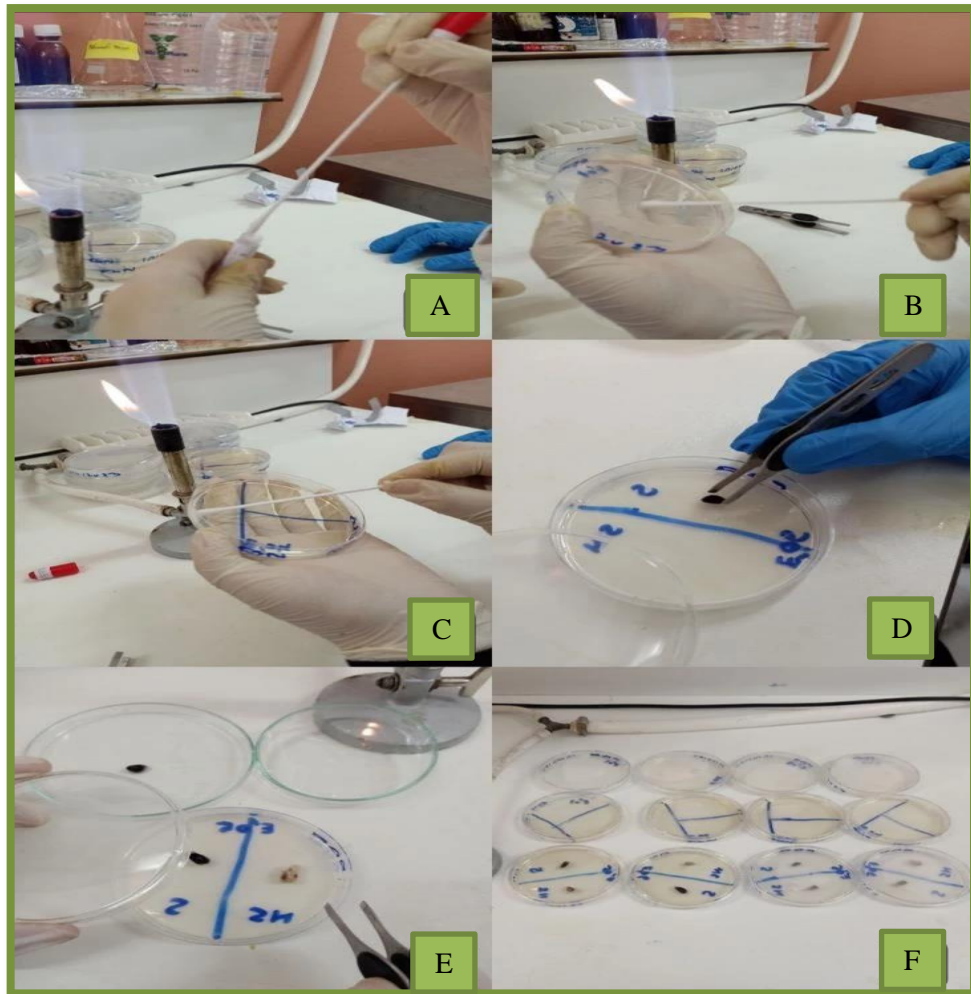


Figure 22 : Isolement des échantillons par la technique d'épuisement par stries (Les milieux de cultures PDA +GN).

II-2-3 Repiquage et purification des souches :

Nous avons utilisé la méthode de repiquages pour purifier les souches obtenues à partir des échantillons de graines de coton et des céréales. Tout d'abord, nous avons préparé des boîtes de Pétri contenant les milieux de culture PDA et GN.

Ensuite, Nous avons prélevé les colonies de chaque échantillon préalablement isolé et les avons transférées sur les boîtes de Pétri fraîchement préparées. Après incubation à température ambiante pendant 7 jours,

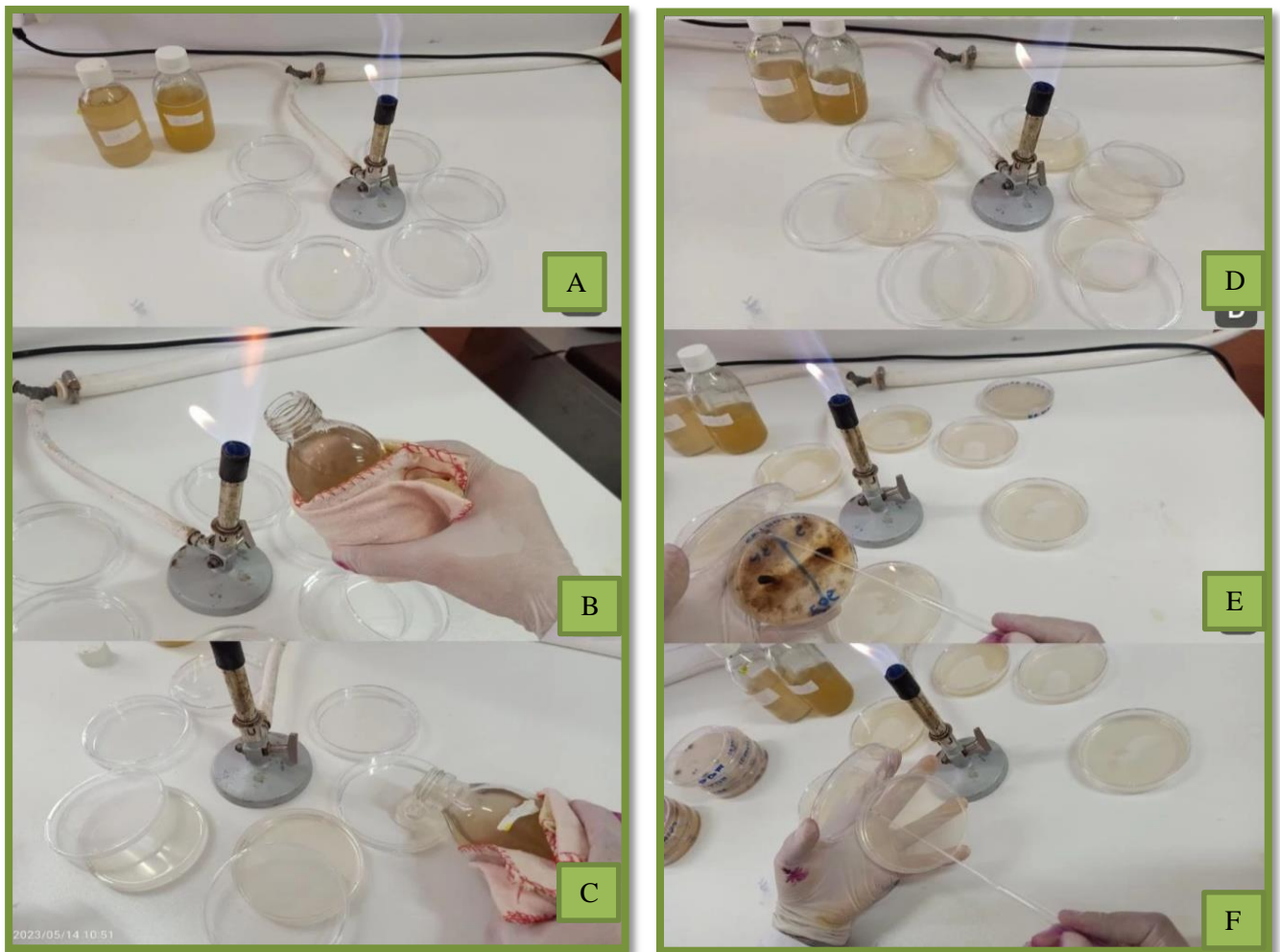


Figure23 : Purification Des Colonies Des Champignons.

II-2-4 Identification des souches

L'identification a consisté en l'étude des caractères microscopiques, et des caractères macroscopiques.

II-2-4-1 Cas des bactéries

a- Examen macroscopique

Elle permet d'observer macroscopiquement : l'aspect, le relief, le contour, la Couleur, la consistance, la forme, la taille des colonies et les transformations Macroscopiques des milieux de culture (présence de pigment, couleur).

b- Examen microscopique

b-1 Examen à l'état frais : les colonies microbiennes sont montées entre lame et lamelle. L'examen permet de connaitre la morphologie, le mode de groupement et Surtout la mobilité des cellules.

