



Décontamination des grains de blé et d'orge par traitements aux ultrasons

Mémoire

Valentin Leroy

Maitrise en sciences et technologie des aliments
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Valentin Leroy, 2017

Décontamination des grains de blé et d'orge par traitements aux ultrasons

Mémoire

Valentin Leroy

Sous la direction de :

Anne Vanasse, directrice de recherche
Sylvie Rioux, codirectrice de recherche

Résumé

La production céréalière, plus particulièrement le blé et l'orge, subit des pertes importantes de rendement occasionnées par la fonte des semis et les pourritures racinaires. Deux champignons sont majoritairement responsables de ces maladies chez le blé et l'orge : *Fusarium graminearum* et *Bipolaris sorokiniana*. L'utilisation des ultrasons comme une alternative « verte » aux fongicides pourrait permettre une culture biologique et minimiser les pertes économiques. L'objectif principal de ce projet consistait à établir les paramètres optimaux (puissance des ultrasons, présence d'éthanol, débit d'oxygène et temps de traitement) afin de réduire la contamination par *B. sorokiniana* des grains de blé et d'orge sous un seuil de 30 % tout en conservant la germination supérieure au seuil de 85 %.

L'ensemble du projet de recherche exploratoire a permis de vérifier l'efficacité de traitements novateurs pour le blé contaminé. Le traitement de ces lots de grains sous forme sèche a révélé un maintien de la germination pour tous les types de traitement (ultrasons 30 W, oxygène en bullage dans l'éthanol et les deux techniques combinées) ainsi qu'une réduction significative du taux de contamination par *B. sorokiniana* (en moyenne en dessous de 15 %). Pour l'orge, ces traitements semblables ont permis le maintien de la germination ainsi qu'une faible diminution de la contamination par *B. sorokiniana*. Cette nuance peut être expliquée par la morphologie différente des deux grains.

Une réelle avancée dans le domaine du traitement des grains sous forme sèche peut être mise en évidence pour sa rapidité de traitement. Il restera à vérifier l'efficacité du traitement sur d'autres lots et sur des quantités plus importantes pour vérifier la mise à l'échelle du dispositif (supérieure à 100 g). Pour l'avenir, une étude se basant sur la microcalorimétrie sera préconisée pour étudier les prémisses de la germination des grains traités.

Table des matières

Résumé.....	iii
Liste des tableaux	vi
Liste des figures	vii
Remerciements.....	x
Introduction.....	1
Revue de littérature	2
1. Le blé et l'orge dans le monde.....	2
1.1 Blé	2
1.2 Orge	3
2. Le blé et l'orge au Canada	3
2.1. Blé	3
2.2 Orge	4
3. Maladies du blé et de l'orge	5
3.1. Piétin commun	5
3.2 Piétin fusarien.....	6
3.3. Fonte des semis	7
4. Moyens de lutte	8
4.1. Traitements chimiques : les fongicides	8
4.2. Traitements physiques	12
4.3. Traitements biologiques.....	17
4.4. Traitements avec substances naturelles ou composés commerciaux	17
Hypothèse	20
Objectif.....	20
Matériel et méthodes	21
1. Préparation des grains	21
2. Préparation des milieux	21
2.1. Milieu Benlate.....	21
2.2. Milieu de germination	23
3. Traitements des grains.....	24
3.1. Préparation du dispositif expérimental.....	24
3.2. Les réacteurs.....	24
3.3. Ultrasons.....	25
3.4. Oxygène	25
3.5. Éthanol.....	25
4. Mise en milieu.....	26
4.1. Milieux gélosés	26
4.2. Milieu de germination	26
4.3. Paramètres de développement.....	27
5. Dénombrements.....	27
5.1. Grains en milieu gélosé	27
5.2. Grains en milieu de germination	28

5.3. Pourcentages de germination et de contamination en <i>B. sorokiniana</i>	29
5.4. Analyses statistiques	29
Détails des expériences menées.....	29
Expérience 1 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ..	29
Expérience 2 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ou dans l'eau distillée	30
Expérience 3 : Traitements sur grains secs	32
Résultats et discussions.....	34
Expérience 1 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ..	34
Expérience 2 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ou dans l'eau distillée.....	35
Expériences 3 : Traitements sur grains secs	38
3.1 Orge à sec	38
3.2 Blé à sec	39
Discussion générale et conclusions	42
Bibliographie	46
Articles et livres de référence	46

Liste des tableaux

Tableau 1 Fongicides homologués pour le traitement des semences de blé (MAPAQ, 2010)	11
Tableau 2 Différentes utilisations et applications des ultrasons en agroalimentaire (Chemat et al., 2011).....	15
Tableau 3 Exemple de traitements avec utilisation des ultrasons dans différents produits et visant quelques éléments (Chemat et al., 2011).....	16
Tableau 4 Ingrédients du milieu Benlate et dosages (N. Bourget, CÉROM, communication personnelle)	22
Tableau 5 Détails des traitements de l'expérience 1	30
Tableau 6 Détails des traitements de l'expérience 2.1	31
Tableau 7 Détails des traitements de l'expérience 2.2.....	31
Tableau 8 Détails des traitements réalisés dans l'expérience 3.1	32
Tableau 9 Détails des traitements réalisés dans l'expérience 3.2	33
Tableau 10 Pourcentages de contamination (<i>B. sorokiniana</i>) et de germination de grains de blé trempant dans de l'eau distillée et soumis à différents traitements d'oxygène chargée en eau distillée (OxH ₂ O) et d'ultrasons (20 à 70 W)	

Liste des figures

Figure 1 Répartition mondiale de la production de blé pour l'année 2014 en millions de tonnes (FAO, 2014)	2
Figure 2 Répartition mondiale de la production de l'orge pour l'année 2014 (FAO, 2014)	3
Figure 3 Production et consommation canadienne du blé (FAO, 2016)	4
Figure 4 Production et consommation canadienne de l'orge (FAO, 2016)	5
Figure 5 Photos de céréales affectées par le piétin commun	6
Figure 6 Photo de céréales affectées par le piétin fusarien	7
Figure 7 Photo de céréales affectées par la fonte de semis	8
Figure 8 Marché mondial des produits phytopharmaceutiques utilisés en agriculture en pourcentages de ventes pour l'année 2010 (Mc Dougall, AgriServices, 2010)	8
Figure 9 Superficies de l'utilisation des fongicides pour l'épandage au Québec en hectares (Statistiques Canada, 2008)	9
Figure 10 Estimation des rendements mondiaux selon l'utilisation ou non de produits phytopharmaceutiques, par rapport au rendement maximal (USDA, 1997)	
Figure 11 Grains d'orge et de blé observés à la loupe binoculaire (x64)	14
Figure 12 Mécanisme de dommage cellulaire par les ultrasons (Chemat et al., 2011)	16
Figure 13 Effet de différentes concentrations d'éthanol sur la germination et la contamination en <i>B. sorokiniana</i> sur les grains de blé (traitement de 15 min) (Ouyed, 2015)	19
Figure 14 Trieuse de grains	21
Figure 15 Développement de <i>B. sorokiniana</i> dans un milieu Benlate	22
Figure 16 Présence de <i>B. sorokiniana</i> sur la brosse d'un grain de blé au binoculaire	23
Figure 17 Dispositif expérimental pour traitement aux ultrasons - oxygène	24
Figure 18 Réacteurs de traitements des grains	25
Figure 19 Exemple de disposition de grains de blé dans une boîte de pétri avec le milieu Benlate	26
Figure 20 Exemple de disposition de grains de blé dans une boîte de pétri avec papier Whatman	26
Figure 21 Dénombrement de <i>B. sorokiniana</i> par absence/présence	27
Figure 22 Dénombrement de <i>B. sorokiniana</i> selon une échelle de 0 à 2	28
Figure 23 Règle de validation de germination d'un grain de blé	28
Figure 24 Pourcentages de contamination (<i>B. sorokiniana</i>) et de germination des grains de blé selon différents traitements d'éthanol (Eth), d'oxygène chargée en eau distillée (OxH ₂ O) et d'ultrasons (20 à 50 W)	34
Figure 25 Pourcentages de contamination (<i>B. sorokiniana</i>) et de germination de grains de blé trempant dans de l'éthanol (Eth) ou de l'eau distillée (H ₂ O) et traités à l'oxygène chargé en eau distillée (OxH ₂ O)	36
Figure 26 Pourcentage de contamination des grains d'orge par <i>B. sorokiniana</i> selon des traitements d'oxygène éthanolé (Oxeth) et d'ultrasons (30 W) selon différents temps	38
Figure 27 Pourcentages de contamination des grains de blé par <i>B. Sorokiniana</i> selon des traitements d'oxygène éthanolée (Oxeth) et d'ultrasons (30 W) selon différents temps	40

Liste des abréviations

Centre de recherche sur les grains \Rightarrow CÉROM

Eau distillée \Rightarrow H₂O

Ethanol à 70% \Rightarrow Eth

Espèces \Rightarrow spp

Grammes \Rightarrow g

Hectares \Rightarrow ha

Litres \Rightarrow L

Oxygène \Rightarrow Ox

Oxygène chargé en Eau distillée \Rightarrow OxH₂O

Oxygène chargé en Ethanol \Rightarrow OxEth

Partie par million \Rightarrow ppm

Potato Dextrose Agar \Rightarrow PDA

Versus \Rightarrow vs

Watts \Rightarrow W

La direction de ce projet de recherche et du candidat à la maîtrise était assurée par le Professeur Khaled Belkacemi jusqu'à sa mort tragique survenue le 29 janvier 2017. Par la suite, la direction de recherche du candidat a été confiée à la

Professeure Anne Vanasse

Ce projet de recherche de maîtrise et ce mémoire ont été réalisés en hommage à Khaled Belkacemi, professeur, à l'initiative de ces recherches, ces questionnements, ces heures de paillasses, ces discussions et ces moments de partage de connaissances si précieux.

Après des réunions où nous échangeons des conclusions de résultats, il avait toujours une expression pour ponctuer la fin de la rencontre très inspirée de celle-ci ;

« Faites quelque chose et, si ça ne réussit pas, essayez autre chose. »

Franklin Delano Roosevelt

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu mes parents pour m’ avoir soutenu dans ma démarche pour venir étudier à l’ Université Laval.

J’ ai une pensée particulière et continue pour mon directeur de recherche, Khaled Belkacemi pour sa confiance et pour m’ avoir fait venir au Québec et travailler à ses côtés et apprendre énormément de lui à chaque jour. Il nous a quittés bien trop tôt et laisse un vide immense dans ma tête et dans mon cœur. Je tiendrai à chaque jour à respecter sa mémoire par mon travail scientifique et en appliquant au quotidien tous ses conseils pour faire en sorte d’ être un meilleur scientifique jour après jour.

J’ ai un remerciement tout particulier à Sylvie Rioux, co-directrice du projet pour son soutien sans faille, sa bienveillance, son écoute et son investissement dans mon projet de recherche et dans les périodes difficiles que l’ on a partagées ensemble.

Je tiens à remercier Anne Vanasse pour son écoute ainsi que son soutien infaillible. Sa bienveillance, son professionnalisme et ses qualités humaines exceptionnelles m’ ont permis de mener à bien la fin de ce projet, dans une situation plus que difficile.

Un remerciement tout particulier pour Annie Brégard pour son aide si précieuse à la réalisation des analyses statistiques de mon projet.

Je tiens également à remercier ma copine pour son soutien, son écoute et sa bonne humeur quotidienne qu’ elle a su partager avec moi et qui m’ a permis de relever la tête dans les périodes difficiles de ma maîtrise.

Je tiens également à remercier l’ ensemble des professeurs et professionnels de recherche de Sciences et technologies des aliments et Génie alimentaire plus particulièrement Safia Hamoudi, Marc-Henri, Alain Doyen, Muriel Subirade et Jean Christophe Vuillemard et Cristina Ratti pour leur bienveillance et leur soutien infaillible pendant et après les événements tragiques qui ont emporté mon directeur de recherche.

Un dernier remerciement est finalement à faire à l’ ensemble de mes comparses en maîtrise et doctorat pour leur sourire, leurs échanges, et pour tous les bons moments passés ensemble aussi bien dans les relations scientifiques que dans les relations humaines.



Introduction

La production de céréales subit de grandes pertes de rendement dues à la fonte des semis et aux pourritures racinaires. Ce problème affecte la production mondiale de blé qui s'élève à 700 millions de tonnes par année et aussi celle de l'orge qui représente environ 8 millions de tonnes par année. Deux champignons sont majoritairement responsables de ces maladies : *Fusarium graminearum* Schwabe (forme sexuée *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch) et *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker (forme sexuée *Cochliobolus sativus* (Ito & Kuribayashi) Drechs. ex Dastur) (Bailey *et al.*, 2004). Ces champignons sont des moisissures qui ont la capacité d'infecter les inflorescences des céréales et de se loger dans ou sur la graine. Lors de la mise en terre de ces grains contaminés, ces champignons infectent les plantules qui émergent des grains causant la fonte des semis ou infectent un peu plus tard les racines ou le plateau de tallage causant alors le piétin commun (*B. sorokiniana*) ou le piétin fusarien (*Fusarium* spp.). Ces maladies peuvent entraîner une baisse de rendement des céréales, particulièrement en production biologique.

L'utilisation de semences traitées aux fongicides est un moyen efficace pour réduire l'incidence de ces maladies, mais cette pratique n'est pas permise en production biologique. Une alternative « verte » aux fongicides permettrait ainsi la production de céréales biologiques, et atténuerait les pertes économiques des producteurs. Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire visaient à développer des traitements « verts » à base d'ultrasons pouvant décontaminer à la fois les semences de blé et d'orge, sans affecter leur germination.

On doit mentionner que les configurations différentes des grains de blé et d'orge présentent un défi pour trouver un traitement pouvant être utilisé pour les deux espèces, le grain de blé ayant une surface lisse facile à décontaminer alors que le grain d'orge est plus difficile à décontaminer à cause de la présence des glumes (parties florales restant collées aux grains à maturité) rendant sa surface irrégulière.

