

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1



Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

Département de biotechnologie

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

Filière : Agronomie

Option : Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales

Thème

**Etude du pouvoir antifongique des extraits de plantes sur
Fusarium spp. de l'orge en conservation**

Soutenu publiquement par : Chiwawa Fungai Manana

Devant la commission jury composée de :

Mme Allal L.....M.C.B.....FSNV.....Présidente

Mme Moumene S....M.C.B.....FSNV.....Promotrice

Mme Chebata N.....M.A.A.....FSNV.....Examinatrice

Année Université 2016/2017

Remerciements

Au début j'adresse par mes remerciement à ALLAH de m'avoir aidé pour accomplir ce modeste travail.

Je tiens particulièrement à remercier mes parent qu'ils n'ont pas hésité d'offrir toutes les possibilités quelque soit ses natures et dans toutes les conditions, pour, m'avoir encouragé et conseillé Je dois remercier tous les membres de ma famille pour leur soutien.

Un grand merci à Madame Moumene S. pour l'honneur d'avoir proposé ce thème, pour m'avoir aidé par ces connaissances, ces précieux conseils.

Je remercie particulièrement Madame Allal L. pour avoir accepté de présider le jury Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements à Madame Chebata N qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Je remercie sincèrement à tous mes amis et tous mes enseignants, pour ses informations et ses aides.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont soutenue et encouragés durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une long et heureuse vie.

À mes chers soeurs Fadzai, Leila, Yasmine et avec très joie a mon petit frère Taurai Melusi.

À toute ma famille paternelle Chiwawa et maternelle Muzambi

À mes amies d'université

À tous mes enseignants depuis le primaire Jusqu'à l'université

En fin, à tous ceux qui m'aime

Liste des tableaux

Tableau 1 Glucides solubles, amidon, azote total et soluble de la matière sèche.....	14
Tableau 2 Composition de l'orge germée.....	15
Tableau 3 : Les différents aspects par rapport les analyses sensorielles.....	26
Tableau 4 Plantes utilisé pour notre étude.....	30
Tableau 5 Caractérisation organoleptique des extraits aqueux de plantes étudiés.....	36

Les Annexes

Tableau 6 Tableau d'acide gallique.....	Annexe
Tableau 7 Résultats de spectrophotométrie.....	Annexe
Tableau Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....	Annexe
Tableau 8 Analyse de variance...1.....	Annexe
Tableau 9 Analyse de variance du taux d'inhibition2.....	Annexe
Tableau 10 Analyse de variance du taux d'inhibition3.....	Annexe
Tableau 11 Analyse de variance du taux d'inhibition...4.....	Annexe
Tableau 12 Analyse de variance du taux d'inhibition4.....	Annexe
Tableau 13 Les matériels utilisés.....	Annexe

Liste des figures

Figure 1	L'écorce de la cannelle.....	5
Figure 2	Feuilles et fruit du fruit du grenadier.....	6
Figure 3	Morphologie des gousses d'ail Filière des Plantes Médicinales.....	7
Figure 4	Morphologie de clous de girofle.....	8
Figure 5	Morphologie de lavande.....	9
Figure 6	<i>Pistacia lentiscus</i>	10
Figure 7	<i>Aloysia citrodora</i>	11
Figure 8	Production mondiale des céréales (FAOSTAT, 2016).....	16
Figure 9	Installation de culture hydroponique.....	17
Figure 10	Caractères morphologique de <i>Fusarium</i> spp.....	20
Figure 11	Cycle biologique de <i>Fusarium</i> spp.....	21
Figure 12	Caractères organoléptiques des extraits aqueux.....	26
Figure 13	Screening phytochimique.....	38
Figure 14	L'effets des extraits aqueux préparé par l'Infusion et décoction.....	40
Figure 15	L'effets des extraits aqueux préparé par décoction	41
Figure 16	L'effets des extraits aqueux des dilutions d' <i>Eugenia caryophyllata</i>	41
Figure 17	L'analyse de la variance 1.....	42
Figure 18	L'analyse de la variance 2.....	44
Figure 19	L'analyse de la variance 3	44
Figure 20	L'effets des extraits aqueux sur la sporulation	45

Figure 21 L'Analyse de la variance 4	46
Figure 22 La survie des isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	47

List des Abreviations

ANOVA-	Analysis of variance
A-	L'extrait aqueux à base d' <i>Allium sativum</i>
C-	L'extrait aqueux à base de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>
D-	Décoction
DON-	Déoxynivalénol
EAG-	Equivalent d'acide gallique
F-	L'isolat fongique de <i>Fusarium</i> spp
FAO-	Food and Agriculture Organisation
GF-	L'extrait aqueux à base d' <i>Eugenia caryophyllata</i>
GLM-	Generalized Linear Model
gMS-	Grammes de matière sèche
GRD-	L'extrait aqueux à base de <i>Punica granatum</i>
I-	Infusion
L-	L'extrait aqueux à base de <i>Lavandula stoechas</i>
P-	L'extrait aqueux à base de <i>Pistacia lentiscus</i>
PDA-	Potato Dextrose agar
ZEA-	Zéaralénone