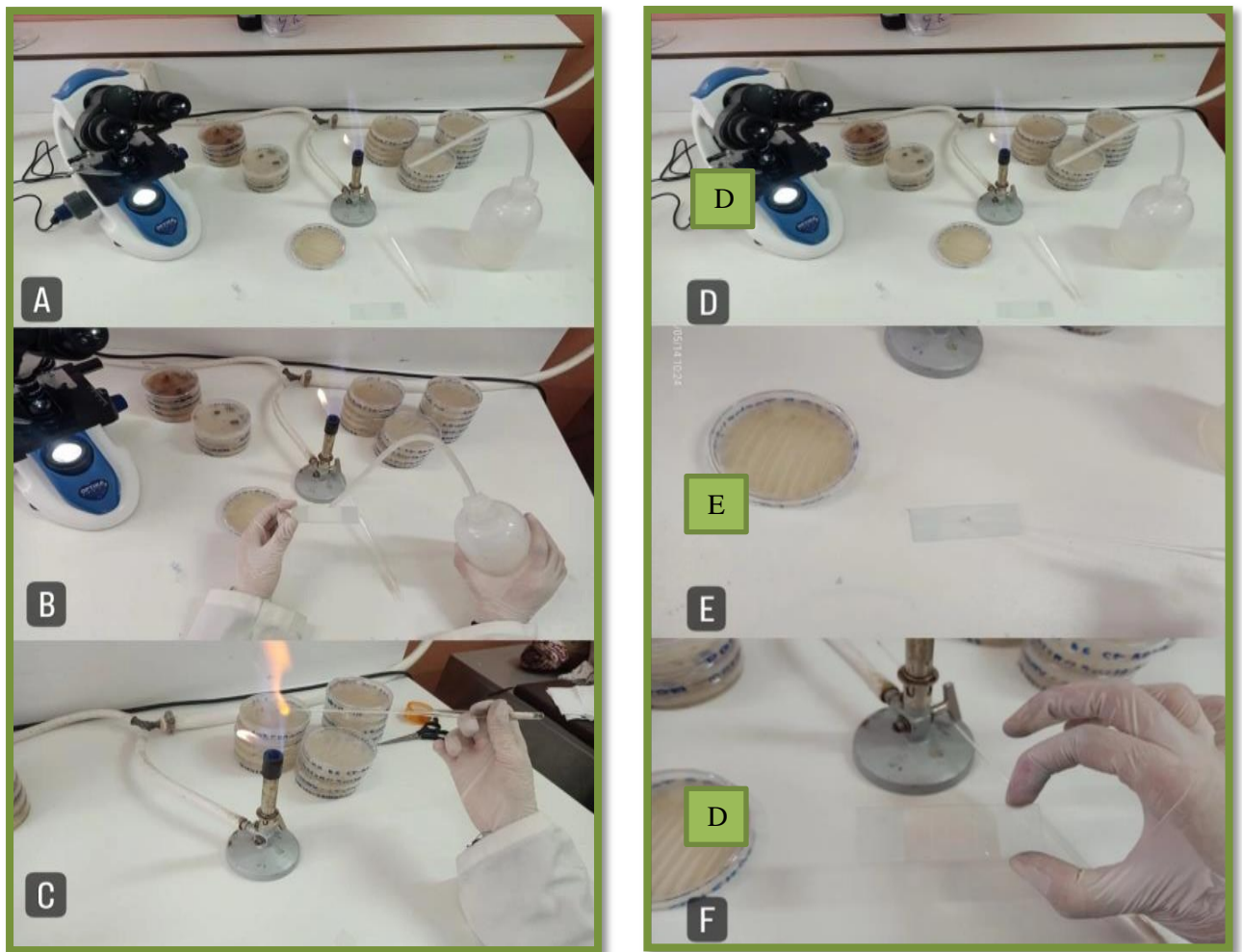


Figure 24 : les étapes de préparation de la lame pour l'état frais.

b-2Coloration de Gram : permet à la fois de connaitre la forme des bactéries et de les Classifier en 2 groupes en fonction de leur capacité ou non à retenir la coloration Violette du cristal violet dans les conditions opératoires



Figure 25 : Les étapes de coloration de Gram.

II-2-4-2 Cas des champignons

a-Caractérisation macroscopique :

La caractérisation macroscopique des champignons est basée sur la morphologie de ces Derniers c'est-à-dire la forme et la couleur de mycélium. L'identification se fait à l'œil nue, Observé directement sur la gélose après purification, elle se base essentiellement sur les Caractères suivant :

- La vitesse de croissance : en mesurant le diamètre de la colonie.
- La texture de colonie : velouté, laineux, poudreuse.
- La couleur : du recto et du verso de la boîte de pétrie.
- La pigmentation : présence ou l'absence d'un pigment diffusible dans le milieu.
- La forme de colonie : régulier, irrégulier, dentelé, filamenteux.

- L'exsudat : présence ou absence des gouttelettes.

b- Caractérisation microscopiques

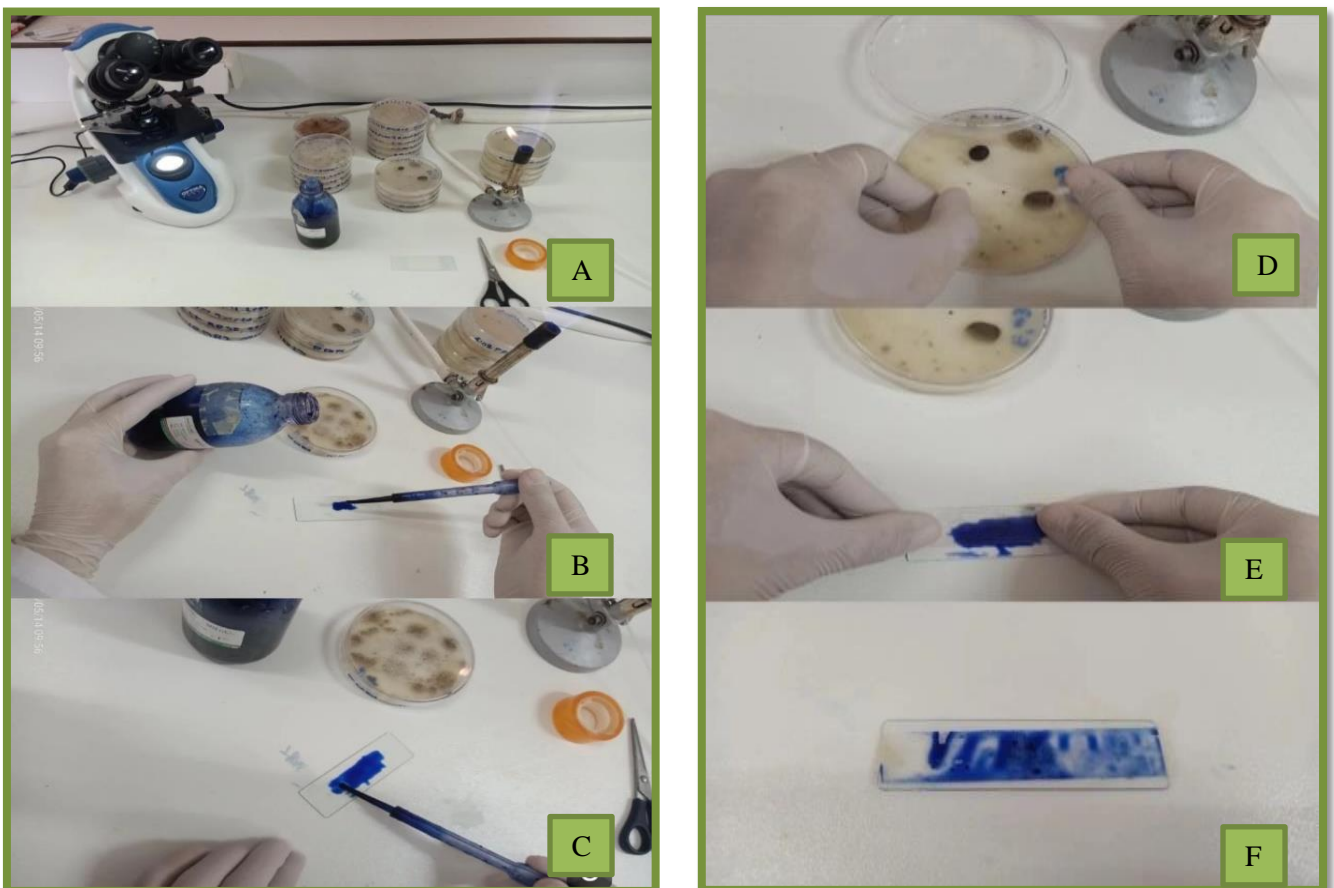
Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude des caractéristiques du Mycélium et des spores (Botton et al. 1990). Mycélium : Absence ou présence de cloisons, couleur, mode de ramification, différenciation Des thallospores,...etc. Spores : Forme, couleur, texture des parois, groupement en chaînes, etc. Il est alors relativement facile d'arriver jusqu'au nom du genre du champignon. L'identification est réalisée sur la base de schémas taxonomiques en fonction des caractères Morphologiques (Botton et al. 1990 ; Guiraud, 2003).

II-2-4-3 Préparation des lames pour la microscopie

D'après (Pitt et Hoking, 2009), les champignons sont examinés au microscope en tant que Frottis humides. L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle avec coloration au bleu de méthylène. L'échantillon est prélevé sur la bordure de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif.

a- Technique de scotch :

On procède ensuite à l'examen au microscope (grossissement $\times 10 \times 40$ et $\times 100$). Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart et des éléments importants



(Chabasse et al. 2002)

Figure 26 : Préparation de lames pour l'identification microscopique des souches.



CHAPITER III :
RESULTATS ET
DISCUSSION

Chapitre II: Résultats et Discussion

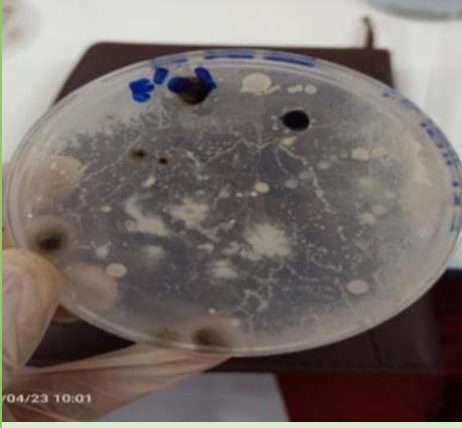
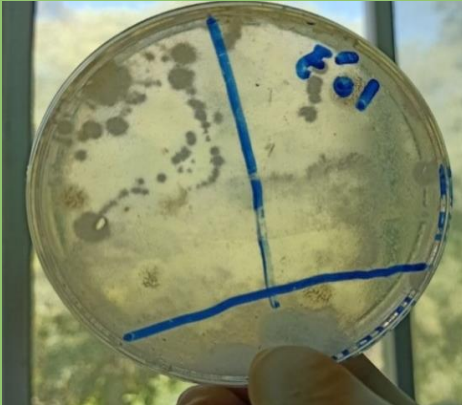
I- Résultats

I-1 Isolement et identification la flore fongiques et bactériennes :

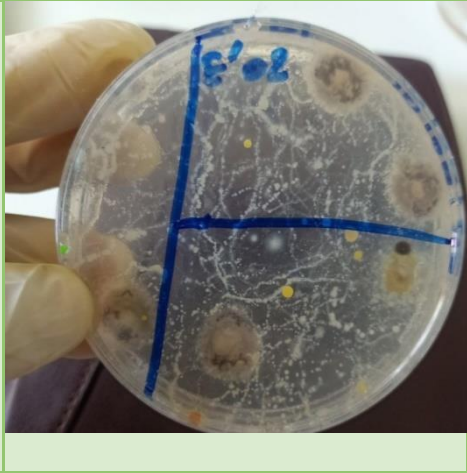

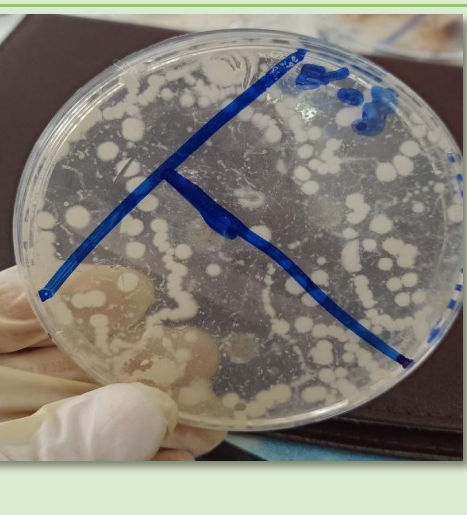
Dans notre étude, qui a pour objectif l'isolement et l'identification de microorganismes dans une collection végétale, afin d'estimer l'état et la qualité de son stockage. L'étude basée sur la détermination des caractères macroscopiques et microscopiques des souches isolées et sur la base de la clé de d'identification de Barnett et Hunter (1972). Nous avons ainsi, identifié plusieurs genres fongiques et un genre bactérien sur les deux milieux utilisés PDA et GN.