Revue de littérature

1. Le blé et l'orge dans le monde

1.1 Blé

Le blé (*Triticum aestivum* L.) fait partie de la famille des graminées. La production de blé peut provenir de la culture du blé d'hiver, majoritairement produit en Europe, et de celle du blé de printemps, produit dans les climats où la survie à l'hiver peut être compromise.

Le blé est la troisième céréale produite dans le monde avec une production pouvant s'élever à 726 millions de tonnes pour l'année 2014-2015 correspondant aux deux types de production de blé (hiver et printemps) (USDA, 2017).

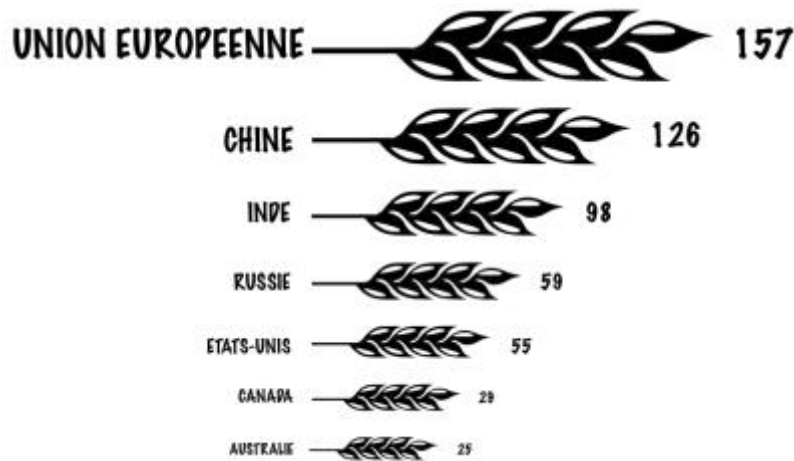


Figure 1 Répartition mondiale de la production de blé pour l'année 2014 en millions de tonnes (FAO, 2014)

La figure 1 présente les parties du monde étant les plus grandes productrices de blé avec un trio de tête qui est l'Europe (157 millions de tonnes), la Chine (126 millions de tonnes) et l'Inde (98 millions de tonnes). Cela démontre que la culture du blé est possible sur l'ensemble du territoire mondial, attribuable au fait que cette espèce est adaptée à plusieurs conditions climatiques. Le blé peut être destiné à l'alimentation animale ou humaine (panification, biscuiterie, etc.).

1.2 Orge

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est l'une des céréales cultivées les plus anciennes. Au même titre que le blé, il existe des cultivars d'orge de printemps et d'hiver. L'Europe (41 %) est le plus grand producteur d'orge au monde suivie de la Russie (20 %), de l'Australie (9 %) et du Canada (7 %) en quatrième position (Figure 2).

L'orge peut être utilisée en alimentation animale ou destinée à la production brassicole.

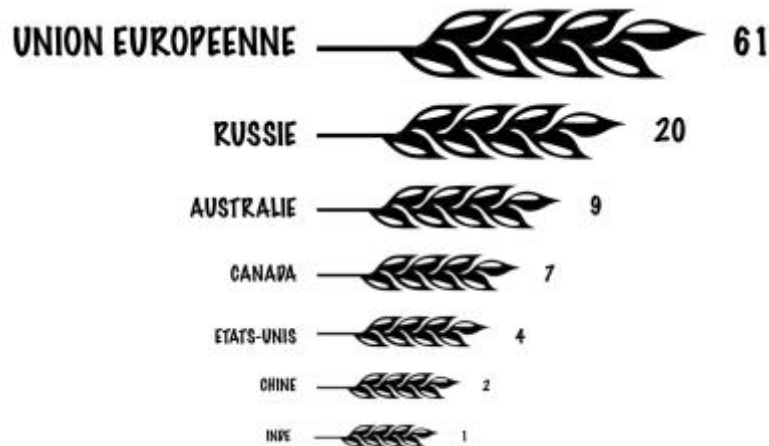


Figure 2 Répartition mondiale de la production de l'orge pour l'année 2014 (FAO, 2014)

2. Le blé et l'orge au Canada

2.1. Blé

La figure 3 présente la production et la consommation du blé au Canada. La production est en moyenne de 25 millions de tonnes à partir de 2007, tandis que la consommation reste stagnante à environ 8 millions de tonnes durant ces années. Une partie de la production est donc exportée à hauteur de 15 millions de tonnes annuellement. L'ensemble de la production est réparti sur 10 millions d'hectares, majoritairement en Saskatchewan, suivie par l'Alberta et le Manitoba.



Figure 3 Production et consommation canadienne du blé (FAO, 2016)

Pour le blé biologique, le Canada occupe la 3^{ième} place de producteur mondial avec plus de 100 000 hectares (FAO, 2015)

2.2 Orge

La figure 4 présente la production et la consommation de l'orge au Canada. Les variations de production et de consommation sont comprises entre 6,5 millions de tonnes et 13 millions de tonnes entre 1998 et 2015.

Au Canada, c'est l'orge de printemps qui est majoritairement semée avec une maturité s'échelonnant entre 80 et 90 jours. Une grande partie de la production d'orge provient des prairies, notamment le Manitoba, la Saskatchewan et l'Alberta. La moitié de la production d'orge commercialisée est exportée.

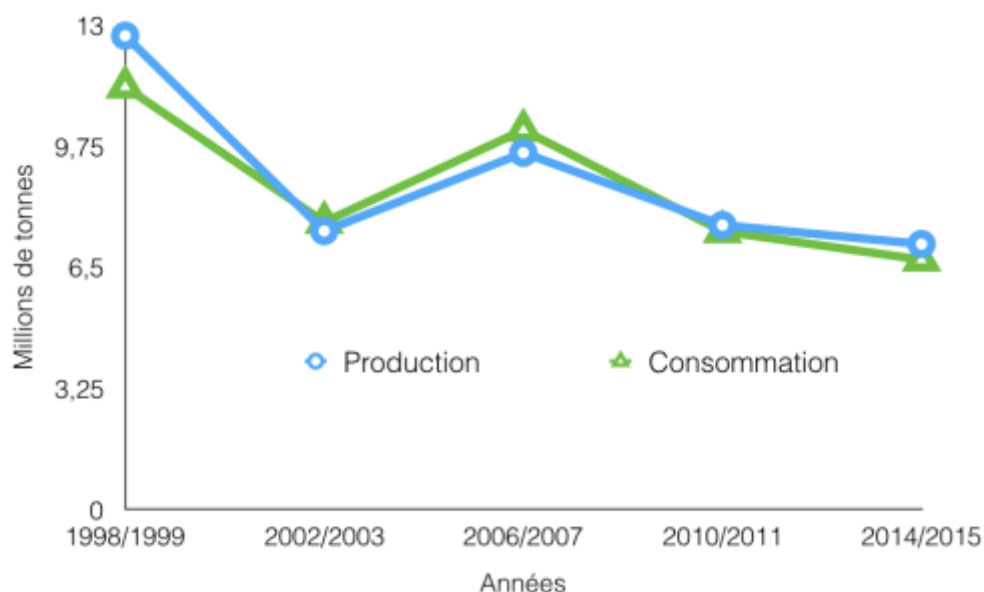


Figure 4 Production et consommation canadienne de l'orge (FAO, 2016)

3. Maladies du blé et de l'orge

Le blé et l'orge sont attaqués par des maladies pouvant se manifester à différents stades de la croissance de la plante. Ces maladies entraînent des pertes dont l'importance peut varier selon la sensibilité du cultivar utilisé et selon les conditions environnementales favorables ou non à l'expansion de ces maladies (Bailey et al, 2004).

Parmi ces maladies, le piétin commun, le piétin fusarien et la fonte des semis sont considérés comme des maladies racinaires importantes.

3.1. Piétin commun

Le piétin commun (*B. sorokiniana*) est une maladie qui affecte toutes les céréales causant des lésions brunes sur les racines, des plantes rabougries et entraînant même leur mort (Figure 5). L'inoculum provient du sol ou de la semence. Cette maladie est favorisée par des conditions de sécheresse sévissant peu après le semis ou lorsque les graines sont semées trop profondément. Pour réduire l'impact de cette maladie, il est conseillé d'utiliser une semence saine ou traitée avec un fongicide contre *B. sorokiniana* et d'effectuer les semis au moment et à une profondeur appropriés (Bailey et al, 2004).



Figure 5 Photos de céréales affectées par le piétin commun

3.2 Piétin fusarien

Le piétin fusarien est aussi une maladie qui affecte l'ensemble des céréales. Ce type de piétin est causé par différentes espèces de *Fusarium*, notamment le *F. graminearum*. Cette maladie cause des lésions brunes au niveau du collet et entraîne la mortalité (Figure 6). Le champignon pathogène se retrouve dans ou sur les semences, dans les résidus de culture directement au champ et dans les sols. Les conditions favorables au développement du piétin fusarien sont un temps chaud associé à de la sécheresse ou à un excès d'eau. Comme moyens de lutte, on doit favoriser une levée rapide et uniforme des semences, un bon égouttement du sol, l'utilisation de cultivars tolérants, utiliser des semences saines ou traitées avec un fongicide contre les *Fusarium* et une bonne rotation des cultures (Bailey et al, 2004).



Figure 6 Photo de céréales affectées par le piétin fusarien

3.3. Fonte des semis

La fonte des semis est causée par différentes espèces de champignons dont *F. graminearum* et *B. sorokiniana*. La source de l'inoculum se retrouve plus particulièrement sur et dans les semences. Des retards sont également observés lors de la germination, la plantule est alors jaune pâle (Figure 7). Les conditions favorisant le développement de la fonte des semis regroupent la sécheresse en début de saison et un semis trop profond. Les moyens de lutte utilisés pour contrecarrer cette maladie se résument à ensemercer à une date et une profondeur appropriée. L'utilisation de semences certifiées est également préconisée ainsi que l'utilisation de traitements de semences avec des fongicides homologués pour réduire l'incidence de ces deux champignons.



Figure 7 Photo de céréales affectées par la fonte de semis

4. Moyens de lutte

4.1. Traitements chimiques : les fongicides

Les fongicides utilisés sur les semences le sont pour éradiquer ou réduire le développement des moisissures, plus communément appelés champignons, dans et sur les semences.

La figure 8 représente le marché mondial en pourcentage de ventes de fongicides pour la planète. L'Europe, l'Asie et l'Amérique du Nord sont les plus grands consommateurs de fongicides.

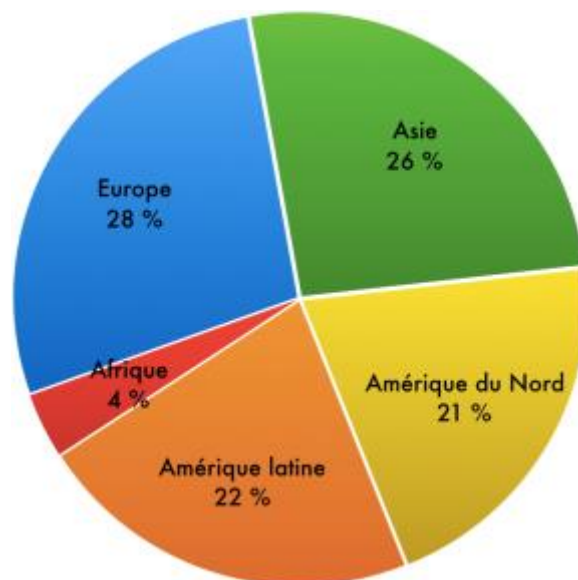


Figure 8 Marché mondial des produits phytopharmaceutiques utilisés en agriculture en pourcentages de ventes pour l'année 2010 (Mc Dougall, AgriServices, 2010)

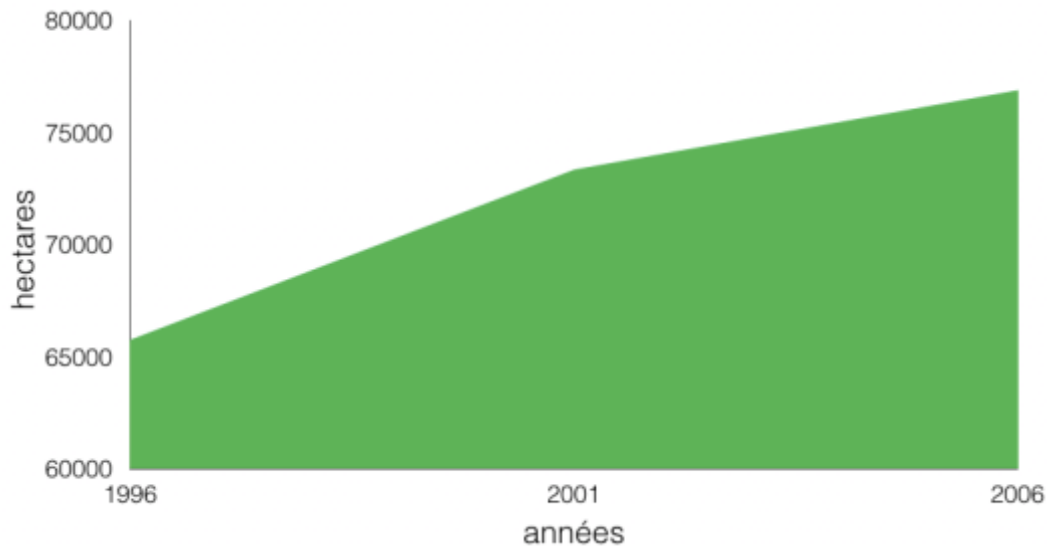


Figure 9 Superficies de l'utilisation des fongicides pour l'épandage au Québec en hectares (Statistiques Canada, 2008)

La figure 9 révèle une utilisation croissante de l'épandage des fongicides au Québec au cours de 10 années (1996 à 2006). Pour l'année 1996, 62 722 ha ont subi un épandage de fongicides et 76 876 pour l'année 2006. La courbe présentée en figure 9 est similaire par sa pente pour l'épandage des fongicides sur le sol canadien tout entier (1 818 436 ha pour 1996 et 2 859 798 pour 2006).