Sommaire

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 Partie bibliographique.....	3
1. Les plantes médicinales.....	3
1.1 Généralités.....	3
1.1.2 Définition	3
1.1.3 Systématique botanique des plantes étudiées.....	3
1.1.4.1 Cannelle.....	4
1.1.4.2 Le Grenadier.....	5
1.1.4.3 L'ail.....	6
1.1.4.4 Le Giroflier.....	7
1.1.4.5 La Lavande.....	8
1.1.4.6 Le Pistacier.....	9
1.1.4.6 La Verveine.....	10
1.2 Généralités sur les métabolites secondaires.....	11
1.2.1 Définition	11
1.2.2 Classification.....	11
1.3 <i>Hordeum vulgare</i>	13
1.3.1 Introduction.....	13
1.3.2 Historique.....	13

1.3.3 Classification.....	14
1.3.4 Utilité et importance.....	14
1.3.5 Production internationale.....	14
1.3.6 Production nationale.....	15
1.3.7 L'orge en culture hydroponique.....	16
1.3 Avantages et inconvénients de la culture hydroponique.....	16
1.3.8.1 Les maladies.....	17
1.4 <i>Fusarium</i> spp.....	17
1.4.1. Généralités.....	17
1.4.2 Morphologie et identification en culture.....	18
1.4.3 Le cycle biologique de <i>Fusarium</i> spp.....	19
1.4.4 Conditions de développement.....	19
1.4.4.1 Facteurs climatiques.....	21
1.4.4.2 Facteurs nutritifs.....	22
1.4.4.4 pH	23
1.4.4.5 Facteurs physiologiques	23
1.5 Les méthodes de luttés contre la fusariose.....	23
1.5.1 Lutte chimique	23
1.5.2 Lutte biologique	24
1.5.3 Lutte par des extraits des plantes.....	24
1.5.3.1 Avantages des extraits de plantes.....	24
1.6 Méthodes d'Extraction Traditionnelles.....	25
1.6.1 Infusion.....	25
1.6.2 Décoction.....	25
1.7 Analyse des extraits aqueux de plantes.....	26

1.7.1 Dosage global des polyphénols.....	26
1.7.2 Screening phytochimique.....	26
1.8 Etude du pouvoir fongicide des extraits aqueux des plantes	27
1.8.1 Méthode de contact direct.....	27
1.8.2. Méthode de dilution.....	28
1.8.3 Sporulation.....	28
CHAPITRE 2 : Matériels et méthodes.....	29
2. Matériel et méthodes.....	29
2.1 Introduction.....	29
2.2 Matériel Biologique.....	29
2.2.1 Matériel végétal.....	30
2.2.2 Matériel fongique.....	30
2.3 Préparation des extraits aqueux.....	31
2.3.1 Décoction.....	31
2.3.2 Infusion.....	31
2.5 Screening phytochimique.....	32
2.5.1 Mise en évidence des saponosides.....	32
2.5.2 Mise en évidence des polyphénols.....	32
2.6 Etude du pouvoir fongicide des extraits aqueux des plantes étudiés.....	32
2.6.1 Méthode de contact direct.....	33
2.6.2 Etude du pouvoir fongicide des extraits sur la croissance mycélienne des isolats.....	33
2.6.3 Etude de l'inhibition de la sporulation des isolats de <i>Fusarium</i> spp.....	33
2.6.4 Etude de la survie des isolats de <i>Fusarium</i> spp. sous effet des extraits aqueux.....	34
2.7 Dosage quantitatif des polyphénols.....	34

2.8 L'analyse statistique.....	34
CHAPITRE 3 RESULTATS ET DISCUSSION.....	35
3. Résultats et discussion.....	35
3.1. Screening phytochimique des extraits aqueux étudiés.....	36
3.2. Activité antifongique des extraits aqueux de plantes sur les isolats.....	38
3.2.1. Pouvoir fongicide des extraits aqueux de plantes sur la croissance mycélienne.....	38
3.2.2. Pouvoir fongicide des extraits aqueux de plantes sur la sporulation.....	43
3.2.3. Etude de la survie des isolats de <i>Fusarium spp.</i> sous effet de l'extrait.....	44
3.3. Dosage des polyphénols.....	45
4 Conclusion.....	50
Références bibliographiques	
Annexes	

Etude du pouvoir antifongique des extraits de plantes sur *Fusarium* spp. de l'orge en conservation