Le tableau qui suit, récapitule les espèces identifiées en précisant, les échantillons à partir desquels ces espèces ont été isolées et le nombre d'isolats sur chaque boîte.



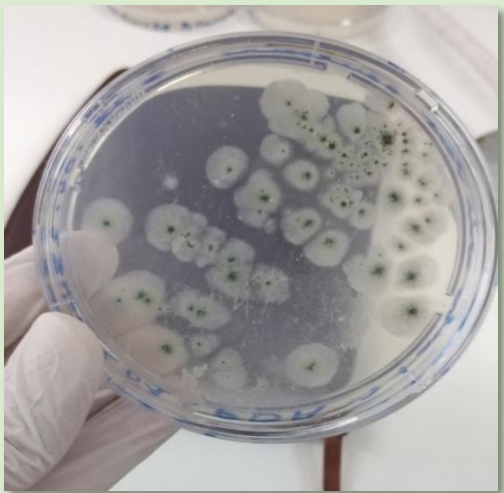
Tableau 04 : Présentation des genres des souches obtenus.

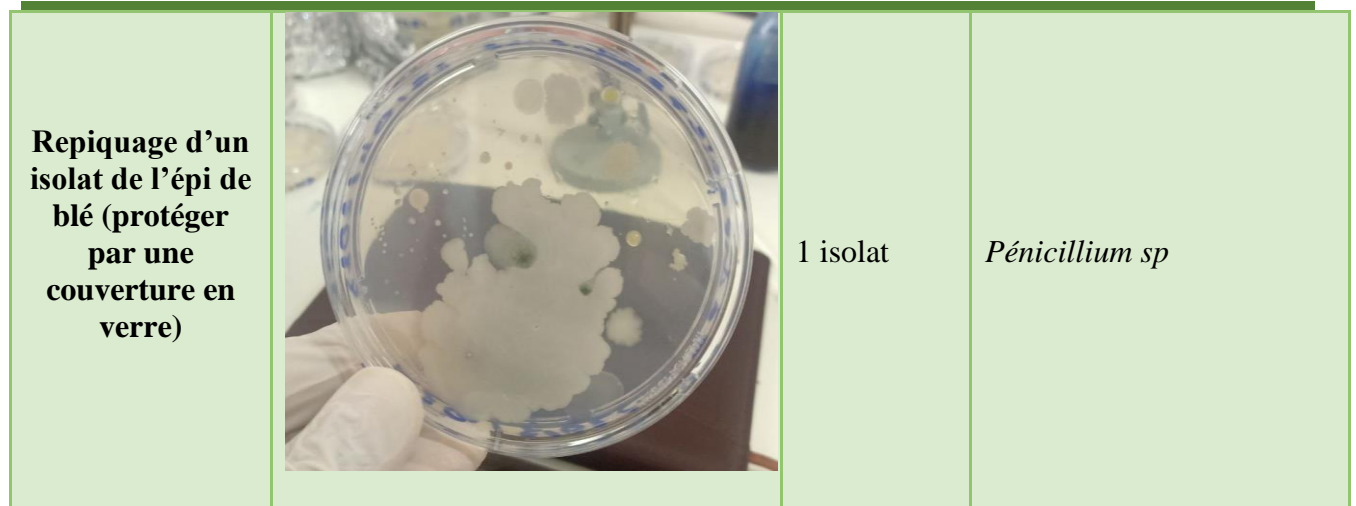
Echantillon	Aspect de la Boite de culture	Nombre des souches	Genre
L'épi de blé (stocké dans du papier sulfurisé) Les milieux PDA et Gn		3isolats	<i>Alternaria sp</i> <i>Rhizopus sp</i> <i>Clodsporium flavum</i>
		1 isolat	<i>Penicillium sp</i>

Chapeter III : Resultats et Discussion

<p>L'épi de blé (stocké derrière une clôture en verre)</p>		<p>1 isolat</p>	<p><i>Fusarium sp</i></p>
<p>L'épi de maïs (les milieux PDA et GN)</p>		<p>1 isolat</p>	<p><i>Rhizopus sp</i></p>
		<p>1 isolat</p>	<p><i>Bacillus sp</i></p>

Chapeter III : Resultats et Discussion

<p>Coton stocké dans un pilulier en verre</p>		<p>5 isolats</p>	<p><i>Rhizopus sp</i> <i>Rhizopus stolonifer</i> <i>aspergillus niger</i> <i>Mucor sp</i> <i>Aspergillus flavus</i></p>
<p>Coton stocké dans un sachet plastique</p>		<p>4 isolats</p>	<p><i>Mucor sp</i> <i>Rhizopus sp</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Trichophyton sp</i></p>
<p>Repiquage d'un 'isolat de les graines de blé (stockée dans un sachet plastique)</p>		<p>3 isolats</p>	<p><i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium sp</i></p>



1- 1. Isolement et identification de Bactéries :

❖ *Bacillus Sp* :

Les bactéries se développent favorablement à la surface de la gélose, et les colonies obtenues présentent une grande variabilité d'aspect. En général, ces colonies sont larges, lisses, plates, souvent de forme circulaire avec des contours irréguliers, et elles peuvent avoir une couleur crème ou blanc jaunâtre.

L'examen microscopique, tant à l'état frais qu'après coloration de Gram, a révélé que toutes les souches de bactéries se présentent sous la forme de bâtonnets de tailles variables, droits avec des extrémités arrondies. Ces bâtonnets sont regroupés en diplobacilles, en palissades ou en chaînettes, et ils apparaissent de manière Gram positif. Selon la description (Devos et al. 2009) et (Madigan et al. 2006).

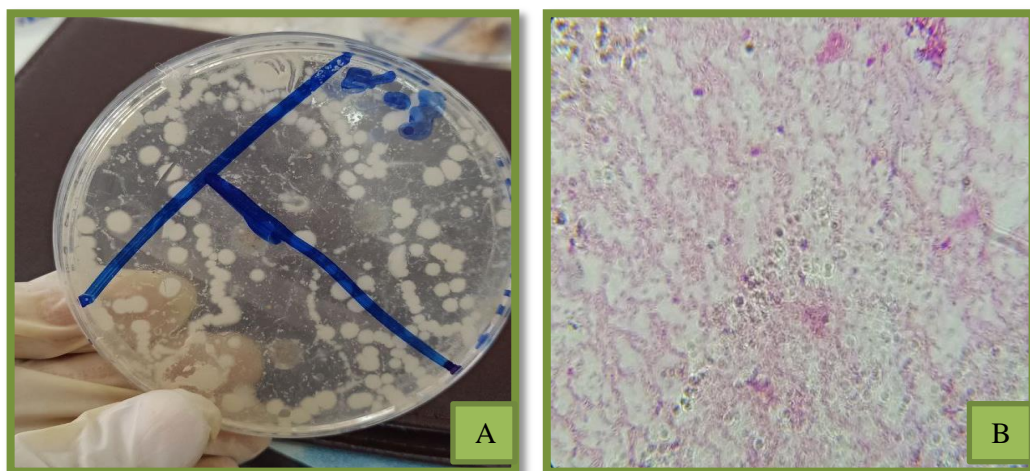


Figure 27 : Aspect macroscopique (A), et microscopique (B) : coloration de gramme de *Bacillus sp.G40X10*.

1-2 Identification de genres fongique :

Pour identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (Cahagnier, 1998).

1-2-1 *Penicillium Sp.*

Les colonies de cette souche sont de couleur vert gris surface poudreuse, et de reliefs planes, couleur blanc puis gris vert, contour irrégulier. Le mycélium de *Penicillium* est de type cloisonné portant de nombreux conidiophores isolés, ramifiés, terminés par un pénicille ; Pénicille constitue de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiospores.

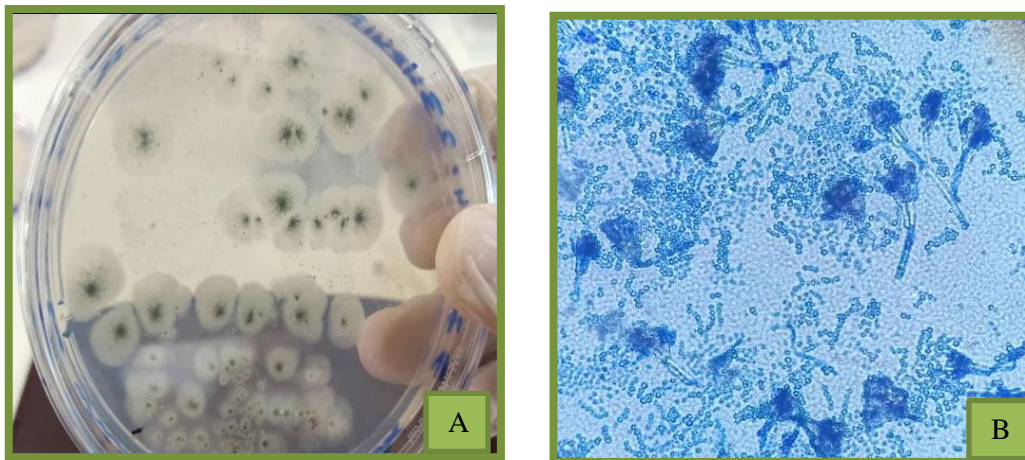


Figure 28 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *Penicillium Sp.*G40X10

1-2-2 *Cladosporium Flavum* :

Les colonies ont une texture veloutée, parfois poudreuse avec une coloration marron figure A, contour irrégulier plane et en relief. La morphologie microscopique démontre des hyphes septés et pigmentés. Qui produisent des conidiophores de longueurs variables B. les premiers conidies formés à l'extrémité des conidiophores sont de grande taille, uni ou pluricellulaire l'ensemble forme de longues chaînes acropètes et ramifiées présentant des arbuscules fragiles, qui se dissocient lors du montage (Benlamoudi, 2016).