Selon le USDA (1997), la différence de rendement entre le blé avec traitement phytosanitaire (52 % du rendement maximal) et le blé sans traitement phytosanitaire (34 % du rendement maximal) est élevée. Cette différence de rendement est aussi présente entre l'orge avec traitement (47 % du rendement maximal) et sans traitement phytosanitaire (29 % du rendement maximal). Cette comparaison a pu être effectuée avec des cultures identiques dont le seul élément qui différait était l'utilisation de produits phytopharmaceutiques (Figure 10).

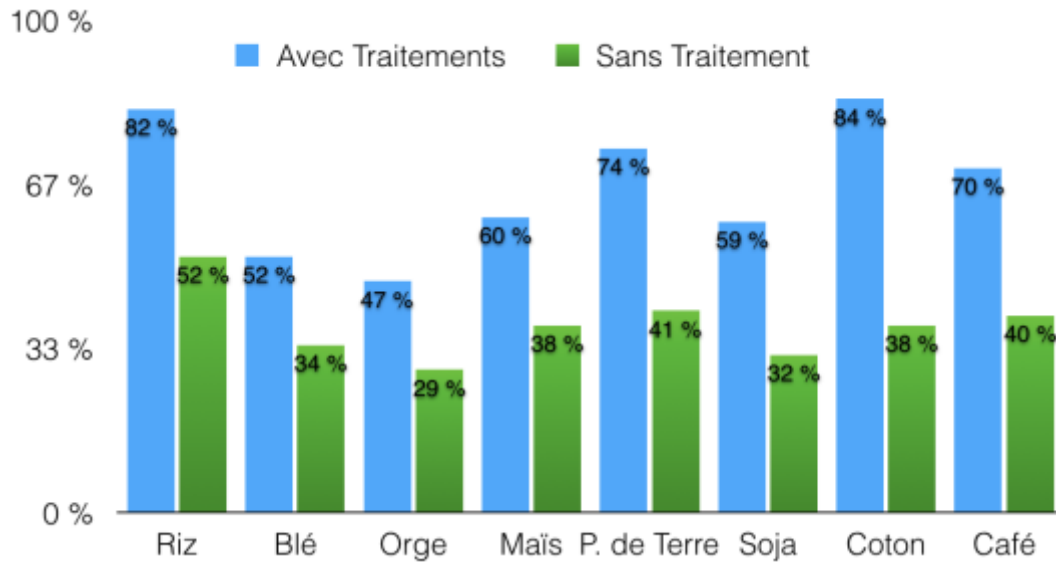


Figure 10 Estimation des rendements mondiaux selon l'utilisation ou non de produits phytopharmaceutiques, par rapport au rendement maximal (USDA, 1997)

Le tableau 1 présente la liste des fongicides homologués par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada pour les semences de blé. De plus, ce tableau renseigne sur leur spectre d'action et leur capacité à réguler la fonte des semis (pourriture des graines), différents piétins et d'autres maladies rencontrées sur le feuillage et l'épi du blé.

Légende :

- Homologué pour le contrôle.
- Homologué pour la répression, le contrôle partiel ou le contrôle temporaire.

(+) Recommandé ou déconseillé (-) par le Guide de protection des grandes cultures de l'Ontario de 2007-2008.

E, B, P : Efficacité jugée (E)xcellente, (B)onne ou (P)assable à la suite d'essais réalisés en Ohio.

(1) TsU = Traitement commercial en usine seulement. TsF: Traitement à la ferme ou en usine. TsFp : Traitement à la ferme seulement (planteur).

(2) Regroupe tous les stades de la maladie (symptômes de préémergence et de postémergence) et la brûlure des plantules.

(3) Regroupe tous les symptômes des piétins (pourritures des racines, pourritures des racines et du collet).

(4) *Septoria* transmis par la semence : *Stagonospora nodorum* (autrefois nommé *Septoria nodorum*) peut être transmis par la semence et causer la fonte des semis.

(5) Contrôle, durant les 4 premières semaines, des taches foliaires causées par *Stagonospora nodorum* et *Septoria tritici*.

(6) Avec la dose autorisée la plus élevée.

(7) Contrôle la maladie au début de la saison.

(8) Même si ce produit dit être homologué pour cet usage, *Penicillium spp.* ne sont pas des organismes reconnus pour causer la fonte des semis dans la culture du blé.

(9) Ce produit mentionne qu'il contrôle la pourriture des racines mais qu'il fournit seulement un contrôle partiel du piétin fusarien (pourriture des racines et du collet).

(10) L'étiquette d'APRON XL LS indique qu'il peut être mélangé avec tout produit insecticide homologué comme traitement des semences.

(11) CRUISER 350FS et CRUISER 5 FS (en usine seulement).

(12) Contient du Thiamétoxame.

(13) L'ajout de DIVIDEND XL RTA à CRUISER MAX CÉRÉALES est recommandé par le fabricant si: (a) le champ a déjà été fortement infesté par les maladies; (b) lorsque les conditions dans le champ sont favorables aux champignons pathogènes transmis par le sol et les semences; (c) lorsqu'il faut supprimer la septoriose (*Stagonospora*) transmise par les semences.

(14) Mélange autorisé avec STRESS SHIELD pour céréales contre le ver fil-de-fer.

(15) Information retrouvée sur les étiquettes des produits. Depuis le 27 octobre 2009, les mélanges avec tout autre produit homologué sont légalement autorisés même si l'étiquette ne le précise pas.

4.2. Traitements physiques

Les traitements physiques des semences sont divers et variés. On peut les regrouper dans trois catégories, les traitements à la chaleur, les traitements oxydatifs et les ultrasons.

4.2.1. Traitements à la chaleur

Clear *et al.* (2002) ont travaillé sur l'utilisation de l'air chaud entre 50 et 70 °C durant 14 j pour réduire différents agents pathogènes sur les semences, dont *F. graminearum*, *B. sorokiniana* et *Pyrenophora spp.* sur les grains de blé et d'orge à l'étude. Ils ont observé une diminution significative des *F. graminearum* et *Pyrenophora spp.* Pour les traitements à 50 °C et 60 °C, *B. sorokiniana* et *Pyrenophora tritici-repentis* ont été significativement réduits à des températures plus élevées, 70 °C voire 80 °C. Malgré cela, des difficultés de viabilité de semences ont été observées dans la plupart des lots traités aux deux plus fortes températures. Cette technique est

valorisée lorsqu'elle est utilisée pour contrer le transport de *F. graminearum* au niveau international.

Clear *et al.* (2002) ont également montré que la chaleur sèche permettait de réduire la présence de *F. graminearum* sur les semences, mais ne réduisait pas suffisamment celle de *B. sorokiniana*.

Une autre étude portant sur l'utilisation de l'eau chaude entre 50 et 55 °C couplée à l'acide acétique présentait un intérêt pour la réduction des maladies du charbon nu et des rayures réticulées (Nielsen, 2002). L'eau chaude couplée à l'acide acétique a permis de réduire l'incidence des maladies de 5 %, mais une réduction de la germination des grains a été observée chez l'orge de printemps. Une amélioration du traitement a été effectuée lorsque les grains sont trempés dans l'eau à 45 °C. La vapeur d'eau chaude reste relativement coûteuse et la haute température affecte trop la physiologie des grains (Troller, 1993).

Fosberg *et al.* (2004) ont utilisé l'air chaud et humide contre les caries des céréales. Ces traitements ont présenté une bonne efficacité pour combattre la plupart des maladies séminicales mais dès que le champignon est situé en profondeur dans la semence, le traitement s'avère inefficace. Aucun résultat concernant la germination n'a été indiqué dans le compte rendu expérimental.

4.2.2. Traitements oxydatifs

Fetner et Ingols (1956), Foegeding (1985), Ishizaki *et al.* (1986) et Restaino *et al.* (1995) ont démontré que l'oxygène et l'ozone ayant des propriétés oxydatives pouvaient jouer un rôle de décontaminant et permettaient l'amélioration de la germination des semences.

Lors de ses travaux de maîtrise, Neched (2015), qui a utilisé des traitements similaires d'oxygène et d'ozone, a observé des nuances d'efficacité avec les différents traitements utilisés. En effet, pour l'orge, le traitement à l'ozone à 5 ppm pendant 10 min conservait le taux de germination à 93 % en comparaison du témoin et réduisait faiblement le taux de contamination par *B. sorokiniana* (90 % vs 96 % pour le témoin sans traitement) (Neched, 2015). Pour le blé, parmi les traitements à l'ozone, celui qui présentait une efficacité certaine était le traitement exposant les grains à 5 ppm d'ozone pendant 15 min. Ce traitement conservait une germination satisfaisante (85 % vs 100 % pour le témoin sans traitement) et diminuait significativement la contamination par *B. sorokiniana* (4 % vs 52 %) (Neched, 2015). Pour les traitements faisant intervenir uniquement l'oxygène, soit 60 min d'oxygène à 0,75 L/min, le blé présentait une bonne germination (82 %), similaire à celle du témoin (100 %). Ce traitement présentait une meilleure réduction de la contamination par *B.*

sorokiniana (4 % vs 52 % pour le témoin sans traitement). Dans le cas de l'orge, les traitements à l'oxygène et à l'ozone n'ont pas eu d'effet sur la contamination par *B. sorokiniana* (Neched, 2015). Cette difficulté à décontaminer les grains d'orge serait due aux glumes qui recouvrent sa surface, alors que les grains de blé sont nus (sans glumes) (voir Figure 11).



Figure 11 Grains d'orge et de blé observés à la loupe binoculaire (x64)

4.2.3. Traitements aux ultrasons

L'ultrason est une technique utilisée dans plusieurs domaines, à la fois en procédés mécaniques et industriels, en repérage d'obstacles, en médecine, en agroalimentaire, etc. Les ultrasons dans le domaine de l'agroalimentaire (Tableau 2) peuvent être utilisés sous différentes formes dans des procédés néanmoins connus, comme la cuisson, le découpage, le séchage et la filtration. Dans l'ensemble de ces procédés, les ultrasons vont permettre pour la plupart, un gain de temps et une diminution de perte de la matière. Ces deux grandes améliorations font des ultrasons, une technologie indispensable aux industries agroalimentaires actuelles (Poux *et al.*, 2010).

Tableau 2 Différentes utilisations et applications des ultrasons en agroalimentaire (Chemat et al., 2011)

Procédé	Méthode conventionnelle	Effet des ultrasons	Avantages	Produits visés
Cuisson	Poêle, friteuse, bain marie	Les vibrations permettent un transfert uniforme au sein du produit	Gain de temps, amélioration du transfert de chaleur et des qualités organoleptiques	Viandes, légumes
Cristallisation et congélation	Congélateur, congélation par immersion, par contact, bacs de refroidissement	Les vibrations permettent un transfert du froid uniformément réparti dans le produit	Gain de temps, diminution rapide en température, diminution de la taille des cristaux, amélioration de la diffusion	Confiseries, miel et dérivés, vin pour la clarification
Découpage	Lames et couteaux	Phénomène de la cavitation	Gain de temps, quasiment aucune perte de matière, découpe très précise et répétitive	Produits fragiles ou hétérogènes, congelés ou chauds
Marinage	Bain de saumure	Les vibrations ultrasoniques facilitent le transfert en saumure uniformément réparti dans le produit	Gain de temps, gain en matière première, amélioration en transfert de matière, stabilité du produit	Légumes, viandes, poissons, fromages
Dégazage et élimination des mousses	Traitement thermique, chimique, électrique et mécanique	Repose sur la haute pression de la radiation et la résonance des bulles	Gain de temps, hygiène alimentaire accrue	Boisson gazeuses, produits fermentés, chocolat...
Démoulage	Graissage des moules, moules en téflon ou en silicone	La haute intensité des ultrasons facilite le démoulage	Gain de temps, peu de perte en matière	Tout produit cuit dans un moule (gâteaux...)
Séchage/déshydratation	Atomisation, air chaud, congélation, pulvérisation	Les vibrations permettent un transfert de chaleur uniforme au sein du produit	Gain de temps, amélioration des qualités organoleptiques, amélioration du transfert de chaleur	Aliments déshydratés (fruits, végétaux, liquides...)
Émulsification	Agitation mécanique	Le phénomène de cavitation réduit le diamètre des gouttes	Stabilité des émulsions, gain de temps	Tout type d'émulsion (mayonnaise, ketchup...)
Traitement des pâtes	Traitements mécaniques	Diminution des pressions exercées	Temps de repos réduit de la pâte	Tout type de pâtes
Oxydation	En contact avec l'air	La température et la pression élevées grâce à la cavitation	Accélère l'oxydation des aliments	Alcools (vin, whisky...)
Filtration	Filtres (à membrane semi perméable...)	Vibrations ultrasoniques au contact direct des filtres	Gain de temps, amélioration de la filtration, quasiment pas d'obstruction	Tout type de liquide (jus de fruits...)

Les ultrasons peuvent également être utilisés pour la destruction des microorganismes (Harway et Loomis, 1929). Leur étude portait sur une variété de *Bacillus fisheri*. Des traitements basés sur la combinaison chaleur-ultrasons ont détruit cette variété de *Bacillus* à hauteur de 95 %.

Du point de vue mécanique, l'effet des ultrasons sur les cellules, les systèmes chimiques et biochimiques est attribué à la cavitation (oscillation de bulles de gaz et de vapeur) qui est répertoriée en deux groupes. Le premier est celui des cavitations stables. Cette oscillation entraîne le mouvement régulier des bulles de gaz ou de vapeur durant plusieurs cycles de traitement. Une fois les bulles en mouvement, un micro-courant est créé et fait subir un stress aux parois membranaires des microorganismes présents (Chemat et al., 2011). Le second groupe représente les cavitations transitoires. Dans ce cas, les bulles de gaz ou de vapeur sous le stress des oscillations

vont simplement implorer et modifier la température ainsi que la pression environnante. Ces deux caractéristiques entraînent donc une déstructuration des parois cellulaires. Le mécanisme de dommage cellulaire est présenté à la figure 12.