L'objectif de ce travail a visé la recherche d'un biofongicide à base d'extraits aqueux de plantes médicinales contre trois isolats de *Fusarium* spp. qui attaquent les graines conservées pour les cultures des céréales hydro-thermiques utilisées en Algérie. On a choisi les plantes utilisées dans le domaine d'agro-alimentaire qui ont un pouvoir antifongique : *Eugenia caryophyllata*, *Lavandula stoechas*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Punica granatum*, *Aloysia citrodora*, *Pistacia lentiscus* et *Allium sativum*. Les extraits aqueux ont été préparés selon deux méthodes d'extraction : la décoction et l'infusion à une concentration de 150mg/ml. Un screening phytochimique a été réalisé pour mettre en évidence quelques métabolites secondaires des plantes. L'évaluation de la teneur en polyphénols dans chaque extrait avait pour objectif de confirmer leur pouvoir antifongique vis-à-vis des isolats de *Fusarium* spp. étudiés. Le screening phytochimique a révélé la présence de saponosides dans l'extrait aqueux à base de *Pistacia lentiscus*. Le dosage des polyphénols a montré une teneur plus élevée dans les extraits aqueux de l'*Aloysia citrodora* et la *Punica granatum* avec des teneurs de 74,8mgEAG/gMS et 64,5 mgEAG/gMS respectivement. Parmi les 7 plantes étudiées, l'extrait aqueux préparé à base d'*Eugenia caryophyllata* par la méthode de décoction a montré une inhibition complète de la croissance mycélienne et de la sporulation (100%) des deux isolats de *Fusarium* spp. F1 et F2 selon la méthode contact direct.

Il est intéressant de rechercher des autres extraits efficaces pour tous les isolats étudiés de *Fusarium* spp. Il sera aussi préférable de poursuivre notre recherche par l'étude de l'activité antifongique *in vivo* de l'extrait à base de clous de girofle et identifier les molécules responsables de l'effet fongicide en vue de formuler et appliquer le biofongicide en culture hydroponique de l'orge fourrager.

Mots clés : *Eugenia caryophyllata*, *Fusarium* spp., orge, pouvoir antifongique, trois isolats.

The study of the anti-fungal activities of plants against isolated samples of *Fusarium* spp. that attack Barley grains in storage.

For the past years micro-organisms have slowly developed a resistance to chemical pesticides, giving rise to the necessity to find a natural fungicide based on the aqueous plant extracts to inhibit their development and reduce their pathogenicity. Our study is based on the anti-fungal activities of the aqueous extracts of *Eugenia caryophyllata*, *Lavandula stoechas*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Punica granatum*, *Aloysia citrodora*, *Pistacia lentiscus* and *Allium sativum* against the three isolated samples of *Fusarium* spp. , which attack Barley cultivated using the hydroponic system. We prepared the aqueous extracts using two methods : decoction and infusion. The direct contact method was used for the study of the anti-fungal activity of the aqueous extracts and a dilution was made for the extracts that showed a high inhibitory effect. The dilutions were : 37.5mg/ml, 75mg/ml and 112.5mg/ml. An organoleptic and a physiologic analysis was conducted on these extracts after. We also measured the quantities of the polyphenolic content in the plant materials using the Folin Ciocalteu agent and very high values were retained for the extracts of *Punica granatum* and *Aloysia citrodora* at 74.8mgEAG/gMS and 64.5mgEAG/gMS respectively. This analysis was done to study correlation between the concentration of polyphenols in plant extracts and their inhibitory effects against pathogens.

A high presence of saponosides was noted in the extracts of *Pistacia lentiscus* after some phytochemical tests. Amongst the seven plantes that were selected for this study the aqueous extracts of *Eugenia caryophyllata* caused a total inhibition of the mycellial growth and sporulation for the isolated samples of *Fusarium* spp. at a concentration of 150mg/ml using the direct contact method.

It would be beneficial and interesting to conduct this research *in vivo* using the *Eugenia caryophyllata* and to identify the molecules responsible for this high inhibitory effect so that we can reformulate and apply this biofungicide in the hydroponic system.

Key words : aqueous extracts, hydroponic system, *Fusarium* spp. , inhibitory effect.

وكلاء الفطرية يطور مقاومة للمبيدات الحشرية الكيميائية، وبالتالي الحاجة إلى العثور على مصنع مائي فطريات الطبيعية مقتطفات لمنع نمو والحد المرضية الخاصة بهم. التحقيق دراستنا للنشاط مضاد للمستخلص المائي *caryophyllata* , *Lavandula stoechus* , *Cinnamomum zeylanicum* , *Punica granatum* , *Aloysia citrodora* , *Pistacia lentiscus* *et Allium sativum* ضد ثلاث عزلات *Fusarium spp* مهاجمة تغذية الشعير في الزراعة المائية. تم تحضير المستخلصات المائية للنباتات المختبرة وفقا لطريقتي الاستخلاص: لإستخلاص بالإغلاء إنفوسيون. وأجري تحليل الحسية والفسولوجية بها، وقدم تحديد كمية البوليفينول من أجل قياس كمية من البوليفينول في مقتطفات. وأظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود الصابونين في مقتطفات المائية للبطم عدسي. بوليفينول أظهر فحص على نسبة أعلى من المستخلصات المائية للويضة ليمونية والرمان مع تركيزات 74.8 mgEAG / غيس و 64.5 mgEAG / غيس على التوالي. من بين سبعة المستخلصات المائية للنباتات الاختبار، وأظهرت القاعدة مستعدة لليوجينيا *caryophyllata* تثبيط كامل لنمو فطر وتبوغ (100%) للافبوزاريوم النيابة يعزل F1. و F2 عند تركيز 150 mg / مل وفقا لطريقة الاتصال المباشر. وبالتالي يمكن أن يوصى هذا المستخلص كما بيو-فطريات ضد هاتين العزلات. ومن المثير للاهتمام للبحث عن مقتطفات فعالة أخرى لجميع العزلات المدروسة من فوزريوم سب. وسوف يكون من الأفضل أن يستمر بحثنا في دراسة النشاط مضاد للفطريات في الجسم الحي استخراج القائم القرنفل والتعرف على الجزيئات المسؤولة عن تأثير فطريات لوضع وتنفيذ Biofungicide المائي من الشعير