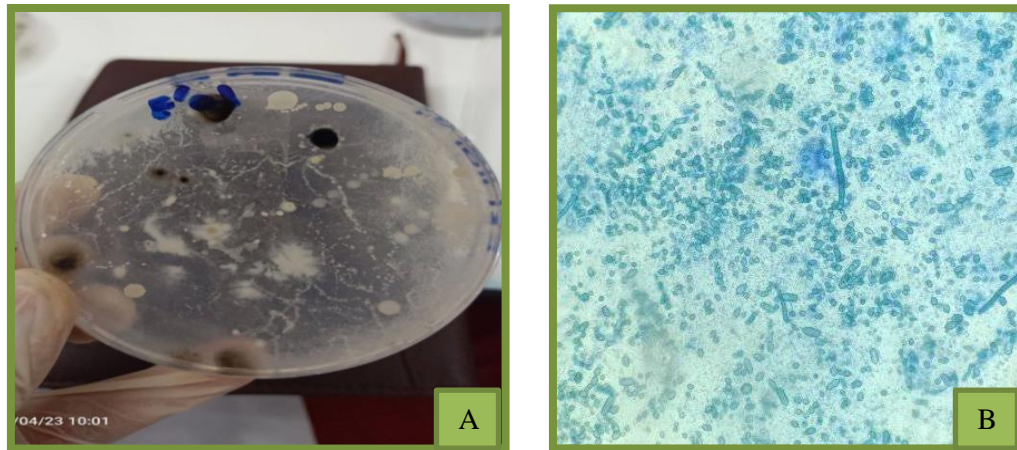


Figure 29 : L'Aspect macroscopique et microscopique de *Cladosporium Flavum*.G40x10

2-3 *Rhizopus stolonifer* :

L'aspect macroscopique de l'isolat montre des colonies présentant des stolons de *Rhizopus* pigmentés, avec une croissance cotonneuse dense qui devient après grise ou noir avec sporulation. D'après les clés d'identification de Botton et al. (1990), ces isolats correspondant à *Rhizopus stolonifer*. L'observation microscopique montre la présence de sporocystes marron à noirs à la surface du mycélium et un thalle à croissance rapide sur des rhizoïdes. Ces derniers portent des columelles brunes, globuleuses ou semi globuleuses.

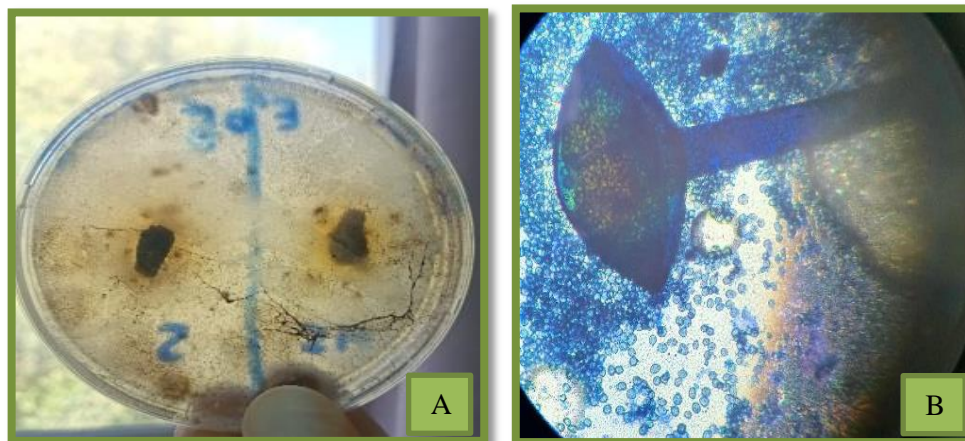


Figure 30 : Aspect macroscopique et microscopique de *Rhizopus satolonifer* G40X10

2-4 .*Rhizopus* sp :

L'aspect macroscopique présente une colonie poudreuse et plane, d'une couleur grise à noire. L'aspect microscopique présente un *Rhizopus* avec un thalle à croissance rapide, des

sporosystophores généralement très grands, terminés en entonnoir, en bouquet de 2 à 6 présentant à la base de rhizoïdes ; Columelles brunes, globuleuses ou semi globuleuses

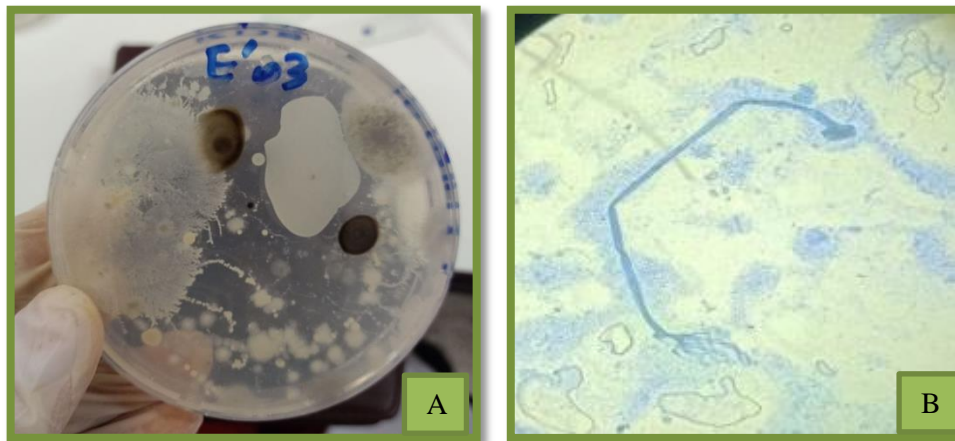


Figure 31 : Aspect macroscopique et microscopique de *Rhizopus spG40X10*.

2-5 *Aspergillus Niger* :

Les colonies d'*A.Niger* ont une couleur blanche au début, puis devient noirâtre granuleuse, d'aspect plat. Présentant un mycélium non cloisonné, les phialides sont plus ou moins allongées, présentant plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides) (B).

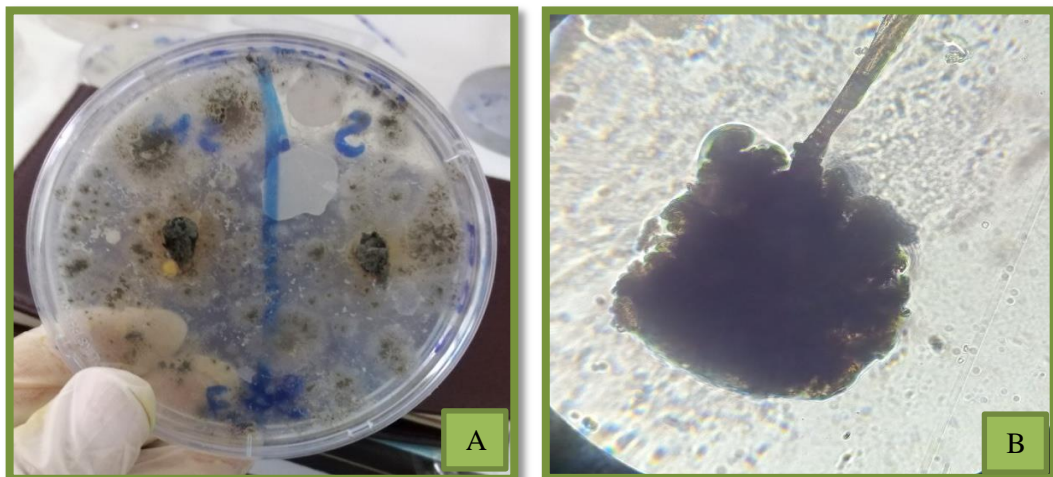


Figure 32 : (A) Aspect macroscopique et (B) aspect microscopique d'*Aspergillus niger*

2-5 *Aspergillus fimugatus* :

Les colonies de cette souche sont de couleur noire poudreuse, et de relief plan (A) *l'aspergillus fimugatus* présente un mycélium non cloisonné et une tête conidienne unisériée ou bisériée, Vésicules globuleuse.

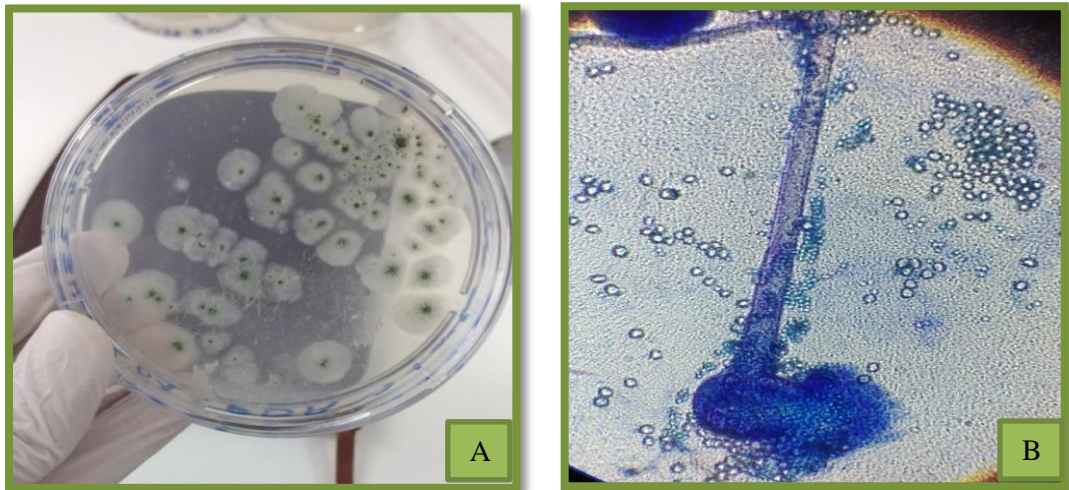


Figure 33 : (A) Aspect macroscopique et (B) aspect microscopique d'*Aspergillus fumigatus*.G40x10.

2-6 *Aspergillus flavus* :

L'aspect macroscopique de cette espèce est de couleur marron à noire duveteuses de relief plane, l'examen microscopique montre conidiophore long et non cloisonné. Les conidies sont globulaires de couleur marron claire.