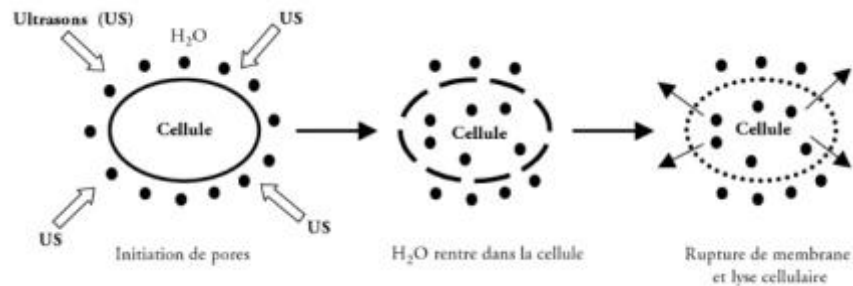


Figure 12 Mécanisme de dommage cellulaire par les ultrasons (Chemat et al., 2011)

Tableau 3 Exemple de traitements avec utilisation des ultrasons dans différents produits et visant quelques éléments (Chemat et al., 2011)

Élément à l'étude	Milieu en présence	Traitement	Température - Temps	Année d'étude
Flore mésophile totale	Jus d'orange	Sonication	/ - 15 min	2007
Listeria innocua	Lait	Thermosonication + Champs électrique pulsé	55°C - 2,5 min	2009
Escherichia coli	Tampon phosphate	Sonication	40 à 61°C - 0,25 à 4 min	2009
Pichia fermentans	Jus de tomate	Sonication	/ - 2 à 10min	2010
Salmonella enterica, serovar Enteritidis	Eau	Thermosonication	52 à 58°C - 2 à 10 min	2010
Alicyclobacillus acidifilus et A. acidoterrestris	Jus de pomme	Sonication	/ - 1 à 30 min	2010
Peroxidase	Cresson	Thermosonication	40 à 92,5°C - 0 à 2 min	2006
Lysozyme	Tampon phosphate	Manothermosonication	60 à 80°C - 3,5 min	2006
Pectinesterase	Citron	Thermosonication	40 à 90°C - 63 min	2007
Pectine methylesterase et polygalacturonase	Jus de tomate	Thermosonication	50 à 75°C - 0 à 40 min	2009
Polyphenol oxidase et peroxidase	Pommes fraîchement coupées	Sonication et acide ascorbique	/ - /	2011

Comme le présente le tableau 3, les ultrasons peuvent être utilisés à des temps variables afin de traiter différents éléments précis dans une multitude de produits. À l'heure actuelle, les ultrasons ont été peu testés pour décontaminer les semences ou pour étudier la résistance des microorganismes se trouvant en surface des semences.

Neched (2015) a testé une technique qui consistait à tremper les grains d'orge dans de l'éthanol à 70 % combiné à un traitement aux ultrasons. Cette technique a été efficace pour réduire la

contamination par *B. sorokiniana* (passage de 100 % de contamination pour le témoin à 16 % pour le lot traité) d'un lot d'orge et n'a pas affecté sa germination. Sharififar *et al.* (2015), quant à eux, ont montré que grâce à l'utilisation de fréquences ultrasoniques (42 KHz) en plusieurs salves sur des semences de plantes (*A. lentiformis*, *C. cyminum* et *Z. eurypterum*) ayant initialement des difficultés à germer, on obtenait une amélioration significative de la germination (40 % à 78 %). L'ensemble de ces études ont permis de prouver la capacité de cette technologie à jouer à la fois un rôle de décontaminant et un rôle sur la germination des grains.

4.3. Traitements biologiques

Les traitements biologiques des semences céréalières regroupent l'usage de microorganismes capables de lutter contre les maladies. Dans un premier temps, Bressan (2003) a préconisé l'emploi de *Streptomyces* spp. pour la lutte contre *Aspergillus* spp., *Curvularia lunata* et *Fusarium* spp. L'étude en elle-même est encore au stade de recherche aux vues des résultats présentant l'effet radical de décontamination de certaines souches (*Aspergillus* spp, *Curvularia lunata*, *Drechslera maydis*). Une réduction significative de l'incidence des *Fusarium* et *Cephalosporium* a été observée avec l'utilisation de souches de *Streptomyces* produites en biofermenteur. Aucune donnée vis-à-vis de la germination n'a été indiquée suite à ce traitement d'inoculation avec les souches produites. Une autre souche a été utilisée, *Trichoderma viride*, pour lutter contre les caries céréalières et la fonte des semis (Baturo *et al.*, 2004). Et finalement, *Pseudomonas chlororaphis* a présenté un intérêt certain dans la lutte contre les caries céréalières, les rayures réticulées, la fonte des semis et les moisissures roses (Widen et Annas, 2004).

4.4. Traitements avec substances naturelles ou composés commerciaux

Certains traitements sont effectués sur des céréales bien ciblées (blé, orge, seigle et millet perlé) à l'aide de substances naturelles permettant de décontaminer les semences.

Le vinaigre a été étudié pour la lutte de la carie et des rayures réticulées du blé (Borgen et Nielsen, 2001). À la suite de cette étude, une réduction significative des maladies a été observée à hauteur de 94 % dans le blé de printemps sans effet négatif sur la vigueur de la germination. Point positif supplémentaire, ce traitement est économique et respectueux de l'environnement.

La poudre de moutarde combinée à l'acide acétique contre les charbons, les caries et les rayures réticulées a été développée par Borgen et Kristensen (2001) favorisant une réduction de l'infection et maintenant la germination.

L'utilisation de vitamines pour les mycoses du mildiou et l'augmentation de la croissance du millet perlé a été mise à l'étude par l'équipe du chercheur Pusphalatha et al (2007). Cette étude a révélé que l'utilisation de vitamines, de pyridoxine, d'acide folique, de riboflavine, de niacine, de D-biotine et de bisulfite de sodium à la menadione (MSB) a été testée pour traiter les graines de millet perlé et pour vérifier leur capacité à induire une résistance à la maladie de la moisissure causée par *Sclerospora graminicola*. Les auteurs parlent ici d'une amélioration de la germination et une protection contre cet agent pathogène. Une protection plus élevée (74 %) a été également relevée après 7 jours. Les traitements vitaminiques ont eu un effet promotionnel de croissance et ont considérablement augmenté le rendement par rapport au témoin non traité.

L'utilisation de l'acide acétique contre le charbon nu et les rayures réticulées de l'orge a été développée par l'équipe de Nielsen (2000). Ce traitement a présenté de bons résultats pour lutter contre ces champignons pathogènes, mais l'orge une fois traité présentait des difficultés pour germer.

D'autres travaux (Ouyed, 2015) ont voulu mettre en valeur l'effet de l'éthanol pour réduire la contamination et améliorer la germination. Pour cela, les grains ont été trempés dans différentes solutions d'éthanol à différentes concentrations. Les résultats sont représentés dans la figure 13. Vis-à-vis du témoin, la solution éthanolée à 70 % a été le traitement qui a réduit le plus la contamination (28 % pour l'éthanol 70 % vs 86 % pour le témoin) mais a aussi causé une diminution de la germination (100 % à 66 %).

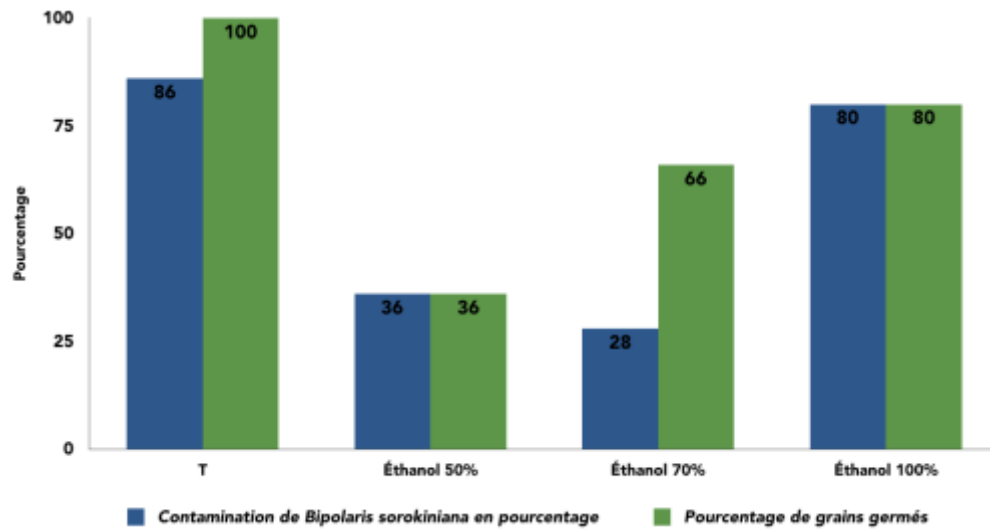


Figure 13 Effet de différentes concentrations d'éthanol sur la germination et la contamination en *B. sorokiniana* sur les grains de blé (traitement de 15 min) (Ouyed, 2015).

En conclusion, compte tenu des résultats prometteurs obtenus par Neched (2015) et Ouyed (2015) avec des traitements d'éthanol combinés aux ultrasons, un projet de recherche a été mis en place pour pousser plus loin l'investigation afin d'améliorer l'efficacité des traitements en regard de la réduction de la contamination par *B. sorokiniana* tout en maintenant la germination des grains. Ceci a conduit à l'hypothèse et l'objectif de recherche suivants.

Hypothèse

L'utilisation combinée d'ultrasons, d'éthanol et d'oxygène appliquée sur les semences de blé et d'orge réduit la contamination par *B. sorokiniana* tout en maintenant une bonne germination.

Objectif

Établir les paramètres optimums (puissance des ultrasons, éthanol (présence ou absence), débit d'oxygène et temps de traitement) afin de réduire la contamination par *B. sorokiniana* des grains de blé et d'orge sous un seuil de 30 % et de maintenir un taux minimal de germination de 85 %.

Matériel et méthodes

1. Préparation des grains

Les lots de grains d'orge et de blé proviennent d'une pré-sélection effectuée par le CÉROM qui a permis de vérifier leur pourcentage de contamination et de germination.

- Pour le blé, deux cultivars ont été à l'étude : Walton et Snowbird.
- Pour l'orge, seulement le cultivar Bentley a subi les traitements.

Pour chaque expérience, l'échantillonnage des grains s'est effectué avec une trieuse à grains à partir de l'ensemble du sac de grains de blé ou d'orge qui avait été fourni. L'opération a été renouvelée à trois reprises afin d'homogénéiser le lot pour la pesée.



Figure 14 Trieuse de grains

Pour chaque traitement, un échantillon de 10 g de grains a été prélevé sur le lot initial. Ensuite, les grains ont été entreposés à 4 °C jusqu'à analyse. Chaque témoin et traitement sont répétés une fois (deux répétitions) pour s'assurer de la répétabilité des traitements.

2. Préparation des milieux

2.1. Milieu Benlate

Le milieu Benlate est un milieu sélectif pour la détection de *B. sorokiniana*. Ce milieu se compose de deux produits : Agar Difco et PDA Difco (Tableau 4).

Tableau 4 Ingrédients du milieu Benlate et dosages (N. Bourget, CÉROM, communication personnelle)

Traitements	Agar Difco	Potato Dextrose Agar
Utilisation(s)	Agent solidifiant pour milieu de culture biologique réduit en sels et en portions de pigments	Milieux de culture pour les bactéries et champignons retrouvés dans les plantes et dans les matières végétales en cours de décomposition
Pesée en grammes pour 3 litres de milieu	16,5g	11,7g
Fournisseur(s)		

Les deux milieux sont mélangés avant stérilisation à l'autoclave. Juste avant de couler les milieux, l'ajout de streptomycine (0,3 g pour 3 L, fournisseur VWR) permet d'affiner la détection de *B. sorokiniana* en contrecarrant le développement des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les colonies de *B. sorokiniana* apparaissent sous forme de halos de couleur charbon, tel que montré à la figure 15.



Figure 15 Développement de *B. sorokiniana* dans un milieu Benlate

Pour la vérification de la contamination des grains et la certification de la présence de *B. sorokiniana*, il est nécessaire d'utiliser la loupe binoculaire (x160). La présence du champignon *B. sorokiniana* se reconnaît principalement par un regroupement plus dense de mycélium et de fructifications au niveau de la brosse (Figure 16).

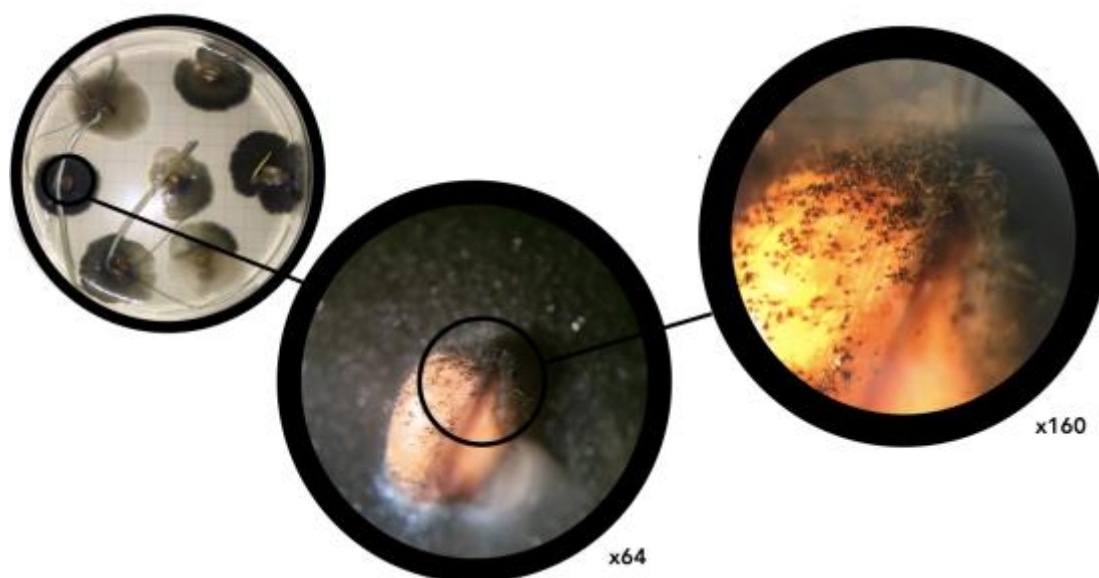


Figure 16 Présence de *B. sorokiniana* sur la brosse d'un grain de blé au binoculaire

2.2. Milieu de germination

Le milieu de germination se compose uniquement de boîtes de pétri, de papier Whatman (fournisseur : VWR) et d'eau distillée. Une feuille de papier Whatman n°1 est disposée au fond de la boîte et hydratée avec de l'eau distillée non standardisée sur le volume (le papier doit être humidifié de quelques gouttes d'eau distillée).