.الكلمات المفتاحية: المستخلصات المائية، قوة المثبطة، ثقافة الزراعة المائية، فوزريوم سب.

Introduction

Synthèse Introduction

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est une culture stratégique qui a toujours occupé une place importante parmi les autres céréales (blé synthèse dur et tendre) en Algérie. Jusqu'à une certaine époque (1900), elle était à la tête des cultures destinée à l'autoconsommation humaine. Son rôle dans l'alimentation animale a toujours été et reste fondamental. Aujourd'hui et face aux nouveaux défis (changement climatique, crise économique mondiale, hausse des prix alimentaire), l'Algérie, très touchée par la désertification et par la rareté de l'eau, sera confrontée plus que jamais à des difficultés pour assurer sa sécurité alimentaire. (Rahal-Bouziane,2015)

A cause de cette crise diverses techniques d'hydroponie furent adoptées à travers le monde (Texier 2014). Cette culture présent plusieurs avantages comme la contrôle de la nutrition, la conservation de l'eau, de meilleures rendements et meilleures qualités de l'orge et la réduction de l'utilisation de pesticides, grâce à une meilleure santé et une croissance plus rapide. Parmi les grandes contraintes de cette technique est le développement des agents fongiques qui attaquent et détériorent la qualité des céréales par la production des mycotoxines. Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70% des maladies des plantes cultivées (Deacon, 2005). Dans la majorité des cas, ces substances sont produites durant les premiers stades de la pathogenèse et reproduisent une partie ou la totalité des symptômes (Graniti, 1992). Certains chercheurs ont trouvé quelques méthodes de lutte contre les agents phytopathogènes. (Hibar et *al.*, 2007) et ont étudié l'activité antifongique des fongicides de synthèse comme l'hymexazol et le benomyl contre *Fusarium oxysporum* sp. *Radis-lycopersici* qui cause la fusariose des racines et du collet de la tomate. L'emploi des extraits aqueux des plantes dans la lutte contre les

champignons est prometteur compte tenu de leur efficacité et de leur innocuité sur l'environnement (Benaïssa, 2011).

Une des originalités majeures des plantes médicinales réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées et représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Belletti et al. ,2004), ont démontré que les huiles essentielles de *citrus* sont efficaces contre les bactéries pathogènes, les spores bactériennes, mais également sur certaines bactéries responsables de toxi-infection alimentaire telles que: *Mycobacterium jejuni*, *Listeria monocytogenes*. Des travaux similaires ont été réalisés par (Sharma et al.,2016) sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eugenia caryophyllata* a confirmé que leur pouvoir fongicide reste lié à la dose de l'extrait testé à l'égard de l'isolat de *Fusarium oxysporum*, avec une inhibition totale de sa croissance mycélienne et de sa sporulation à la concentration de 125 mg/L.

Dans ce contexte l'objectif de ce travail est de valoriser et mettre en évidence l'activité antifongique des extraits aqueux des quelques plantes médicinales utilisé surtout dans le domaine de l'agro-alimentaire contre les trois isolats de *Fusarium* spp. contaminants fongiques des graines d'orges d'issues d'Algérie

CHAPITRE 1

Partie bibliographie

1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Les plantes médicinales

1.1.1 Généralités

Les plantes constituent un grand potentiel pour nos sociétés. Outre le rôle alimentaire, médicinal, social, culturel et socio-économique, la plante ou les produits dérivés de plantes sont utilisés pour la conservation ou pour la protection des récoltes et des plantes en végétation. L'Algérie, possède une flore très riche et offre des conditions de développement de nouvelles exploitations agricoles des plantes médicinales et aromatiques. Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, antioxydants et antimicrobiennes demeure une propriété très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues en médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de principes actifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de recherches *in vitro* comme *in vivo*, notamment la recherche de nombreux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (Soylu et al. 2005)(Huang et Laksham 2010).

1.1.2 Définition

Une plante médicinale qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. L'expression drogue végétale ou, plus couramment drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments. Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain (Baba-Aïssa, 2000)

1.1.3 Systématique botanique des plantes étudiées

La connaissance de l'origine botanique de la plante destinée à l'obtention de son huile essentielle est nécessaire aussi pour les applications futures, en parfumerie, en cosmétique, en pharmacie et même en agroalimentaire. L'identité de la plante est indispensable pour la traçabilité et pour éviter les éventuelles fraudes. L'identification est effectuée par le fournisseur qui doit présenter un certificat d'analyse, l'acheteur, quant à lui, devrait aussi faire les tests de confirmation (Huang et Laksham 2010).