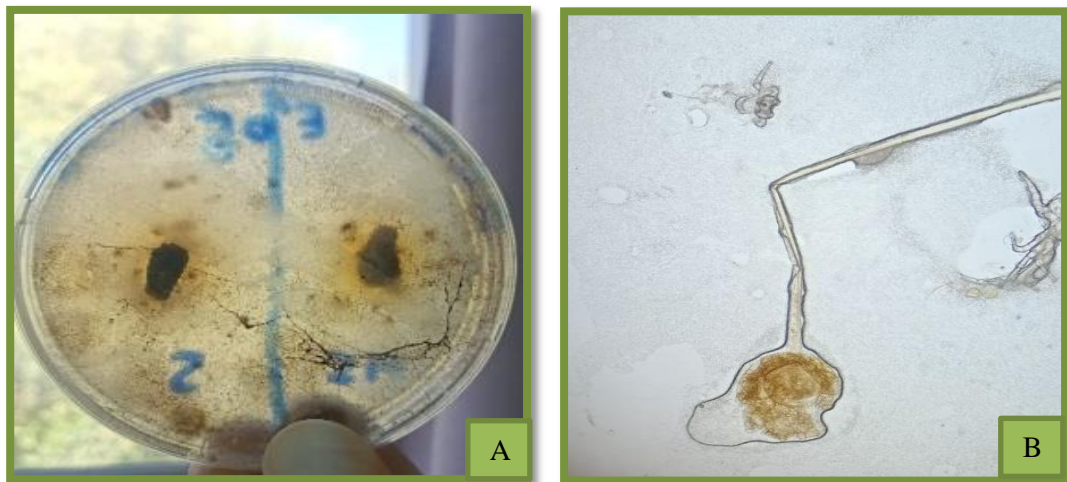


Figure 34 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) d'*Aspergillus flavus* G40X10.

2-7 *Alternaria sp* :

D'après l'observation macroscopique, les colonies sont d'une couleur noire, marron et duveteuse, elles présentent une texture épaisse selon les clés d'identification de Rémi et al. (1997). Les conidies se forment de manière caractéristique en chaînes courtes, irrégulièrement ramifiées, formant des grappes, avec des conidies primaires portées par des hyphes noueuses, portant généralement des conidies secondaires portées par les pointes, à l'extrémité de courtes longueurs d'hyphes

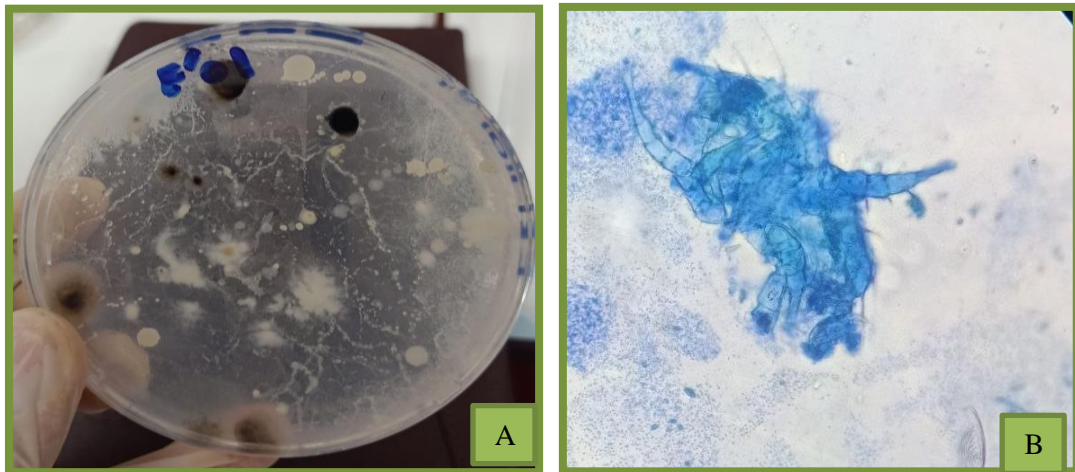


Figure 35 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) *Alternaria Sp.* G40X10.

2-8 *Fusarium sp* :

Cette espèce forme des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur blanche à crème (fig. 36.A). D'après les clés d'identification De Botton et al. (1990), le *Fusarium* présente des macroconidies fusiformes, des filaments non cloisonnés.

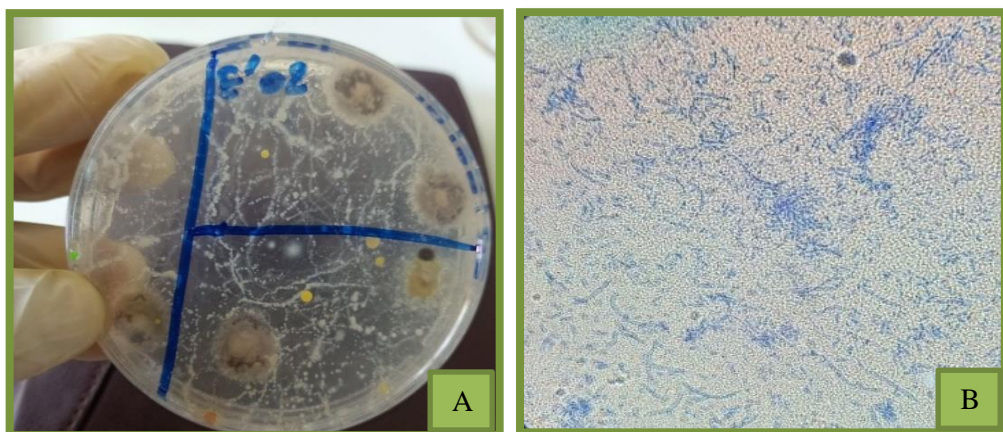


Figure 36 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) du *Fusarium sp*G10X10.

2-9 *Mucor sp* :

Cette espèce forme des colonies noires poudreuses de relief plane, le *Mucor* présente un thalle non septé, conidies unicellulaires globuleuse.

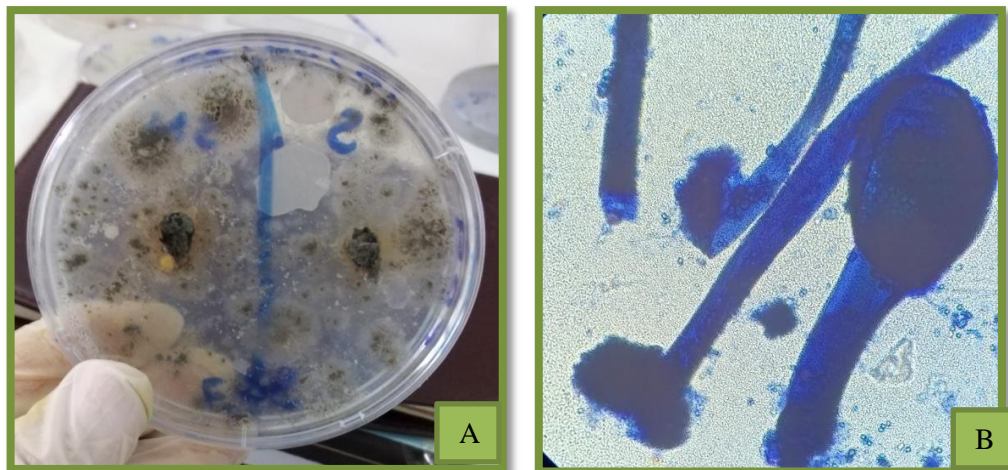


Figure 37 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) du *Mucor sp* G40X10.

2-10 *Trichophyton sp* :

L'aspect macroscopique des colonies de ce genre a de couleur blanche duveteuse à poudreuse et de relief plane, la morphologie microscope démontré des hyphes Irrégulières avec chlamydospore terminal et intercalaire. Chlamydospores en chaine

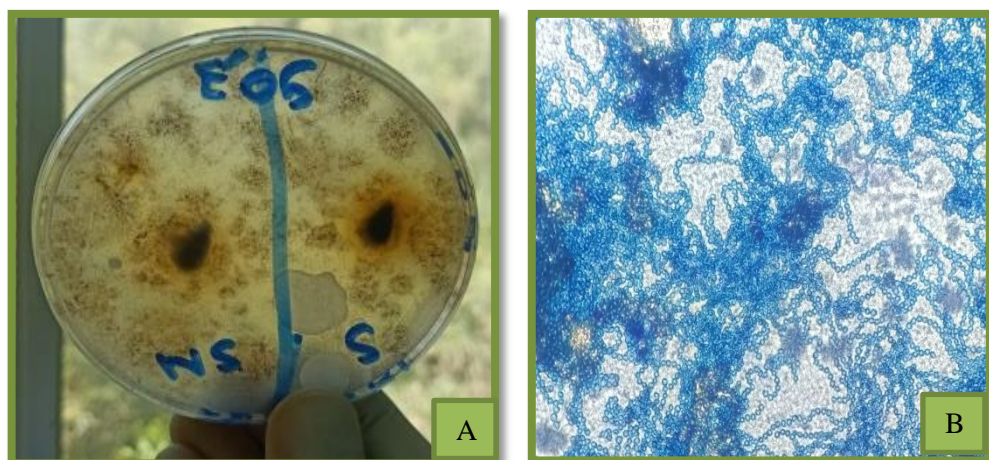


Figure 38 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *Trichophyton sp* G40X10.

3- Les arthropodes :

Nous avons observé la présence des artropodes avec les isolats, dans les boités de pétri.



Figure 39 : Aspect microscopique d'arthropodesG40X10.

4- .Les Microorganisme non identifiées :

A cause du manque de temps, pour effectuer d'autre repiquages , de la qualité des microscopes utilisés, la non disponibilité de colorants nécessaire pour l'identification et le maunque des milieux de cultures sélectifs , nous n'avons pas pu effectuer l'identification de nombreux isolats, la figure 41 représente quelques exemples des isolats non identifiés.