3. Traitements des grains

3.1. Préparation du dispositif expérimental

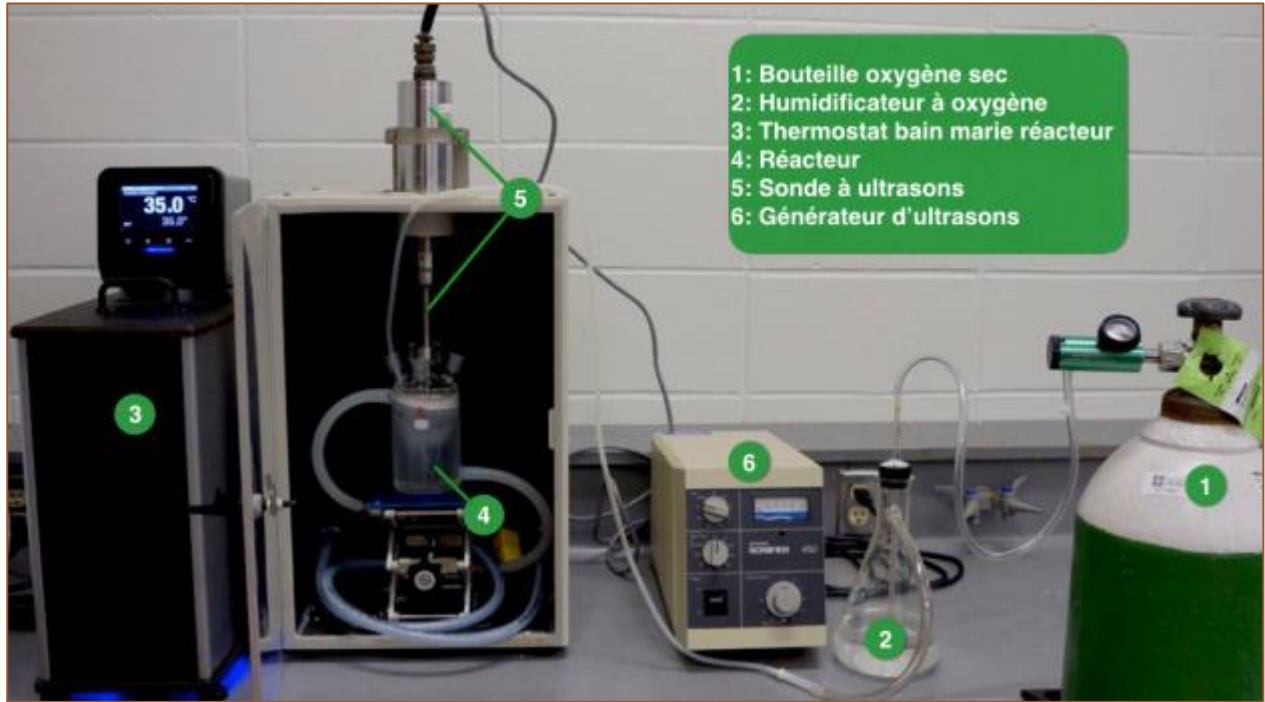


Figure 17 Dispositif expérimental pour traitement aux ultrasons - oxygène

Le dispositif présenté à la figure 17 a entièrement été adapté et monté par Pr. Belkacemi et visait à traiter les semences via le réacteur en (4). Le réacteur en question est maintenu à 35 °C de manière continue avec un mélange 50-50 d'eau et d'acylglycérol chauffé par le bain situé en (3). A été ajouté au dispositif, un générateur à ultrasons (6) où il était possible de faire varier la fréquence ainsi que l'intensité des ultrasons. Un dernier élément a été mis à disposition et est noté (1), correspondant à de l'oxygène sec médical. Du fait de son caractère sec, l'oxygène doit être humidifié dans un bain (eau ou éthanol) (2) afin de conserver son rôle oxydatif.

3.2. Les réacteurs

Différents réacteurs ont été utilisés afin de voir si l'efficacité dépend de la taille et de la forme du réacteur.

Trois tailles de réacteurs ont été testées, tel que montré à la figure 18.



Figure 18 Réacteurs de traitements des grains

Le réacteur noté (a) fait référence à la plus petite taille disponible, il a une forme conique dans la partie supérieure et cylindrique à sa base et peut contenir 10 g de grains. Le réacteur noté (b) est de taille intermédiaire, est de forme conique et permet d'y déposer 25 g de grains. Le dernier réacteur noté (c) est semblable à une cuve et possède une contenance de 100 g de grains.

3.3. Ultrasons

Les paramètres d'utilisation du réacteur à ultrasons peuvent être divers. Il est possible à la fois de modifier la fréquence des impulsions ultrasoniques, mais également la puissance des ultrasons. Afin de ne pas déstructurer la composition physiologique des grains, la puissance des ultrasons a été étalonnée entre 20 et 70 W. Les traitements aux ultrasons peuvent varier en termes de temps, ils seront détaillés dans les différentes expériences.

3.4. Oxygène

L'ajout d'oxygène se fait par le biais d'une bonbonne d'oxygène sous forme sèche. Il est donc nécessaire de l'hydrater avant de le faire rentrer dans le réacteur. Le débit peut être ajusté (de 0,5 L/min à 3 L/min) suivant les paramètres de traitement choisis.

3.5. Éthanol

L'éthanol utilisé est préparé en amont pour qu'il soit concentré à 70 %. À cette concentration, dans des études précédentes, l'éthanol s'est révélé efficace en termes de décontamination.

4. Mise en milieu

4.1. Milieux gélosés

Pour le milieu gélosé, quatre boîtes de pétri ont reçu huit grains et deux boîtes ont reçu neuf grains, ce qui fait un total de 50 grains par traitement par répétition (Figure 19).

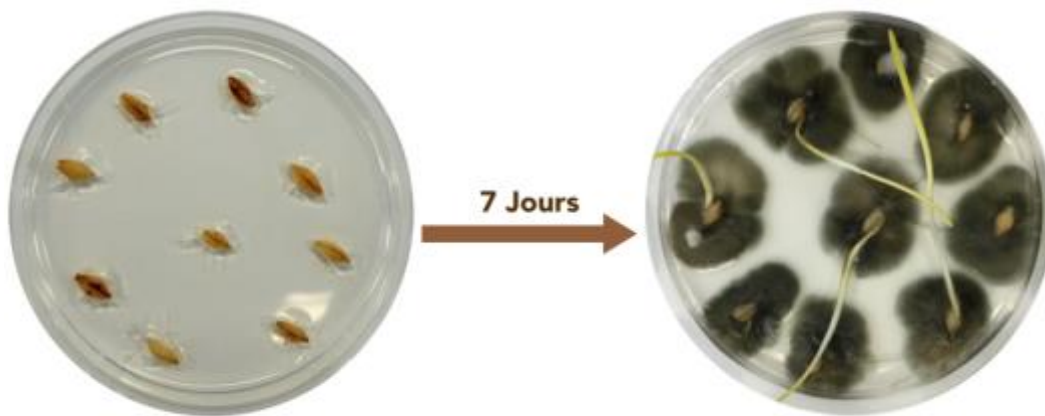


Figure 19 Exemple de disposition de grains de blé dans une boîte de pétri avec le milieu Benlate

4.2. Milieu de germination

À l'identique du milieu gélosé, d'autres grains ayant subi le même traitement sont placés dans des boîtes de pétri avec le papier Whatman. Pour chaque traitement et répétition, 50 grains ont été mis à germer dans cinq boîtes à raison de 10 grains par boîte (Figure 20).



Figure 20 Exemple de disposition de grains de blé dans une boîte de pétri avec papier Whatman

4.3. Paramètres de développement

Que ce soit pour le milieu gélosé (pour la contamination), ou pour le milieu de germination, l'ensemble des boîtes de pétri ont été placées à l'obscurité. Un arrosage à l'eau distillée a toutefois été effectué tous les 2 jours pour le milieu de germination afin d'assurer une bonne germination.

5. Dénombrements

5.1. Grains en milieu gélosé

Les grains contaminés sont les grains présentant un développement en tapis noir autour du grain. Les grains sont analysés sous la loupe binoculaire afin de confirmer la présence de *B. sorokiniana*, comme vu auparavant. Il faut être attentif à ne pas dénombrer une autre espèce de *Bipolaris*. Chaque grain dénombré comme contaminé par traitement fut comptabilisé sur 50 et l'ensemble rapporté sur 100. Ensuite, une moyenne a été faite pour les deux répétitions. Au cours du projet de recherche, deux types de dénombrements ont été utilisés.

5.1.1 Dénombrement absence/présence

Initialement le dénombrement des grains fut strictement fait par le simple constat à la loupe binoculaire par l'absence (a) ou la présence (b) de *B. sorokiniana* en surface du grain et par la présence d'un halo noir autour du grain sur la gélose (Figure 21).

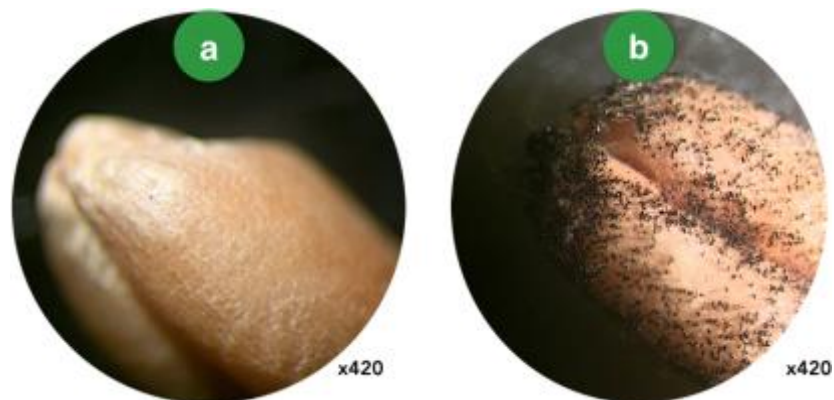


Figure 21 Dénombrement de *B. sorokiniana* par absence/présence

5.1.2 Dénombrement par échelle

Au cours du projet, une deuxième méthode d'évaluation a été considérée afin d'étudier la sensibilité réelle de l'action du traitement sur la réduction de *B. sorokiniana* sur les grains.

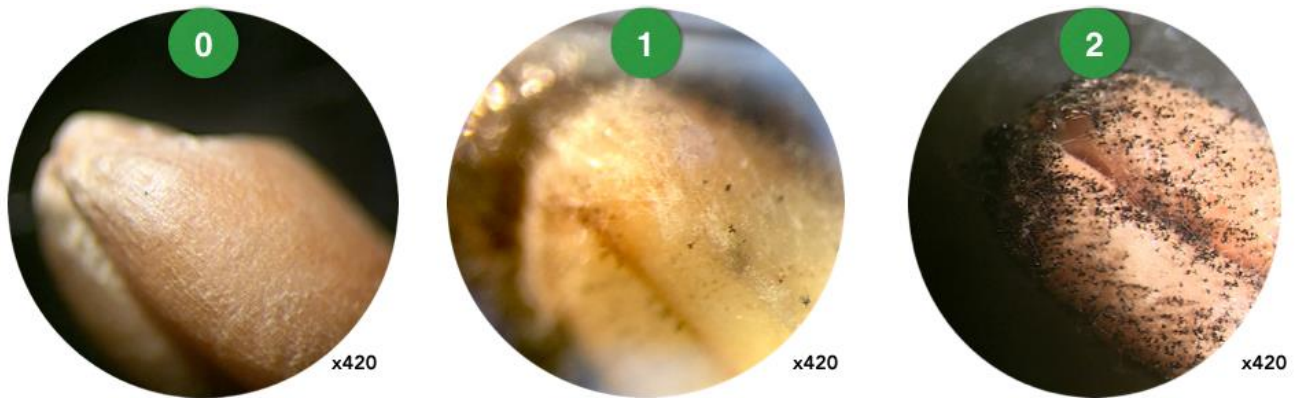


Figure 22 Dénombrement de *B. sorokiniana* selon une échelle de 0 à 2

Dans cette échelle, trois intensités étaient considérées (Figure 22) :

- La classe 0 ou aucune trace de *B. sorokiniana* n'est observée sur la surface du grain.
- La classe 1 présente quelques traces de *B. sorokiniana* mais une vérification avec un grossissement supplémentaire est nécessaire pour bien observer la contamination.
- La classe 2 correspond à la plus forte concentration (environ 80 % de la surface du grain, voir Figure 21) de *B. sorokiniana* en surface du grain.

5.2. Grains en milieu de germination

Pour considérer un grain germé, la plantule (tige qui sort de la graine) devait être égale ou dépasser la taille de la graine (Figure 23).

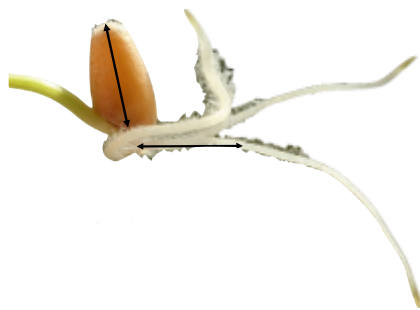


Figure 23 Règle de validation de germination d'un grain de blé

À l'identique du dénombrement des grains contaminés, les grains « correctement » germés sont comptabilisés et le total représente l'ensemble des grains germés en pourcentage.