Les plantes médicinales utilisées dans le domaine agro-alimentaire ont été retenues pour notre étude :

1.1.4. Cannelle

Le cannelier est un arbre persistant à l'écorce brun ne dépassant pas 15 m de hauteur, ces parties contiennent une huile essentielle aromatique. Ses feuilles opposées et persistantes, de forme ovale, sont lisses et luisantes. Ses fleurs petites, jaunes sont réunies en grappes terminales et dégagent une odeur désagréable. Ses fruits, de couleur violette foncée, sont des drupes (à pulpe) charnues et ressemblent par leur forme, au gland du chêne (Ali-Shtayeh et *al.*, 2012) Les feuilles sont longues (15 cm) lisses, simples, coriaces, opposées de 10 à 18 cm de large et de 4 à 5 cm de long, ovales à lancéolées, marquées de trois nervures plus claires.

Cette plante est classée comme suit (Kellouche et *al.*, 2005):

Famille : *Lauraceae*

Genre : *Cinnamomum*

Espèce : *C. zeylanicum* Nees

Nom Commun : Cannelle de Ceylan

Nom Anglais : Ceylon cinnamon

L'écorce de cannelle (figure 1) contient des tanins, des résines, un mucilage, une gomme, des sucres, l'oxalate de calcium, l'eugénol jusqu'à 10%, acétate de cinnamyle 5%, linalol 2%, et le caryophyllène. La cannelle est connue comme remède traditionnel de la dyspepsie y compris la flatulence, les spasmes gastro-intestinaux, la perte d'appétit et la diarrhée. En usage interne, elle est indiquée dans l'asthénie, les courbatures fébriles, la grippe, les affections dues au refroidissement et les syncopes. En Europe, la Cannelle est utilisée pour « réchauffer » l'organisme en cas de refroidissement, souvent en association avec le gingembre. Elle stimule la circulation, notamment périphérique (doigts et orteils) (Ali-Shtayeh et *al.*, 2012)



Figure 1 : L'écorce de la cannelle (écorce) (Kellouche et *al.*, 2005)

1.1.5 Le Grenadier

Le grenadier est un arbre à tronc tortueux, à écorce grisâtre qui se ramifie en branches irrégulières, légèrement épineuses au sommet, portant des feuilles généralement opposées et luisantes. Les feuilles grenadier sont opposées ou sous-opposées, luisantes, étroites, et de forme oblongues, entières, de 3 à 7 cm de long et de 2 cm de large. Ses fleurs sont rouge vif, de 3 cm de diamètre et ayant cinq pétales. Elles sont hermaphrodites, portant de 4 à 8 sépales coriaces et un même nombre de pétales rouges, de nombreuses étamines et un ovaire. Son fruit est une baie, dont la taille varie entre celle d'une orange ou d'un pamplemousse, de 7 à 12 cm de diamètre, de forme hexagonale arrondie, son écorce est épaisse, rougeâtre et contient de nombreuses graines. Le grenadier est fortement représenté au Moyen-Orient, sa terre d'origine. Ainsi, on le trouve fréquemment en Afghanistan, Turquie, Transcaucasie, et en Inde (Institute Klorane 2002)

Le grenadier est classé comme suit (Phattayakorn et Wanchaita, 2009) :

Ordre : Myrtales

Famille : Punicaceae

Genre : *Punica* L.

Espèce : *Punica granatum*

La peau du fruit est très riche en ellagitanines, gallotanines, glucose et flavanols, (Barbéran et *al.*, 2000). Les composantes principales du fruit sont les alcaloïdes piperidiniques, la vitamine C, les polyphénols, les tannins ellagiques, d'acide punique, et l'acide cafeique. La

plante possède un pouvoir anti-infectieux contre l'*Escherichia coli* (Phattayakorn et Wanchaita, 2009).



Figure 2 : Feuilles et fruit du fruit du grenadier (Institute Klorane, 2002)

1.1.6. L'ail

L'ail est une plante herbacée, bulbeuse (figure 3) et vivace assez grande à nombreuses feuilles engainant le bas de la tige. Elle mesure 5 à 12 cm de hauteur en temps normal, avec un espacement de 10 cm. L'inflorescence est enveloppée d'une spathe en une seule pièce tombant assez rapidement. Les fleurs sont groupées en ombelles. Assez peu nombreuses, elles sont de couleur blanche ou rose et s'épanouissent-en été. Le fruit est une capsule à 3 loges, mais celle-ci est rarement produite. Principalement présent en Espagne mais se rencontre aussi en France, en Italie, Croatie et Algérie. Aussi une variété présente au Sénégal et au Niger et un clone connu en Indonésie. (Gupta et *al.*, 2014)

L'ail est classé comme la suit (Gupta et *al.*, 2014) :