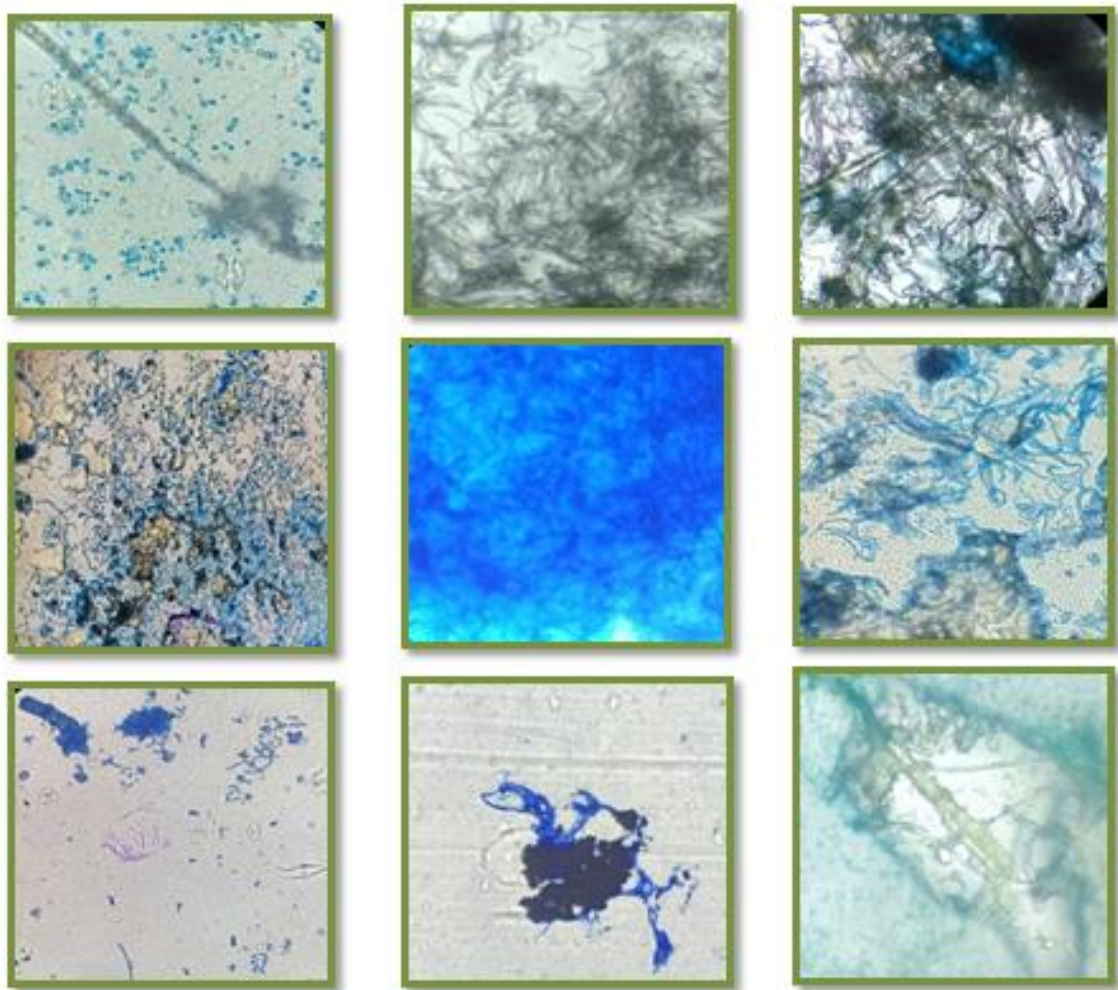


Figure 40 : Observetion microscopique des souches fongiques non identifie G40X10.

II- Discussion :

La semence constitue un moyen de dispersion des maladies. Pour les champignons phytopathologies, il s'agit soit d'une contamination, soit d'une infection (SEMAL, 1993). De ce fait la semence est parmi les plus importants facteurs de propagation des spores et leur conservation, d'où il est important de contrôler d'une manière très sévère la semence (Dommergues, 1970).

Pour mettre en évidence le maximum d'éléments d'une flore fongique, il est recommandé d'utiliser au moins deux milieux de culture gélosés (Moreau, 1996). Dans notre Etude, nous avons choisi d'isoler les souches fongiques et bactériennes contenus dans une collection végétale, sur deux milieux PDA et GN.

Les milieux PDA et GN nous ont donné une croissance variable, en effet, une seule souche bactérienne a été isolée à partir du milieu GN (*Bacillus*), et la majorité des souches fongiques à partir du milieu PDA. Cela peut être expliqué par le choix des substrats préférés par les souches fongiques, tel que rapporté par l'organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (OEPP, 2003). En vérité le nombre important des isolats purs des champignons cultivés sur le milieu (PDA), explique que le (PDA) est un milieu adéquat par sa convenance à la plupart des Champignons.

Nos résultats d'isolement démontrent une charge fongique élevée dans les épis, graines du blé et les graines du cotonnier et la souche de *Bacillus* dans les épis du maïs. La flore fongique est composée par huit genres de moisissures ; ceux appartenant à la flore du champ (*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* et *Rhizopus*) et ceux appartenant à la flore post-récolte. Cette dernière est représentée essentiellement par 3 espèces d'*Aspergillus* et 1 espèce de *Penicillium*, et 2 souches : *Trichophyton* et *Mucor*. La souche bactérienne est de genre *Bacillus* sp.

La présence de bactéries ne constitue pas en elle-même une menace pour les semences stockées, car leur multiplication nécessite la présence d'eau. Leur nuisibilité est en relation avec la présence de prolifération fongique qui altère les semences et constitue par la suite un milieu propice pour le développement des bactéries.

Champion (1999), souligne que le taux d'infection des lots de grains de blé est extrêmement variable, il dépend des conditions climatiques de l'année et des conditions de récolte. De la même manière, la nature de la microflore dans les graines dépend des conditions environnementales, de récolte, de stockage. Et de la manière d'analyser l'échantillon. (Hanak et al, 2002 ; Bennoudia, 2016) rapportent que les conditions de conservations mal contrôlées notamment relatives à

Chapeter III : Resultats et Discussion

l'humidité et la température, et la durée de stockage ont une grande influence sur le développement de la flore fongique et la contamination en mycotoxine ainsi que le facteur temporel lié au stockage (Moreau 1996 ; Belkacem-Hanfi et al. 2013 ; Bourgeois, 1990).

Les champignons de stockage se différencient des champignons qui se développent sur les plantes en culture. Ceux de stockage se trouvent sous forme de spores sur les débris des plantes et en sol, le taux d'humidité permettant leur germination est inférieure à celui des champignons infectant en champs. Ils persistent après récolte et nettoyage. Les principaux champignons de stockage ayant des spores aéroportées sont les espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria*, leur activité dépend largement de la teneur en humidité des semences, de la température ambiante et l'humidité relative de la zone d'entreposage. Ainsi, ils sont des contaminants de denrées alimentaires et témoignent la mal conservations de ces denrées (Le Bars et al. 1987 ; Cahagnier et Richard-Molard, 1998, Riba et al. 2005 ;)

En effet, la contamination se fait par la production de mycotoxines telles que les aflatoxines, les ochratoxines, l'acide penicillique, la citrinine, la patuline, notamment pour les *Aspergillus* et les *Penicillium* (Maizi, 2021)

Le développement des *Penicillium* s'accompagnent en générale d'une diminution du reste de la mycoflore (Champion, 1999). Nous avons constaté cet effet dans nos résultats, où les *Penicillium* ont été isolés solitairement ou en présence avec deux autres espèces fongiques (*Aspergillus*), à partir des graines de coton et épis de blé et à partir des graines de blé, respectivement. En comparaison avec le nombre de champignons retrouvés dans d'autres boites.

Trois espèces d'*Aspergillus* sont rencontrées dans notre étude. La plus dominante étant *A.flavus* isolée à quatre répétitions à partir des graines de blé et de cotonnier. Suivie par *A. niger* et *A. fumigatus* isolées des graines de cotonnier et blés, respectivement. Cette fréquence de contamination importante est accompagnée aussi par une production de mycotoxines, Nos résultats

de diversité des espèces d'*Aspergillus* rencontrée pour les semences de blés, sont compatibles avec l'étude de (Withlow, 2001).

Le genre *Alternaria* a été isolé à partir de l'épi de blé conservé dans du papier sulfurisé, dans notre étude. Ce genre, est considéré comme l'agent responsable d'altérariose dans le blé qui germe à la surface de ces feuilles. (Weinderbörner, 2000), rapporte que la forte fréquence du genre *Alternaria* dans le blé tendre importé semble être due à l'humidité élevée de ces échantillons.

Les autres souches isolées des genres *Rhizopus* et *Fusarium*, sont naturellement présentes sur les cultures en plein champs et dans le sol (Withlow et al. 2001).

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).

Le genre *Fusarium* est retrouvé sur l'épi de blé dans notre étude. Il est connu que la fusariose peut toucher les feuilles et les épis, ce qui nous permet d'estimer l'origine des spores à une infection de plein champ. L'étude de Curtui et al. 1998, indique la fréquente présence de *Fusarium* dans les échantillons de blé stocké.

Nous avons obtenu une souche de *Cladosporium sp* dans l'échantillon d'épi de blé. (Gacem, 2011) indique la présence de ce dernier dans la flore du champ et la flore intermédiaire.

Selon (Poisson et Cahagnier, 1982 ; Richard Molard 1991), les grains de blé et leurs dérivés constituent un milieu riche qui influe sur la croissance des moisissures et la synthèse des mycotoxines.

Dans l'ensemble, les taux de contaminations sont élevés, ainsi que la biodiversité fongique est assez importante parmi les échantillons de la collection. Ceci peut être expliqué probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage du et le non Respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication (BPH/BPF).

Il est important de noter que les différents modes de stockage des graines de céréales et de cotonnier à un impact sur la flore d'altération.

Pour les graines de cotonnier nous avons remarqué que celles stockées dans des piluliers en verre présentent une charge fongique légèrement élevée par rapport aux graines en sachet plastique, concernant les autres échantillons de blé, le nombre de champignon est proche dans les deux modes de conservation (papier sulfurique et sachet en plastique). Ceci peut être expliqué par la nature même des graines, notamment leur teneur relative en humidité.

Les graines de cotonnier par la charge fongique élevée de celles non stérilisées (7 souche fongique dont 6 souches identifiées : 2 souches d'*Aspergillus flavus*, 1 souche d'*Aspergillus niger*, 2 souches de *Rhizopus* et 1 souche de *Mucor*) par rapport à celles stérilisées (5 souches fongique parmi eux 3 souches identifiées : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp* et *Rhizopus sp*). Peuvent renseigner sur un entreposage des graines sont traitement et/ou dans des lieux de stockage non convenable pour une longue durée et dans des conditions climatiques non contrôlées.



CONCLUSION

Les semences représentent une source essentielle de diversité génétique au sein des espèces végétales. Chaque variété de plante possède un ensemble unique de gènes qui lui confèrent des caractéristiques spécifiques, y compris une résistance naturelle à certaines maladies. En conservant et en utilisant différentes semences, on maintient la diversité génétique des plantes, ce qui permet de prévenir les effets dévastateurs des maladies causées par les espèces phytopathogènes, d'où l'importance des collections végétales, notamment celle des semences.

Le but de ce mémoire est d'isoler et d'identifier des souches phytopathogènes à partir d'une collection de semences, étant une partie d'une grande collection végétale, et de déterminer les différents microorganismes majeurs responsables d'altération des banques de semences et d'estimer ainsi l'état phytosanitaire de cette collection et permettre sa préservation.