5.3. Pourcentages de germination et de contamination en *B. sorokiniana*

Pour vérifier l'efficacité des traitements sur la germination et la contamination, nous nous sommes basés sur des seuils existants.

Au Canada, une semence certifiée n°1 doit avoir un minimum de 85 % de germination (Agence canadienne d'inspection des aliments, 2012). Une semence certifiée n°2 doit germer à au moins 75 %. Pour la contamination par *B. sorokiniana*, plusieurs seuils pouvaient être choisis. Nous avons choisi 30 % comme seuil maximal de contamination par ce champignon pathogène, seuil maximal recommandé au Danemark pour utilisation de semences en production de blé et d'orge biologique (Nielsen, 2000). Ces seuils ont été les références permettant d'accepter ou non l'efficacité d'un traitement après analyse des données.

5.4. Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée à l'aide de la procédure MIXED de SAS (SAS Institute, 2003). L'analyse des données a été effectuée séparément pour chacune des expériences. Les répétitions ont été considérées comme des effets aléatoires alors que les traitements ont été considérés comme des effets fixes. La normalité des données a été vérifiée à l'aide de la procédure UNIVARIATE et l'homogénéité de la variance avec l'analyse graphique des résidus. Aucune donnée n'a nécessité de transformation. Pour évaluer les différences entre les moyennes, le test du LSD protégé de Fisher a été utilisé. Le seuil de signification a été fixé à $P \leq 0,05$ et $P \leq 0,10$ selon les expériences.

Détails des expériences menées

Expérience 1 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol

Dans l'expérience 1, les grains à l'étude provenaient d'un lot du cultivar de blé Walton. Ils ont été placés dans la petite cuve (10 g). L'ensemble des grains baignait dans 60 mL d'éthanol à 70 %. Par le biais d'un tuyau, de l'oxygène chargé en eau distillée a été administré en bullage direct dans le réacteur. Pour les ultrasons, une gamme de 20 à 50 W (20, 30, 40 et 50 W) a été envoyée sur les grains. Les différentes combinaisons de traitements de cette expérience sont présentées ci-dessous :

Tableau 5 Détails des traitements de l'expérience 1

	Ultrasons	Oxygène	Bain des grains	Durée
T	/	/	/	/
OxH₂O/Eth	/	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
20W/Eth	20W	/	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
OxH₂O/20W/Eth	20W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
30W/Eth	30W	/	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
OxH₂O/30W/Eth	30W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
40W/Eth	40W	/	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
OxH₂O/40W/Eth	40W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
50W/Eth	50W	/	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
OxH₂O/50W/Eth	50W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute

Expérience 2 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ou dans l'eau distillée

Pour cette expérience, deux essais ont été menés. Le petit réacteur (10 g) a été utilisé avec le même lot de blé Walton. Dans le premier essai, nous voulions comparer l'effet, sur la germination et la contamination des grains, de l'oxygène humidifiée lorsque les grains trempaient dans de l'éthanol 70 % ou dans de l'eau distillée (Tableau 6). Dans le deuxième essai, nous voulions tester différentes intensités d'ultrasons (20 à 70 W) sur des grains trempant dans de l'eau distillée (60 mL) (Tableau 7).

Tableau 6 Détails des traitements de l'expérience 2.1

	Ultrasons	Oxygène	Bain des grains	Durée
T	/	/	/	/
OxH₂O/Eth	/	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Éthanol 70%	1 minute
OxH₂O/Eau	/	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans Eau distillée	1 minute

Tableau 7 Détails des traitements de l'expérience 2.2

	Ultrasons	Oxygène	Bain des grains	Durée
T	/	/	/	/
OxH₂O/H₂O	/	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
20W/H₂O	20W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
30W/H₂O	30W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
40W/H₂O	40W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
50W/H₂O	50W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
60W/H₂O	60W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
70W/H₂O	70W	/	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/20W/H₂O	20W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/30W/H₂O	30W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/40W/H₂O	40W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/50W/H₂O	50W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/60W/H₂O	60W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute
OxH₂O/70W/H₂O	70W	0,5L/min - bullage dans l'eau distillée	Grains dans eau distillée	1 minute

Expérience 3 : Traitements sur grains secs

Expérience 3.1: Orge à sec

Dans cette partie, nous avons utilisé des grains d'un lot d'orge du cultivar Bentley. Dans cette expérience les traitements ont été appliqués sur des grains secs. Vingt-cinq grammes de grains ont été déposés dans la moyenne cuve. L'oxygène a été mis en bullage dans l'éthanol à 70 % à la place de l'eau distillée et le débit a été augmenté à 3 L par minute. Les ultrasons ont été appliqués à raison de 30 W. Différents temps d'exposition ont été appliqués, soit sur les traitements d'oxygène mis en bullage dans l'éthanol à 70 % (10 min), soit sur les traitements ultrasons (1 minute) ou les traitements oxygène et ultrasons combinés (10 et 20 min) (Tableau 8).

Tableau 8 Détails des traitements réalisés dans l'expérience 3.1

	Ultrasons	Oxygène	Bain des grains	Durée
T	/	/	/	/
30W/1m	30W	/	/	1 minute
OxEth3L/10m	/	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	10 minutes
OxEth3L/30W/10m	30W	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	5 minutes
OxEth3L/30W/20m	30W	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	20 minutes

Expérience 3.2 : Blé à sec

Pour cette expérience, nous avons utilisé des grains du lot de blé Snowbird qui ont été déposés dans la grosse cuve de 100 g. Les traitements d'ultrasons (30 W) et d'oxygène éthanolé ont été appliqués indépendamment selon différents temps (1, 5 et 10 min), puis combinés avec les mêmes temps d'exposition (Tableau 9).

Tableau 9 Détails des traitements réalisés dans l'expérience 3.2

	Ultrasons	Oxygène	Bain des grains	Durée
T	/	/	/	/
30W/1m	30W	/	/	1 minute
30W/5m	30W	/	/	5 minutes
30W/10m	30W	/	/	10 minutes
OxEth3L/1m	/	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	1 minute
OxEth3L/5m	/	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	5 minutes
OxEth3L/10m	/	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	10 minutes
OxEth3L/30W/1m	30W	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	1 minute
OxEth3L/30W/5m	30W	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	5 minutes
OxEth3L/30W/10m	30W	3L/min - bullage dans Éthanol 70%	/	10 minutes

Résultats et discussions

Les résultats du projet de recherche sont présentés selon la chronologie des expériences décrites dans la méthodologie.

Expérience 1 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol

Pour cette expérience, les grains de blé du traitement témoin ont montré une très bonne germination (90 %) et un niveau de contamination par *B. sorokiniana* de 60 % (Figure 24). Le traitement des grains à l'éthanol à 70 % (Eth), a été très efficace, permettant de réduire significativement la contamination à moins de 5 % satisfaisant ainsi à la valeur seuil de 30 % (maximum de contamination). Malgré cette décontamination efficace, le contact des grains avec l'éthanol à 70 % a affecté drastiquement la germination. En effet, le taux de germination est passé significativement sous la barre de 10 % de grains germés, ne satisfaisant donc pas le critère de germination souhaité de 85 % de germination.

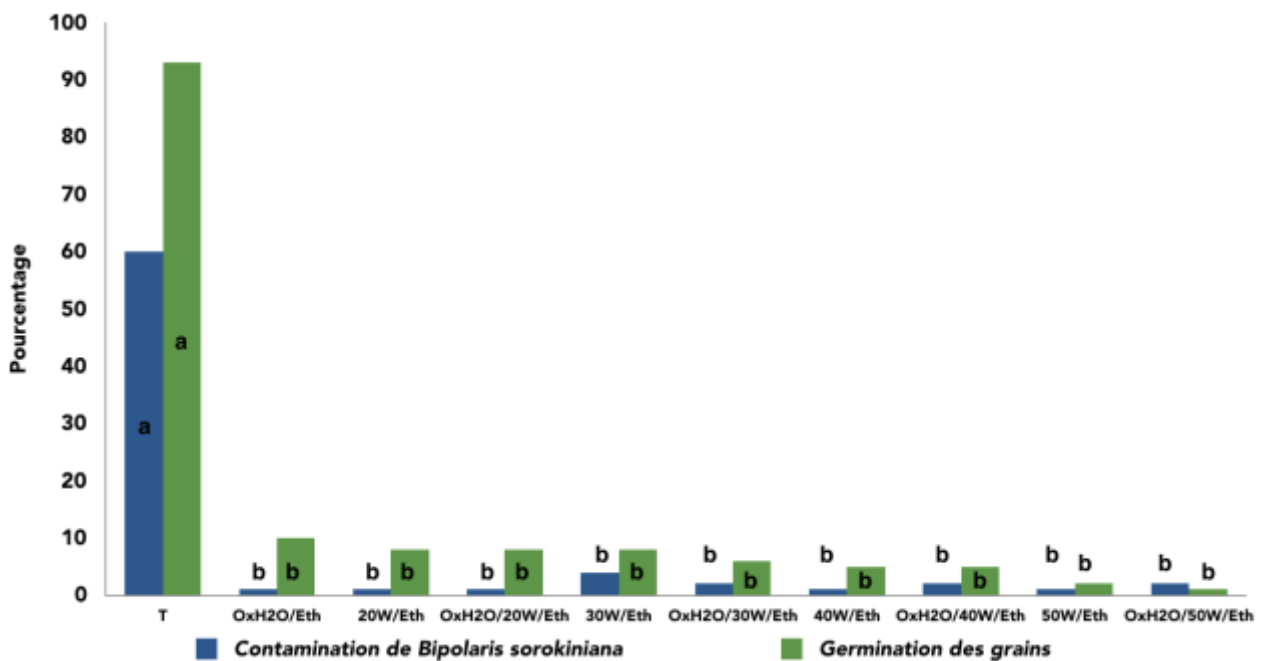


Figure 24 Pourcentages de contamination (*B.sorokiniana*) et de germination des grains de blé selon différents traitements d'éthanol (Eth), d'oxygène chargée en eau distillée (OxH2O) et d'ultrasons (20 à 50 W)

Pour chaque variable, les moyennes présentant une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P \leq 0,05$

En raison de l'effet sévère de l'éthanol 70 % sur la germination des grains, le liquide de trempage des grains a été remplacé. Au lieu de l'éthanol, de l'eau distillée a été placée dans les cuves avec les grains, conservant ainsi l'application des traitements aux ultrasons et à l'oxygène se diffusant dans un liquide.

Expérience 2 : Traitements à l'oxygène et aux ultrasons avec trempage des grains dans l'éthanol ou dans l'eau distillée

Dans ce premier essai, une comparaison de traitements a été faite entre une mise en suspension de grains de blé dans de l'éthanol ou dans de l'eau distillée.

Le traitement oxydatif avec grains trempant dans de l'eau distillée a permis de maintenir le taux de germination à 93 % (équivalent au témoin) mais n'a pas permis de décontaminer le grain, le pourcentage de contamination n'étant pas significativement différent de celui du témoin (Figure 25).

Au contraire, le même traitement appliqué sur des grains trempant dans de l'éthanol a réduit le niveau de contamination à 1 %, mais a aussi diminué fortement le pourcentage de germination des grains (10 %). Étant donné ces résultats, nous avons choisi d'utiliser de l'eau distillée pour suspendre les grains plutôt que de l'éthanol 70 % et d'approfondir les combinaisons possibles avec les ultrasons.

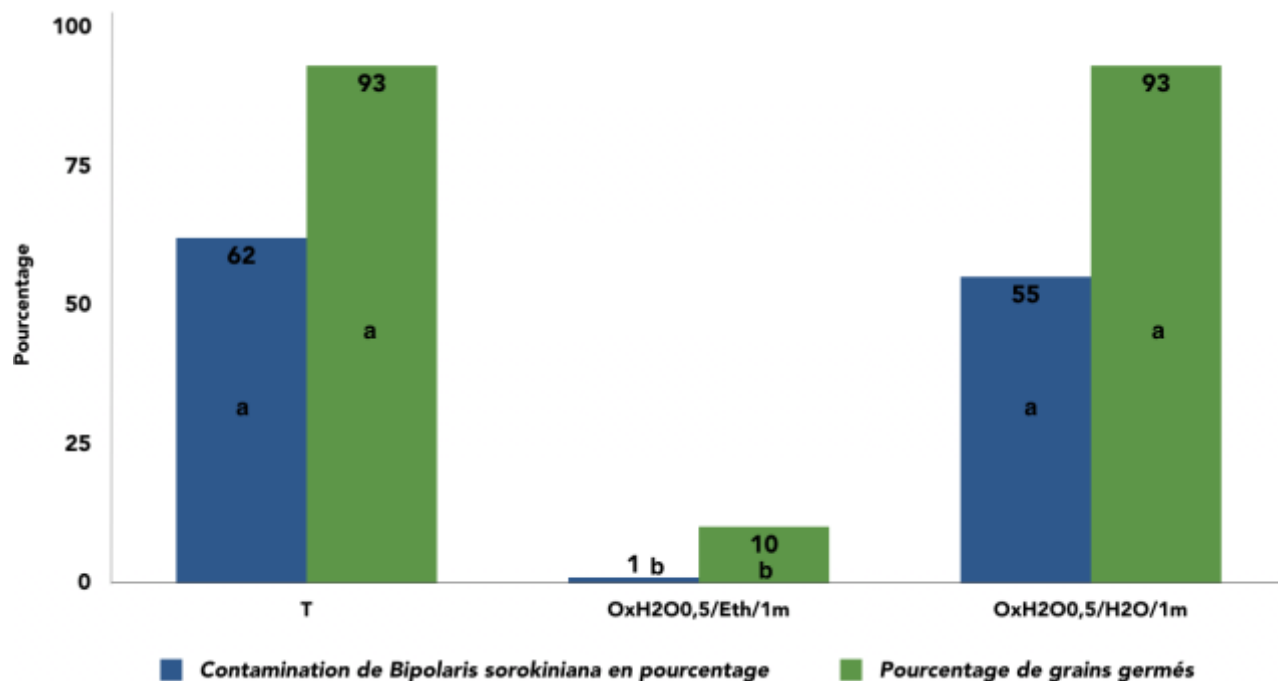


Figure 25 Pourcentages de contamination (*B. sorokiniana*) et de germination de grains de blé trempant dans de l'éthanol (Eth) ou de l'eau distillée (H₂O) et traités à l'oxygène chargé en eau distillée (OxH₂O)

Pour chaque variable (contamination et germination), les lettres identiques ne présentent pas de différence significative à $P \leq 0,05$.