Ordre Liliales

Famille Liliaceae

Genre Allium

Espèce : *Allium sativum*

Le bulbe d'ail et ses produits dérivés peuvent contribuer à faire baisser le taux de lipides sanguin et la pression artérielle, ainsi qu'à prévenir les troubles circulatoires. L'ail possède également des propriétés antiseptiques, antibiotiques et parasitocides. Il est également reconnu pour renforcer le système immunitaire et rendre l'organisme plus résistant aux diverses affections de toutes sortes. La composition biochimique est comme la suit : 64 % d'eau, 27,5 % de glucides, 6 % de protéines, 3 % de fibres. Divers : prostaglandine, acide phénols, phytostéroïdes, polyphénols, flavonoïde. Vitamines (mg par 100 g) : B1 (0,2), B2

(0,08), B3 (0,65), B5 ,C (30), E (0,1), Minéraux ,Potassium, Soufre, Calcium ,Magnésium, Sodium et chlore. (Gupta et *al.*, 2014)



Figure 3 : Morphologie des gousses d'ail Filière des Plantes Médicinales (2009)

1.1.7. Le Giroflier

Le giroflier est un arbre de forme conique d'une hauteur moyenne de dix à douze mètres, il peut atteindre jusqu'à vingt mètres de haut. Ses feuilles sont ovales et coriaces et persistantes. Les fleurs à quatre pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants. Avant l'épanouissement, les boutons floraux sont nommés « clous de girofle » (Figure 4). (Institute Klorane, 2002).

Le clous de girofle est classé comme la suit (Sharma, 2016) :

Classification :

Ordre Myrtales

Famille Myrtaceae

Genre *Syzygium*

Espece *Eugenia caryophyllata*

Les propriétés antiseptiques et anesthésiques de ces boutons floraux sont reconnues depuis très longtemps et proposées dans les douleurs dentaires. Il entre dans la composition du khôl, primitivement onguent ophtalmique. Les composants principaux de la plante sont l'huile essentielle (18 à 20%) à phénol propénylphénol, eugénol, beta-caryophyllène (10%) et composés terpéniques, aromatiques, les stérols, les cétones, les tannins et les flavonoïdes courants comme le quercétol. L'huile essentielle est très puissante à large spectre d'action

vis-à-vis de *Candida albicans*, à un taux d'inhibition de 100% à une concentration de 125mg/L (Sharma, 2016).



Figure 4 : Morphologie de clous de girofle (Kellouche et al 2005)

1.1.8. La Lavande

La Lavande est un arbrisseau aromatique très ramifié à feuillage feutré blanc-gris, dense, jusqu'à 1m de haut. Ses fleurs sont en pseudo épis denses de coupe carrée. (figure 5). Au départ, les lavandes poussent dans quelques pays du bassin méditerranéen, puis la culture s'est répandue en Europe de l'Est (Bulgarie, Russie, Ukraine) et même en Tasmanie ou encore au Canada où des plantes mutées peuvent maintenant résister au gel. Les lavandes affectionnent les sols légers et bien drainés (elles redoutent les excès d'eau). Toutes supportent bien les terrains calcaires hormis la *Lavandula stoechas* et la *Lavandula viridis* qui, quant à elles, exigent un sol acide. Pour prospérer et bien fleurir les lavandes doivent être plantées en plein soleil. (Baptista et al., 2015)

La Lavande est classée comme la suit (Baptista et al., 2015):

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas*

Les composants principaux de son huile essentielle : sont les cétones, mono terpéniques 70-80%, la verbenone, le camphène, et le limonène. Les composés suivants sont aussi présents, les : monoterpènes (α -pinène, β -pinène, β -ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène,) monoterpène alcools (α -terpineol, borneol, lavandulol, linalool, p-cymen-8-ol, transpivocarveol), aldéhydes (aldéhyde de cumin, éthers: 1,8-cineole), esters (acétate de linalyl, acétate de terpenyl). Elles ont les activités anti-infectieuses contre la *Pseudomonas*

aeruginosa et *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 10.6mm et 37.3mm respectivement à un concentration de 0.6mg/L et 9.6mg/L. (Baptista et *al.*, 2015)



Figure 5: Morphologie de lavande (Kellouche et *al.*, 2005)

1.1.9. Le Pistacier

C'est un arbrisseau dioïque thermophile de 1 à 3 mètres, à odeur résineuse forte et à écorce lisse et grise. Les feuilles sont persistantes, composées, alternes pourvues d'un pétiole ailé, paripennées à 4-10 petites folioles elliptiques-obtuses, mucronulées, coriaces, luisantes en dessus, mates et pâles en dessous. Les fleurs sont en grappes spiciformes denses, naissant 1 ou 2 à l'aisselle d'une feuille et égalant au plus la longueur d'une foliole. Le fruit est petit, subglobuleux, apiculé, rouge, puis noir à la maturité. A l'origine cultivé sous les climats chauds du Moyen-Orient, de l'Asie de l'Est et de Méditerranée. (Iserin 2001),

Cette plante est classée comme la suit (Gulfraz, 2011) :

Classe : Dicotyledones

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiaceae

Genre : Pistacia

Espèce : *Pistacia lentiscus*

La chimie de la plante est relativement peu étudiée. La plante est connue pour contenir une huile essentielle (Gulfraz, 2011). Son huile est grasse (Charef et *al.*, 2008), renferment des

tanins condensés et hydrolysables, des glycosides flavonoïques (Bammou et al. 2015), des anthocyanes, une résine « mastic de chio », et des triterpènes. Une activité anti-ulcéreuse du *Pistacia lentiscus* a été signalée par plusieurs auteurs, tels que l'effet antifongique (Ali-Shtayeh et al., 1999).