Le Premier résultat remarquable, est la grande diversité des microorganismes identifiés en l'occurrence les espèces fongiques, pour un nombre réduit d'échantillons, s'agissant de graines et épis de blé, maïs et de cotonnier. Ceci témoigne, malheureusement, d'un état inquiétant de dégradation de cette collection.

Les espèces fongiques caractérisées appartiennent à deux groupes distincts de phytopathogènes. En effet, les champignons de plein champ dont les spores persistent sur les épis, feuilles et tiges. Leur présence peut indiquer que les échantillons n'étaient pas traités, ou que le traitement était inapproprié, combiné à des conditions de stockage non maîtrisées. Ainsi, les graines de cotonnier non stérilisées présentant une charge fongique plus élevée que celles non stérilisées, renforce le constat du non traitement des graines.

Les champignons de stockage, qui généralement sont très fréquents dans les lieux d'entreposage et de stockage, mais dont le développement est inhibé par un taux d'humidité réduit. Leur prolifération au sein de cette collection, en l'occurrence les espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria*, indique justement, que les conditions climatiques de stockage d'humidité et de température sont relativement élevées et sont donc propices pour le développement des deux types de champignons.

La présence du *Mucor* et de *Rhizopus*, qui sont des moisissures de décomposition indique clairement le début de décomposition des graines. A ce stade, une seule bactérie du sol a été identifiée. Cette dégradation, peut conduire au développement d'autres bactéries qui peuvent accélérer cette altération. Ceci représente un danger de perdre une collection très précieuse et peut nuire même à la viabilité des graines.

Ainsi, sur la lumière de ces résultats, il serait nécessaire de compléter ce travail par :

- ❖ Etendre cette étude sur d'autres échantillons,
- ❖ Mesurer les conditions environnementales autour de cette collection (humidité et température) ;
- ❖ Rechercher des solutions pour sauver les échantillons et préserver une collection inestimée et ancienne ;
- ❖ Avertir les responsables de gestion, sur les précautions sanitaires à prendre dont le port de masques et de gants, le raccourcissement des durées de présence au local abritant la collection. Afin d'éviter l'exposition à des mycotoxines pouvant causer des problèmes de santé, en l'occurrence la présence d'*Aspegillus fumigatus*.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- **AGRIOS, G. N. (1997)** ; Control of plant diseases. Plant pathology, vol. 5, no 3, p. 295-357.
- **AGRIOS, G. N. (1997)** ; Control of plant diseases. Plant pathology, vol. 5, no 3, p. 295-357. <https://plantix.net/fr/library/plant-diseases/100283/banded-leaf-and-sheath-blight>.
- **Allain. E ; (2014)** ; Céréale données et bilan (Campagne 2013/14 / juillet 2014). France Agri Mer :Pp140.
- **Ammar.M(2015)** ; organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective , thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier :P 17-20.
- **AREAS .A ; (2017)** (enligne) ; www.agridea.ch , consulté en 2023.
- **Ban-Koffi, L., Atikpo, M. O., Hanak, A., & Holpzafel, W. H; (2009)**; Comparative studies of Ochratoxin A (OTA) production by *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium nordicum* in Cocoa, Coffee and yeast extract sucrose agar. Agronomie Africaine,P : 21(2).
- **Bbl nutriment agar ; (2006)** ; procédure de contrôles de qualité ; revu 08 ; Loo7481.
- **Belkacem-Hanfi N., Semmar N., Perraud-Gaime I., Cherni M., Cherif I., Boudabous A., Guesmi A. Et Roussos S., (2013)** ; Spatio-temporal analysis of post-harvest moulds genera distribution on stored durum wheat cultivated in Tunisia. Journal of Stored Products Research 55 116_ 123..
- **BENLAMOUDI, W ; (2016)** ; Essai de lutte biologique in vitro contre quelques maladies fongiques de la tomate dans la région d'Oued Righ par l'utilisation de souches autochtones de *Trichoderma harzianum* Persoon (1794), UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA, p(34) .
- **Bennoudia, O., (2016)** ; Isolement et identification des espèces d'Aspergillus section Flavi Aflatoxinogènes contaminant la farine de blé tendre commercialisées en Algérie. Mémoire de Master,. Université Saad Dahlab-Blida.
- **BERGQUIST, R et MASIAS, O. R. (1974)** ; Physiologic specialization in *Trichometeta sphaeriaturotica* f. *Sp. Zeae* and *T. Turcica* f. *Sp.* Sorghi in Hawaii. Phytopathology, vol. 64, no 5, p. 645649.
- **Botton B., Bretton A., Fève M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., ReymandP., Sanglier J.J., Vayssier Y., veau P.(1990)** ; Moisissure utiles et nuisible, Importance industrielle. (edn) Masson. Paris.
- **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F. et Zucca, J ; (1996)** ; Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments (Tome 1). Paris :Tec et Doc(Lavoisier), 958p.
- **Cahagnier B., (1998)** ; Céréales et produits dérivés. In: Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed : Technique et Documentation, Paris. Pp : 392-414.
- **Chabasse D., Bouchara J., De Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P., 2002** ; Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale. Pp 157
- **Champion. R ;(1997)** ; Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France, 398 p.
- **Chene . C. ;(2006)** ;La maîtrise du risque moisissures : application aux aliments à humidité intermédiaire, Rôle Technologique. Agro-alimentaire Newsletter n°9.Pp : 1. ____pH

References Bibliographiques

- **Chourghal N., Lhomme J. P., Huard F., & Aidaoui A. (2016)**; Climate change in Algeria and its impact on durumwheat. *Regional Environmental Change*, 16(6), 1623-1634. _ en Algérie
- **Christensen, C.M.; Meronuk, R.A. and Sauer D.B. (1982)**; Microflora.. Chapter 9. In: *Storage of cereal grains and their products* (Christensen C. M. Ed), American Association of Cereal Chemists, St. Paul, pp 219-240.
- **Curtui V., Usleber E., Dietrich R., Lepschy J. and Martlbauer E., (1998)**; A survey of the Occurrence of mycotoxins in wheat and maize from western Romania. *Mycopathol*, 143 : 97-103.
- **DOMMERCUES J.O. (1970)** ; *Ecologie microbienne du sol*. Ed. Presse Univ.(Paris). 783P.
- **Doumaindji A., Doumaindji S., Doumaindji B. (2003)** ; *Cours de technologie des céréales*. Ed. Office des publications Universitaires Ben-Aknoun-Alger ; p 01-20
- **Eyal Z., Scharen A. L., Prescott J.M., Ginkel, M.V., (1987)**; *The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management*. Mexico City, Mexico: CIMMYT.
- **Ezzahiri B., (2001)** ; *Les maladies du blé. Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte*. *Transfert de technologie en Agriculture*, n°77, 4 pages.
- **Fao ;(2019)** ; *outil de formation pour la production de semences ; module 6 : entreposage des semences ; Rome ; ISBN 978-92-5-131908-6*
- **FAO, (2014)** ; *Principaux pays producteurs de blé dans le monde*
- **(FAO); (2012)**; *L'état des ressources génétiques forestières mondiales (2012) ; l'état actuel des ressources génétique forestière en Algérie ; p20.*
- **FAO,(2011)**; *FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.*
- **FEILLET P ; (2000)** ; *Le Grain de blé : composition et utilisation*, Editions Quae, P.124-128.
- **Ferro H.M ;, De R.M Souza ;, Lelis F.M.V ;, Da Silva J.C.P ; F.H, De Medeiros ; (jan – mars 2020)** ; *bacteria for cotton plant protection : disease control, crop yield and and fiber quality ; agronomy ; revue : coatings ; 33(1) ; doi : <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n105rc>.*
- **Gacem, M.A., Ould El Hadj, K.A., et Gacemi B., (2011)** ; *Étude de la qualité physico-Chimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie)*. *Algerian Journal of Arid Environment*. 1(2) : 67-76.
- **GOMEZ-CAMPO C.,(1985)** ; *Seed banks as an emergency conservation strategy*. In *Gomez-Campo C.*
- **GOUACHE ;(2002)** ; *Variétés à usages industriels réservés et production en filières : facteurs clés en matière de production de la propriété intellectuelle*. *C. R. Agric. Fr.*, 88(2) : 13-22. (Zeamays) .
- **Griffith G. W, G.L. Easton., detheridge .A , roderick. K , Edwards. A., J.Worgan H, Nicholson. J; Perkins.W.T ; November (2007)**; *Copper deficiency in potato dextrose agar causes reduced pigmentation in cultures of various fungi*, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 276, Issue 2, November 2007, Pages 165–171, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00923.x>.
- **Guiraud J.(2003)** ; *Microbiologie alimentaire*. Ed : duond, paris. Pp 8-101