En analysant les résultats du tableau 10, on s'aperçoit que dans l'ensemble le taux de contamination par *B. sorokiniana* était relativement homogène. En moyenne, les grains traités étaient contaminés à hauteur de 57 % comparativement au témoin qui était contaminé à 65 %. Pour la germination, tous les traitements ont conservé une bonne germination, la moyenne pour l'ensemble des traitements a été de 95 %. Bien que l'analyse statistique n'a révélé qu'une tendance ($P=0,103$) pour le pourcentage de contamination, le traitement combinant l'oxygène chargé en eau distillée et l'utilisation d'ultrasons à hauteur de 30 W a permis de réduire le pourcentage de contamination à 48 % et a obtenu une germination de 98 % (Tableau 10).

Tableau 10 Pourcentages de contamination (*B. sorokiniana*) et de germination de grains de blé trempant dans de l'eau distillée et soumis à différents traitements d'oxygène chargée en eau distillée (OxH₂O) et d'ultrasons (20 à 70 W)

Pour la variable contamination, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil $P \leq 0,10$, pour la variable germination, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil à $P \leq 0,05$.

	Contamination	Germination
T	65 a	92 c
OxH₂O/H₂O	64 ab	95 abc
20W/H₂O	54 abcde	96 abc
30W/H₂O	62 abcd	100 a
40W/H₂O	53 bcde	95 abc
50W/H₂O	63 abc	96 abc
60W/H₂O	58 abcde	94 bc
70W/H₂O	52 cde	93 bc
OxH₂O/20W/H₂O	55 abcde	93 bc
OxH₂O/30W/H₂O	48 e	98 ab
OxH₂O/40W/H₂O	51 de	98 ab
OxH₂O/50W/H₂O	57 abcde	94 bc
OxH₂O/60W/H₂O	60 abcd	98 ab
OxH₂O/70W/H₂O	58 abcde	91 c
Effet traitement	0,103	0,095

Du point de vue de la germination, le seuil désiré de 85 % est nettement dépassé puisque ce traitement a permis d'améliorer la germination à 98 %, soit un taux plus élevé que le témoin ($P=0,090$). Pour ce qui est de la contamination, ce traitement n'a pas été suffisamment efficace pour réduire cette variable sous le seuil maximal désiré de 30 %. Nous avons donc voulu essayer des traitements plus sévères pour les champignons présents en surface des grains.

Expériences 3 : Traitements sur grains secs

3.1 Orge à sec

À cette étape, il est important de nuancer que les traitements sont faits sur des grains d'orge.

Afin de rendre le traitement plus sévère, il était important de se souvenir du caractère efficient de l'éthanol au début du projet de l'éthanol à 70 %. Certes, en contact direct, l'éthanol avait un effet néfaste puisqu'il diminuait le pourcentage de germination.

Une autre expérience a été effectuée sur des grains d'orge à l'état sec. Cette fois-ci, les grains n'étaient pas en suspension dans de l'eau distillée, et de l'oxygène chargé en éthanol à 70 % par bullage a été envoyé sur les grains. Il est également important de signaler que le débit d'oxygène éthanolé a été augmenté à 3 L/min étant donné la quantité de grains plus élevée (100 g) contenue dans la grosse cuve utilisée pour cette expérience.

Du point de vue des ultrasons, c'est le traitement à 30 W qui a été retenu, compte tenu de la tendance observée dans les expériences précédentes dans la réduction de la contamination par rapport au témoin.

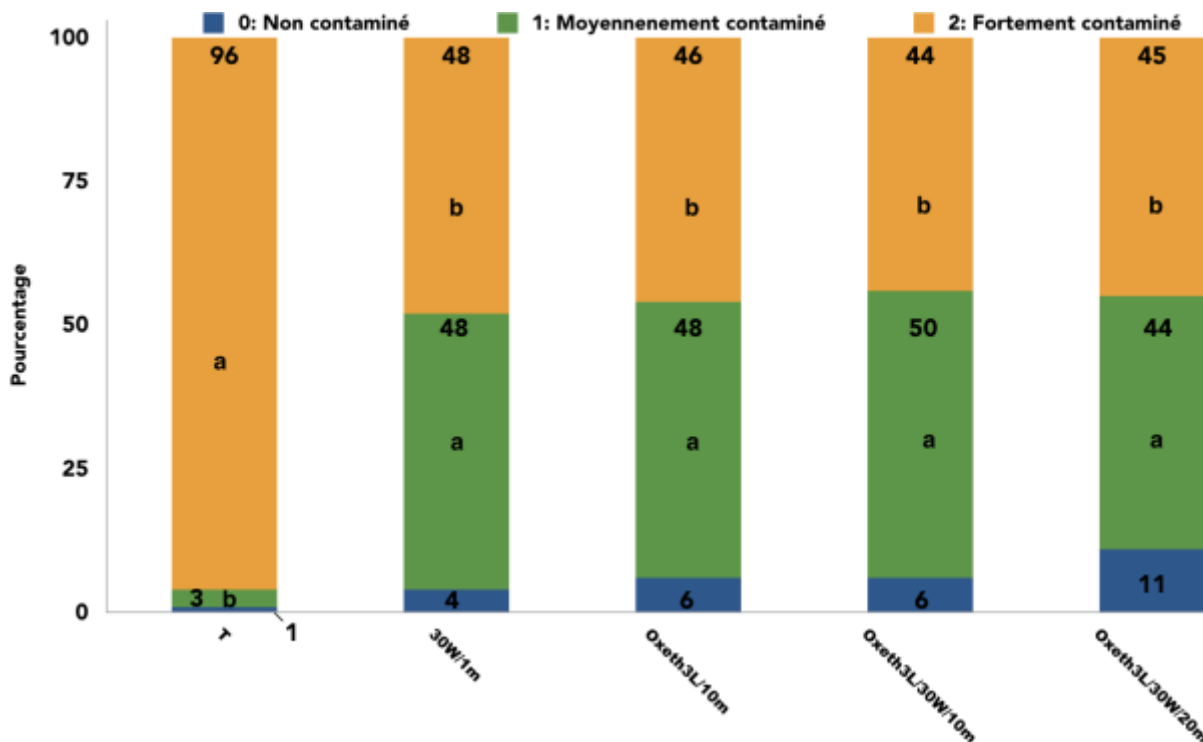


Figure 26 Pourcentage de contamination des grains d'orge par *B. sorokiniana* selon des traitements d'oxygène éthanolé (Oxeth) et d'ultrasons (30 W) selon différents temps

Pour les variables moyennement contaminé et fortement contaminé, les lettres identiques ne présentent pas de différence significative à $P=0,05$.

Par rapport au témoin contaminé à 99 % (96 % de fortement contaminé + 3 % de moyennement contaminé), tous les traitements ont réduit significativement la quantité de grains fortement contaminés (classe 2) d'environ 48 % mais ont augmenté la proportion de grains moyennement contaminés (classe 1) (Figure 26). Il n'est pas possible de distinguer un traitement plus efficace que les autres bien que le traitement Oxeth3L/30W/20m démontre une proportion de grains non contaminés numériquement plus élevée.

Si les résultats de cette expérience avaient été rapportés selon l'échelle précédente (contaminé ou non), aucun effet des traitements n'aurait pu être observé. Du point de vue de la germination, il n'y a pas eu de différences observées entre les grains du traitement témoin et ceux ayant subi les traitements oxydatifs et aux ultrasons, le pourcentage de germination a été maintenu à 93 % pour l'ensemble des traitements (résultats non présentés).

3.2 Blé à sec

Cette expérience a été réalisée avec un lot du cultivar Snowbird, soit un cultivar différent de celui des premiers essais sur les grains de blé qui était Walton. Le dispositif faisait intervenir des traitements d'ultrasons (30 W) et d'oxygène éthanolé appliqués indépendamment ou combinés selon différents temps (1, 5 et 10 min).

Le traitement témoin présentait 27 % de grains fortement contaminés (classe 2), 21 % de grains moyennement contaminés (classe 1) et 52 % de grains non contaminés (classe 0) (Figure 27). Pour l'ensemble des traitements faisant varier les paramètres à l'étude (ultrasons, oxygène éthanolé ainsi que la combinaison des deux) et le temps, aucune différence significative n'a été observée entre eux pour ce qui est de la contamination. En effet, tous les traitements ont augmenté le pourcentage de grains non contaminés à un même niveau (moyenne de 80 %).

Les traitements ont donc tous une efficacité significativement identique en termes de réduction de la contamination en *B. sorokiniana* (passage sous le seuil désiré de 30 %) ainsi qu'un maintien de la germination (supérieure au seuil de 85 %).

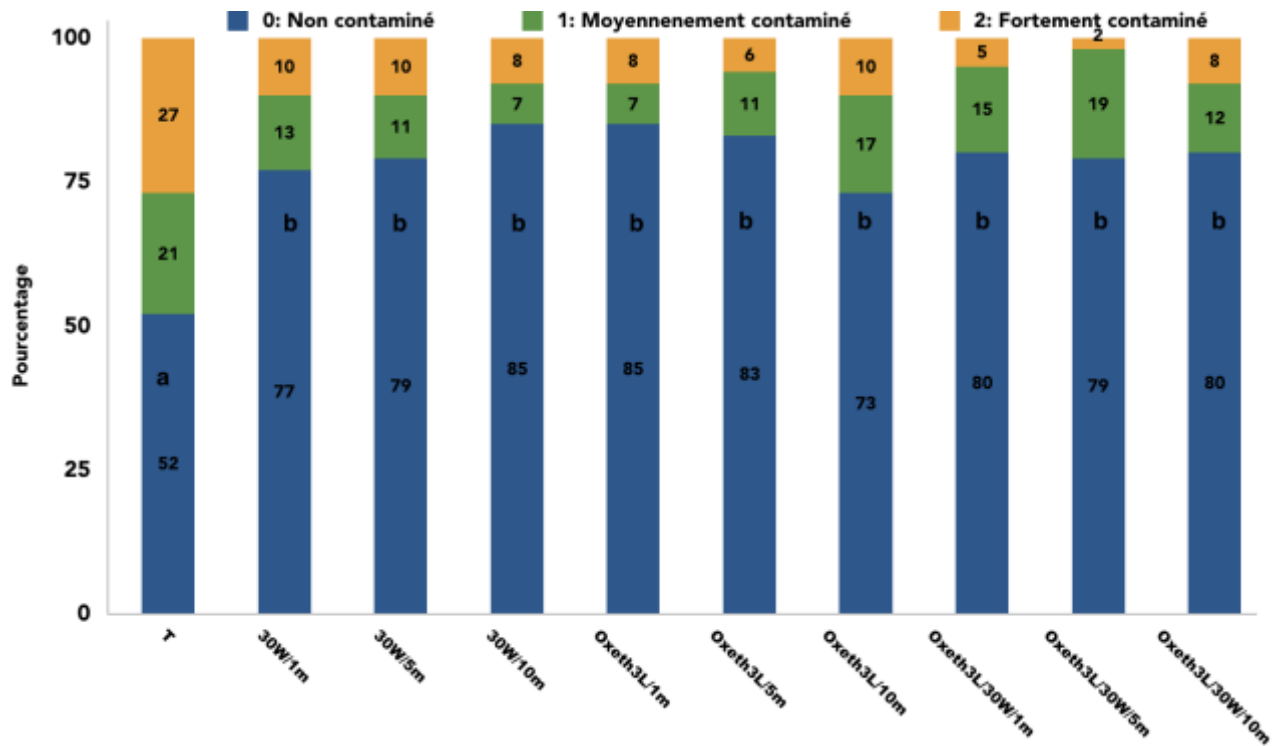


Figure 27 Pourcentages de contamination des grains de blé par *B. Sorokiniana* selon des traitements d'oxygène éthanolée (Oxeth) et d'ultrasons (30 W) selon différents temps

Pour la variable non contaminé, les lettres identiques ne présentent pas de différence significative à $P=0,05$.

Les traitements présentant un maintien de la germination et une réduction significative de la contamination en *B. sorokiniana*, ont combiné différents traitements étudiés antérieurement (Neched, 2015 ; Ouyed, 2015).

Dans ses travaux, Neched (2015) qui a utilisé de l'oxygène pour traiter des grains de blé, a observé une diminution d'environ 48 % de la contamination initiale des grains sans effet négatif sur la germination avec un traitement de 60 min. Les résultats de Ouyed, 2015 ont montré que l'éthanol permettait de réduire la contamination des grains de blé par *B. sorokiniana* (réduction de 58 points de pourcentage, soit de 86 à 28 %) lorsque les grains trempaient dans de l'éthanol 70 %. Par contre, elle a observé un effet fortement négatif sur la germination. Un des traitements que nous avons utilisé dans nos travaux et qui s'est avéré efficace faisait intervenir de l'oxygène chargé en éthanol au débit de 3 L/min pendant 1 min. Ce traitement combinait donc l'ensemble de ces recherches antérieures qui a permis de réduire la contamination des grains d'un lot de blé de 48 % à 15 %.