Figure 6 : *Pistacia lentiscus*, (Bammou, 2015)

1.1.10 La Verveine

La verveine odorante est un petit arbuste à tige principale ligneuse, de 1 à 3 m de haut à feuilles caduques (Figure 7). Les feuilles sont lancéolées, terminées en pointe, presque sessiles (pétiole très court), de couleur vert pâle et disposées par 3. Elles exhalent une forte odeur de citron quand on les froisse. Les fleurs petites, de couleur blanche ou mauve pâle, sont groupées en épis lâches de 10 cm de long environ. Elles ne fructifient pas en Europe. (Amarda et al., 1992)

Cette plante est classée comme la suit (Charef et al., 2008) :

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Verbenaceae

Genre : Aloysia

Espèce : *Aloysia citrodora*

Les feuilles d'*Aloysia citrodora* contiennent 0,90 % d'huile essentielle appelée « essence espagnole de Verveine », Les principaux composants dans l'huile de verveine citronnelle sont

le citral (30-35 %), le nérol et le géraniol. composée de citral, de limonène, de géraniol et de sesquiterpènes. Elle est fébrifuge, antispasmodique, antifongique, légèrement sédative et eupeptique. Elle a aussi des propriétés répulsives envers les moustiques. (Amarda et *al.*, 1992)



Figure 7 : *Aloysia citrodora* (Kellouche et *al.*,2005)

1.2. Généralités sur les métabolites secondaires

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante. La plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit comme les prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces substances prennent la nomenclature des métabolites secondaires (Kansole, 2009).

1.2.1 Définition

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal. Les métabolites secondaires, issus de métabolites primaires interviennent dans la structure des plantes mais exercent également une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (Kansole, 2009).

1.2.2 Classification

Les métabolites secondaires peuvent être distinguées en six groupes :

i. Les acides phénoliques

Les composés phénoliques sont dérivés de deux sous groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïques, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, et présents chez toutes les céréales. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets probiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible, donc ils sont considérés non toxiques. (Kansole, 2009).

ii. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) représente une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier. (Kansole, 2009).

iii. Les tannins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits. Ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (Pousset, 1989), ils sont solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence. Certains sont aussi antioxydants, ils permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. (Patni, 2012)

iii. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines. Ces substances sont concentrées dans les vacuoles. Bon nombre aussi sont utilisés pour être transformés chimiquement en substances à activité modifiée comme le vinorelbine, ou donné naissance à des familles de médicaments synthétiques comme les anesthésiques locaux sur le modèle de cocaïne. (Handa et al. 2008)

iv. Les coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina et *al.*, 2003, Booth et *al.*, 2004). Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Burt, 2004)

v. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des composés hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte, dérivés formellement de l'isoprène C₅H₈. Leur formule brute est (C₅H_x)_n dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (de 1 à 8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base des terpénoïdes est l'isoprène de formule C₅H₈ (Booth et *al.*, 2004). Ils sont responsables des propriétés variées des huiles essentielles et des plantes qui les contiennent : les antiseptiques, les anti-inflammatoires et d'autres encore sont insecticides.

1.3. *Hordeum vulgare*

1.3.1 Introduction

Avant l'extension du maïs, l'orge avait une place centrale dans l'alimentation du bétail. Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, à la famille des Poacées appelées «graminées». Il existe trois grands groupes de céréales (Kunwar et *al.* 2009). Un premier grand groupe formé par le blé, l'orge, le seigle et l'avoine. Un deuxième grand groupe formé par le maïs. Un troisième grand groupe ordonné autour du riz. Elle est cultivée pour ses grains principalement pour l'alimentation animale, les grains d'orge ont une valeur énergétique pour le bétail mais sont pauvres en protéines. (Belaid 2014)

1.3.2 Historique

(Cadot, 2016). L'orge est une plante annuelle de la classe des monocotylédones, qui appartient à la famille des graminées et au genre *Hordeum* qui comprend 31 espèces, mais seule *vulgare* est couramment cultivée, *Hordeum vulgare* est une espèce diploïde ($2n=14$). Elle a été l'une des premières cultures domestiquées, il y a 10 000 ans dans le croissant fertile du moyen – orient.

L'orge est classée selon les types printemps ou hiver (sensible au gel ou au contraire résistant au froid environ jusqu'à -15°C)

1.3.3 Classification

D'après (Feillet 2000), l'orge cultivée appartient à la classification suivante:

Classe Liliopsida

Ordre Poale

Famille Poaceae

Genre *Hordeum*

Espèce *Hordeum vulgare* L.