References Bibliographiques

- **Guiraud J., Rosec J., (2004)** ; Pratique des normes en microbiologie alimentaire, Ed : AFNOR, Saint-Denis-la-plaine, France. P : 300.
- **Gutzuiller A., Czeglédé L., et Stoll P., (2005)** ; Efficacité d'adsorbants contre les Mycotoxines de Fusarium chez le porc. *Revue Suisse Agric.* 37 (3) : 121-129.
- **Hajjaji A., Bouseta A., Lebrihi A., Collin S. (2004)**; Évaluation de la production de l'ochratoxine A par quelques espèces fongiques d'origine marocaine isolées à partir de grains de céréales. Actes du Congrès International de Biochimie, 3-6 mai 2004, Marrakech. p 482-486.
- **Hanak .F Ellen, Boutrif. E, Fabre , P, Pineiro. M ; (2002)** ; Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. In : Food safety management in developing countries : Proceedings of the international workshop, CIRAD-FAO, 11-13).
- **Iram et Merieme, (2013.)** ; Essai de l'association légumineuse céréales (maïs) sur la disponibilité du phosphore dans la rhizosphère. Thèse ingéniorat. ENSA. EL HARRACH. Alger, 5-18 Maladies bactérienne du maïs.
- **Joly ,C ;(2019)** ; Définition de l'organisation des collections inertes associée au jardin botanique au Gacilly ;Sciences du vivant [q – bio] dumas-02466924.
- **kara R ;kadri s ,(2021)** ; La flore fongique associée aux grains de blé et d'orge stockés ; Thésée de master ;Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi ;p(44).
- **khawar J. ; sami U. ; bhagirath S .allah. b ;(2020)** ;an introduction to global production trends and uses , history and evolution , and genetic and biotechnological improvement in cotton ; cotton production Ed1 ; chapter 1 p(2_5).
- **Kheladi M. (2009)** ; L'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes. Recherches économiques et managériales. N° 6 : 32-67 .
- **Kinderlerer, J. L. (1989)** ; Volatile metabolites of filamentousfungi and theirrole in foodflavour. *Journal of AppliedBacteriologySyposiumSupplement*, pp. 133S-144S.
- **Laffont J. (1985)** ; Les maladies des céréales et du maïs. Agri-Nahan. Pp 4-51.
- **Lakhial S. (2018)** ;Inventaire des insectes et des maladies des denrées stockées. Thèse de doctorat Université de Bouira. P 6-8.
- **Laurent C., Maxime F., Mazé A., Tichit M. (2003)** ; Multifonctionnalité de l'agriculture et modèles De l'exploitation agricole. *Economie rurale.* 273(1), 134-152
- **Laurent C., Maxime F., Mazé A., Tichit M. (2003).** Multifonctionnalité de l'agriculture et modèles de l'exploitation agricole. *Économie rurale.* 273(1), 134-152
- **Le Bars J., and 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. Bulletin de l'Association des Anciens élèves de l'Institut Pasteur.49p.
- **Louafi, S. (2007)** ; Les collections ex situ et la mise en œuvre du système multilatéral du traité international de la FAO.
- **MacFaddin. J. F; (1976)**; Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilkins.
- **Maeda.AB,Wells.L.W,Sheehan.M.A,Dever.j.k ;(2021)** ; stories from the green house-A brief on cotton seed germination ;Texas A&M Agrilife research and Extension center ;Lubbock,TX79403;plant2021 ;10(12),2807 ;doi :<https://doi.org/10.3390/plants10122807>.
- **Maizai .N,Hamel .A, boudechiche.B ;(2021)** ; Recherches des aspergillus flavus dans le blé et évaluation des risques des mycotoxines sur la santé humaine ;mémoire de fin d'étude ; Université 8 mai 1945 Guelma ; p(127).

References Bibliographiques

- **MEDDOUR.R, DERRIDJA ;(2007)** ; Les banques de semences : une stratégie de conservation EX SITU des plantes et Endémiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, p(72).
- **Meghazi N. (2015)** ; Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé Stocké. Thèse de doctorat. P18-19.
- **Mills, J.T. (1990)**; Mycotoxins and fungi on cereal grains in western Canada. Can. J. Physiol. Pharmacol. 68, pp. 982-986.
- **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.
- **Moule. C; (1971)**; CÉRÉALES, Tome II, La Maison rustique. Paris, p95.
- **MUNKACSI, A B., STOXEN, S, et MAY, G. (2007)**. Domestication of maize, sorghum, and sugarcane did not drive the divergence of their smut pathogens. Evolution, vol.61, no.2, p. 388403.
- **Ndiaye D.S.B. (1999)** ; Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux, Coopérative Autrichienne pour le développement, Décolé Sidy Baba, Cellule centrale d'appui technique PADER. 2, 61.Ouvrage réalisé par l'ITCF, institue des céréales et des fourrages Wilson-75116-paris- France. p17.
- **Ntsam . S ;1989** ; Pourquoi stocker ? Céréales en régions chaudes. AUPELF-UREF, Eds John LibbeyEurotext, Paris, 3-8 p. ____ Généralités des céréales .
- **OEPP, (2003) ; protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés. Normes OEPP Bulletin 33, 245–247.**
- **OEPP/EPPO;(2003)** ; Organismes de Quarantaine pour l'Europe CAB International ;Wallingford (GB (2ème éd.); 33, 245–247.
- **Ominski, K. H. ; Marquardt, R. R. ; Sinha R. N. and Abramson D ;(1994)** ; Ecological aspects of Growth and mycotoxin production by storage fungi. Chapter 6. In Miller,J.D., Trenholm, H.L.(Eds), Mycotoxins in Grain. Eagan Press, St. Paul, MN. Pp. 287-312.
- **Persoon (1794)** ; Universite Kasdi Merbah, Ouargla, P(34).
- **Pfohl-Leszkowicz A. (1999)** ; Les mycotoxines dans l'alimentation, Évaluation et gestion du Risque. Lavoisier, collection Tec&Doc. 478 pages
- **Pitt J.I, Hocking A.D. (1988)**; A laboratory guide to common *Penicillium* species. North Ryde, NSW Australia: CSIRO Food Research Laboratory.
- **Pitt J.I., 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; p:16-21.
- **Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2022)**; Ecology of Fungal Food Spoilage. In Fungi and food spoilage (pp. 3-12). Cham: Springer International Publishing.
- **Poisson, J. et cahagnier,B., (1982)** ; Effet des procédés de «stabilisation» des grains. In Multon J.L. «conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés »Vol.1.
- **Proctor D., 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.
- **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 Euromaghrébin sur les contaminants biologiques chimiques et la sécurité alimentaire, Fès .

References Bibliographiques

- **Richard-Molard, D ; (1991) ;** Microbiologie des céréales et farines. In Godon B. et Willm C. «Les industries de première transformation des céréales». Ed. Tec. Et Doc. Lavoisier, Paris. France. Pp. 177-190.
- **Sakhraoui, N., Metallaoui, S., Chefrou, A., Hade, A. (2019) ;** La flore exotique potentiellement envahissante d'Algérie : première description des espèces cultivées en pépinières et dans les jardins ; biotechnol.agron.soc.environ.2019 ; 23(2),63-73.
- **Sands D.S., Fourrest E., (1989) ;** *Xanthomonas campestris* pv. Translucens in North and Amérique du Sud and in the Middle East. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 19, 127-130.
- **Sayegh, M ;(2009) ;** la résistance du cotonnier *Gossypium hirsutum* à la bactériose causée par *Xanthomonas campestris* patho *Var malvacearum* : rôle du gène Ghlox1 dans la réaction hypersensible ; Thèse de doctorat ; sciences agricoles institut national poly technique de Lorraine ; p(54-55).
- **Schuster E., Dunn-Coleman N., Frisvad J.C., Van Dijck P.W. (2002);** On the safety of *Aspergillus niger*—a review. Applied microbiology and biotechnology. 59(4), 426-435.
- **SEMAL J. (1993) ;** Traité de pathologie végétale. Ed. Presse agronomique de Gembloux (Belgique). 621P.
- **SHIPTON W., BOYD W., ROSEILLE A. et SHAREN B., (1971) ;** The common Septoria diseases of wheat. Bot. Rev. 27, pp : 331-334.
- **SURGET A., Barron C., (2005);** Histologie du grain de blé. Industries des cereals, p. 3-7.
- **USDA-ARS ;(2018) ;** National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network (en anglais seulement) – (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD, USA. [Online] [13 November 2018]._February 23, 2017].
- **Weinderbörner G ; (2000) ;** Whole wheat and white wheat flour ; the mycobiota and Potential mycotoxins. Food Microbiology, 17 : 103-107.
- **Withlow L.W. and Hagler W. M; (2001);** Mycotoxin contamination of feedstuffs-An Additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec : p74-76.
- **Zahir, S. Farih, A. Badoc, A ;** D'importance des septorioses dans les champs de blés maroc Ouir, A(2007) : ains , Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2008, 147, 29-38 .
- **Zillinsky F.J., (1983) ;** Les maladies des céréales à paille : Guide d'identification. Eds. CIMMYT, Mexico. 141p.

REFERENCE ELECTRONIQUES:

- <https://plantix.net/fr/library/plant-diseases/100283/banded-leaf-and-sheath-blight>.
- EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/XANTTR/photos>

<p>Présenté par :</p> <p>*Zouaia Ouissem . * Yezli Rayene .</p> <p>*Yessaad Raghda . * Ahmed seid Chaima.</p>	<p>Date de soutenance : 26/06/2023</p>
<p align="center">Thème = Isolement et identification des microorganismes à partir d'une collection végétale du service commun de recherche pôle de vulgarisation botanique.</p>	
<p>Résumé :</p> <p>La contamination par les microorganismes représente l'une des causes majeures d'altération de collections végétales stockées, et leur importance est encore trop souvent sous-estimée. Les altérations causées par les moisissures du stockage, entraînent des pertes sur les plans technologique, commercial, hygiénique et nutritionnel.</p> <p>Notre objectif par ce travail, est l'isolement et l'identification des différents microorganismes présents dans une collection végétale du service commun de recherche, pôle de vulgarisation botanique de Skikda, qui est une collection très précieuse et diversifiée datant des années cinquante. A cet effet, un échantillonnage a été fait à partir des graines de blé et de cotonnier et les épis de blé et de maïs et ont été isolés sur deux milieux de culture pda et gn</p> <p>Les résultats obtenus révèlent la présence de huit genres identifiés de champignons pathogènes et opportunistes tels que le <i>Cladosporium</i>, <i>Fusarium</i>, <i>Penicillium</i>, <i>Trichophyton</i>, <i>Rhizopus</i>, <i>Aspergillus</i>, <i>Alternaria</i> et <i>Mucor</i> et un genre de bactérie : <i>Bacillus</i>. Ceci démontre une grande diversité des moisissures rencontrés et indique un niveau élevé de détérioration de la collection. De plus, la grande fréquence de moisissures sur les graines de coton non désinfectées en comparaison avec celles désinfectées, démontre que les graines n'ont pas été traitées avant leur stockage, ce qui a favorisé la multiplication fongique avec les conditions environnementales non contrôlées. De ce fait, le traitement des semences et le contrôle des conditions de stockages sont des facteurs très importants pour la durée de vie des semences et leur qualité. A travers notre étude, il est impératif de trouver des solutions pour sauver les espèces végétales de cette collection et d'avertir le personnel d'entretien sur les mesures sanitaires à prendre pour leur santé.</p>	
<p>Mots clés : Collection végétale, moisissures, stockage, bactéries, les microorganismes .</p>	
<p>Laboratoire de recherche : Laboratoire microbiologique de l'université 20 août 1955 Skikda</p>	
<p>✓ Présidente : Mme.Nasser.M. (MCB) Univ. du 20 Août 1955 – Skikda.</p> <p>✓ Promotrice : Mme. Zadri .F. (MCA) Univ. du 20 Août 1955 – Skikda.</p> <p>✓ Examinatrice : Mme. Labid .A . (MCB) Univ. du 20 Août 1955 – Skikda.</p>	