Neched (2015), qui avait utilisé le même type de gaz (oxygène médical sec humidifié), a observé des résultats intéressants avec un traitement de 60 min appliqué sur 50 grains. Lors de nos travaux, grâce aux traitements développés dans la plus grosse cuve à l'aide d'ultrasons et d'oxygène éthanolé, une plus grosse quantité de grains (100 g de grains) a pu être traitée et dans un temps beaucoup plus court (1 min pour les ultrasons et 1 min pour l'oxygène éthanolé).

Une remarque finale concerne la plus faible efficacité des traitements aux ultrasons et à l'oxygène éthanolé sur les grains d'orge par rapport aux grains de blé. En effet, cela peut s'expliquer par la morphologie des grains. Chez le blé, le grain est nu alors que chez l'orge, le grain est vêtu, c'est-à-dire entouré par une enveloppe composée de glumes et glumelles. Ainsi, le champignon *B. sorokiniana* dissimulé dans les nombreuses cavités n'a pu être totalement touché par les traitements.

Discussion générale et conclusions

L'objectif principal de ce projet de recherche était d'établir les paramètres optimaux (puissance des ultrasons, éthanol (présence ou absence), débit d'oxygène et le temps de traitement) afin de réduire la contamination par *B. sorokiniana* de grains de blé et d'orge sous un seuil de 30 % et de maintenir un taux minimal de germination de 85 %.

Durant ce projet, plusieurs paramètres ont été à l'étude, différentes intensités d'ultrasons (de 20 W à 70 W), de l'éthanol dilué à 70 % sous forme de bain ou pour charger l'oxygène sec (3 L/min) et de l'eau distillée pour mettre les grains en suspension ou également humidifier l'oxygène (0,5 L/min). Parallèlement à cela, différentes cuves de différentes contenances ont permis de faire varier l'échelle des traitements pour décontaminer les grains.

Afin d'atteindre l'objectif principal de l'étude, plusieurs essais ont été réalisés en adoptant une démarche de recherche exploratoire. En accord avec le directeur de recherche, le projet a été développé dans une ligne directrice en vérifiant la sensibilité des traitements vis-à-vis de la réduction de la contamination et du maintien de la germination des grains par rapport à la sensibilité des paramètres utilisés.

Dans un premier temps, la contamination des grains par *B. sorokiniana* devait respecter le seuil de 30 % recommandé au Danemark pour l'utilisation de semences pour la production de grains biologiques. Dans un second temps, la germination des grains, élément clef de l'étude, devait être également vérifiée pour garantir une germination minimum de 85 % pour le lot de grains traités.

La sélection des paramètres optimaux de réduction de la contamination a été effectuée par l'ensemble des expériences valorisant finalement soit l'utilisation des ultrasons, l'utilisation de l'oxygène médical chargé en éthanol dilué à 70 % ou bien la combinaison des deux. Dans les trois cas, les grains étaient présents dans la cuve de traitement sous forme sèche. Les traitements ont permis de réduire significativement la contamination en *B. sorokiniana* (15 %) initialement de 48 %, faisant ainsi passer la contamination sous la barre des 30 %. Tous les traitements ont maintenu une germination autour de 97 %, taux supérieur au seuil souhaité (85 %) pour certifier que le lot germe correctement. Ce maintien de la germination révèle une réelle avancée comparativement aux expériences antérieures où, bien que la contamination fût réduite, la

germination s'est avérée réduite également.

Comparativement aux résultats satisfaisants observés sur le blé, les mêmes types de traitements appliqués aux grains d'orge ne se sont pas avérés suffisamment efficaces pour décontaminer la surface des grains. Dans la même cuve, les traitements n'ont pas eu l'effet escompté sur la réduction de la contamination par *B. sorokiniana*. Si les résultats avaient été basés sur l'échelle prenant compte de l'absence ou présence de *B. sorokiniana*, les grains d'orge auraient présenté les mêmes taux de contamination (96 %) pour les grains ayant subi les deux traitements séparément et le lot témoin. Grâce à l'échelle utilisant des catégories permettant une nuance de la contamination de surface des grains, les grains fortement contaminés (catégorie 2) furent dénombrés à hauteur de 96 % pour le témoin et à hauteur de 46 % en moyenne pour les traitements aux ultrasons 30 W, à l'oxygène éthanolé 3L/min ou la combinaison des deux. Élément important de ces traitements, la germination n'a pas été affectée assurant 93 % des grains germés dans les différents traitements.

Les études antérieures d'autres équipes de recherche ont valorisé d'autres traitements physiques, biologiques ou bien avec des substances naturelles. Pour les traitements physiques, Nielsen (2000) a mis en avant des traitements efficaces, mais de nombreuses étapes relativement fastidieuses ont été nécessaires pour réduire la contamination de la carie commune. En effet un enchaînement de traitements d'eau chaude à 55 °C pendant 3 min, suivis d'un séchage, d'un pansement à la farine de moutarde et d'un pansement d'acide acétique ont dû être effectués pour avoir une réduction significative de la maladie en surface de l'orge. A contrario les traitements développés dans la présente étude nécessitaient très peu de manipulation des grains. Il n'y avait qu'une seule étape de traitement.

Un traitement physique développé par Forsberg (2004) utilise de l'air chaud humide, qui a démontré son efficacité seulement sur certains lots de semences, majoritairement le blé. Or ce genre de traitements à la chaleur utilise une technologie très coûteuse sur le simple fait de l'utilisation de l'air chaud. Il faudrait faire une estimation du prix potentiel du traitement au kilogramme entre cette technique et celle développée dans le cadre de nos travaux.

Pour les traitements de type biologique développé par Bressan (2003), le traitement utilisant des souches *Streptomyces* s'est avéré efficace pour réduire *Fusarium* spp. en surface des grains de maïs. Il serait intéressant de vérifier si les traitements développés lors de nos travaux s'appliquent

à des champignons pathogènes autres que *B. sorokiniana*.

Pour les traitements faisant intervenir des substances naturelles, Pusalatha *et al.* (2007) faisaient intervenir des vitamines pour réduire les mycoses dans le millet perlé. Au contact de ces vitamines, la germination a augmenté de 5 % après 6 h de traitement. En comparaison avec ces résultats, les traitements testés par notre équipe sur les grains de blé se sont avérés efficaces pour conserver la germination et réduire la contamination en un temps d'une seule minute, que ce soit avec les ultrasons ou l'oxygène chargé en éthanol.

À notre connaissance, les présents travaux sont les premiers à avoir testé des traitements de semences conjuguant des ultrasons ou de l'oxygène chargé en éthanol. Cette approche innovante a également le net avantage d'être efficace sur des grains secs, ce qui permet de gagner une étape considérable pour le séchage exigé dans le cas où les grains étaient placés en suspension.

Étant donné qu'il s'agit de traitements novateurs, certains aspects doivent être vérifiés. Tout d'abord, traiter des grains comme le blé et l'orge avec des techniques comme les ultrasons ou de l'oxygène chargé en éthanol nécessite d'examiner les répercussions des traitements sur les grains au point de vue physiologique. Il faudrait s'intéresser à la comparaison de la germination entre un grain sain (non contaminé) et un grain contaminé traité avec un des traitements sélectionnés. Pour cela, une approche se basant sur la microcalorimétrie consisterait à étudier les prémisses de la germination, en étudiant scrupuleusement les variations d'énergies provoquées aux premiers moments de la germination. Cela pourrait confirmer la démarche des traitements retenus, si les énergies enregistrées sont semblables entre un témoin sain et les traitements choisis. Il serait également nécessaire de vérifier ces techniques de traitement sur plusieurs lots pour mesurer leur fréquence d'efficacité en termes de lots. Il faudrait également vérifier le développement de la plantule au-delà de la germination. En effet, d'un point de vue qualitatif, les grains présentent une germination satisfaisante sur 7 jours, mais on ignore leur comportement sur une période plus longue. Une étude sur une plus longue période en cabinets de croissance, en serres ou en champ serait pertinente.

D'un point de vue industriel, il serait intéressant de voir les horizons possibles de tels traitements et de leur rentabilité. D'une part, un traitement visant à utiliser l'oxygène médical chargé en éthanol devra se faire par le biais d'un approvisionnement continu d'oxygène ainsi que d'éthanol, rendant

le prix global peu expansif pour un traitement, mais pour plusieurs salves de traitements, cela demeure relativement onéreux et important en termes de main d'œuvre. D'autre part, un traitement visant à utiliser les ultrasons nécessiterait obligatoirement l'achat du dispositif permettant ce traitement à un prix forcément élevé, mais peut-être plus rentable à long terme. En effet, cette démarche pourrait s'inscrire dans le cas d'une coopérative de production de semences biologiques divisant ainsi le prix initial du dispositif. Une mise en garde reste tout de même à faire, il s'agit de vérifier la mise à l'échelle du dispositif (actuellement 100 grammes de grains à chaque traitement) sur des quantités plus importantes de grains traités.

Bibliographie

Articles et livres de référence et sites web

- Agence Canadienne d'inspection des aliments. (2012). Canadian methods and procedures for testing seed. Retrieved from https://www.npss.sk.ca/docs/2_pdf/Canadian_Methods_and_Procedures_for_Testing_Seed.pdf
- Bailey, K.L., Couture, L., Gossen, B.D., Gugel, R.K., & Morral., R.R.A. (2004). Maladies des grandes cultures au Canada. La société Canadienne de phytopathologie. ISBN 0-9691627-7-4.
- Batura, A., Łukanowski, A., & Kuś, J. (2004). Comparison of health status of winter wheat and spring barley grain cultivated in organic, integrated and conventional systems and monoculture. In Proceedings of the First World Conference on Organic Seed" Challenges and Opportunities for Organic Agriculture and the Seed Industry". 128-132.
- Borgen, A., & Nielsen, B. (2001). Effect of seed treatment with acetic acid in control of seed borne diseases. In Proceedings of the BCPC Symposium No. 76: "Seed Treatment: Challenges & Opportunities" (Vol. 76). Birmingham; Published in Bidle, A.J., Eds.
- Borgen, A., & Kristensen, L. (2001). Effect of seed treatment with milk powder and mustard flour in control of common bunt (*Tilletia tritici*) in wheat and stem smut (*Urocystis occulta*) in rye. In Proceedings from BCPC Symposium No. 76: "Seed Treatment: Challenges & Opportunities". (Vol. 76). Birmingham; Published in Bidle, A.J., Eds.
- Bressan, W. (2003). Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. *Biocontrol*, 48(2), 233-240.
- Chemat, F., Huma, Z.E. & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics sonochemistry*, 18(4), 813-835.
- Clear, R. M., Patrick, S. K., Wallis, R., & Turkington, T. K. (2002). Effect of dry heat treatment on seed-borne *Fusarium graminearum* and other cereal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(4), 489-498.

- Harway, E. N., & Loomis, A. L. (1929). The destruction of luminous bacteria by high frequency sound waves. *Journal of Bacteriology*, 17(5), 373-379.
- FAOSTAT. (2014). Retrieved April 21, 2017, from <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>
- FAOSTAT. (2015). Retrieved April 21, 2017, from <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>
- FAOSTAT. (2016). Retrieved April 21, 2017, from <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>
- Fetner, R. H., & Ingols, R. S. (1956). A comparison of the bactericidal activity of ozone and chlorine against *Escherichia coli* at 1. *Microbiology*, 15(2), 381-385.
- Foegeding, P. M. (1985). Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of the spore coat to resistance. *Food Microbiology*, 2(2), 123-134.
- Forsberg, G. (2004). Control of cereal seed-borne diseases by hot humid air seed treatment (Vol. 443).
- Ishizaki, K., Shinriki, N., & Matsuyama, H. (1986). Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *Journal of applied microbiology*, 60(1), 67-72.
- MAPAQ. (2010). Fongicides homologués pour le traitement des semences du blé - Agriculture, Pêcheries et Alimentation - Québec. Retrieved February 3, 2017, from <https://www.agrireseau.net/references/21/GC/Blé2010.pdf>
- McDougall. (2010). Information sur les marchés agricoles et alimentaires - Canada. Retrieved March 18, 2017, from <http://www.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/information-sur-les-marches-etrangers-par-region/canada/?id=1410083148448>
- Neched, H. (2015). Étude comparative des traitements de semences sans fongicide chez les céréales à l'aide de l'ozone et de l'oxygène pur. Thèse de Maitrise, Université Laval.
- Nielsen, B. J. (2000). Threshold values for seed borne diseases of cereals and legumes. *Organic Seed Production and Plant Breeding—strategies, problems and perspectives—*, 28.
- Ouyed (2015). Rapport d'avancement remis au MAPAQ sous la direction du Pr Khaled Belkacemi
- Pushpalatha, H. G., Mythrashree, S. R., Shetty, R., Geetha, N. P., Sharathchandra, R. G., Amruthesh, K. N., & Shetty, H. S. (2007). Ability of vitamins to induce downy mildew

- disease resistance and growth promotion in pearl millet. *Crop Protection*, 26(11), 1674-1681.
- Recueil Bionovation - volet semences édition 2008 CRAAQ Publication no EVC 022
 - Restaino, L., Frampton, E. W., Hemphill, J. B., & Palnikar, P. (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(9), 3471-3475.
 - SAS Institute Inc. (n.d.). Retrieved from https://www.sas.com/en_ca/home.html
 - Sharififar, A., Nazari, M., & Asghari, H. R. (2015). Effect of ultrasonic waves on seed germination of *Atriplex lentiformis*, *Cuminum cyminum*, and *Zygophyllum eurypterum*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(3), 102-104.
 - Statistiques Canada. (2008). Épandage d'engrais chimiques, d'herbicides, d'insecticides et de fongicides, par province (Recensements de l'agriculture de 1996 à 2006). Retrieved from http://www.statcan.gc.ca/tables-tableaux/sum_som/l02/cst01/agrc05f-fra.htm
 - Troller, J. A. (2012). *Sanitation in food processing*. Academic Press.
 - Widén, P., & Annas, P. (2004). Cedomon and Cerall—biological seed treatments for cereals. In *The first world conference on organic seed: challenges and opportunities for organic agriculture and the seed industry*. International Federation of Organic Agriculture Movements, Bonn (pp. 169-170).