1.3.4 Utilité et importance

Au début du XIXe siècle, l'orge venait en tête des cultures par son importance, Il était destinée à l'autoconsommation humaine et servait de complément fourrager aux troupeaux entretenus pendant la plus grande partie de l'année dans les régions steppiques (Graniti A, 1992). Actuellement, l'orge n'est pas d'emploi courant dans l'alimentation humaine. Il est actuellement efficace contre les maladies du cœur, la constipation et autres dérèglements du système digestif, et probablement également contre le cancer. La façon dont l'orge réduit le taux sanguin de cholestérol est semblable à celle des spécialités pharmaceutiques anti-cholestérol (Cheng et al., 2006).

1.3.5 Production internationale

Les prévisions de la FAO concernant la production mondiale de céréales en 2016 ont été revues à la baisse 1,7 million de tonnes et tablent sur 1400 millions de tonnes, soit 0.7 pour cent de moins que le niveau de 2015. La diminution en glissement mensuel reflète la baisse de la production mondiale d'orge et de blé, qui a surtout été observée dans l'Union européenne (UE). Le volume de la production mondiale de céréales secondaires devrait s'élever à 1250

millions de tonnes ce qui représente une augmentation de 1.8 millions de tonnes par rapport aux prévisions de juin. Ces révisions à la hausse ont plus que compensé la révision à la baisse de la production d'orge dans l'UE, qui s'explique par le climat sec qui sévit ces derniers temps dans la région. D'après le (Figure 8) la production mondiale d'orge a augmenté de 2 million de tonnes jusqu'à 4 million de tonnes 2005-2016 et son production est plus important que ceux d'avoine qui a commencé être produit en grande quantités depuis l'année 2013.

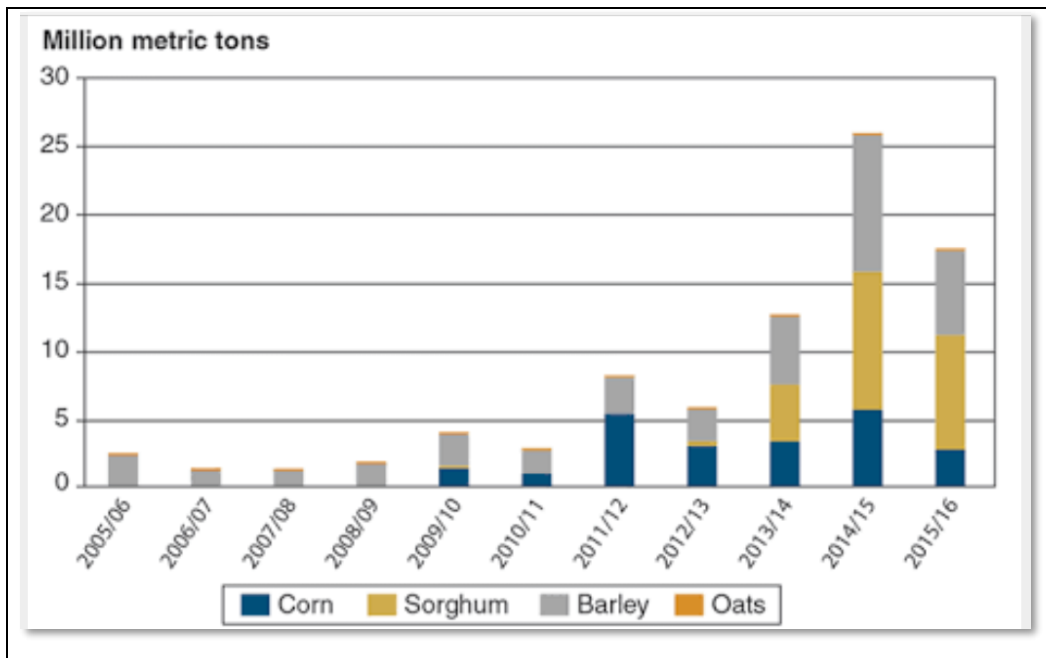


Figure 8 : Production mondiale des céréales (FAOSTAT, 2016)

1.3.6 Production nationale

La culture de l'orge est pratiquée essentiellement sur les hautes plaines, en Algérie. Les superficies qui lui sont consacrées varient d'une année à l'autre avec une moyenne, sur plus d'un siècle (1901-2005), de 1 million d'hectares, une production moyenne variant de 3 à 16 millions quintaux et une moyenne de rendement en grain de 7q/ha. Parmi les pays du Maghreb, l'Algérie se classe en seconde position après le Maroc, qui produit plus de 16 millions de quintaux en moyenne. L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués en zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à une meilleure vitesse de croissance en début du cycle (Abbas, 2008). La production céréalière algérienne a reculé en 2015-2016. Selon les chiffres de la ministre algérien de l'Agriculture, la production nationale de céréales (orge, blé tendre et dur) a chuté à 3,3

millions de tonnes en 2013-2014 et de 4,91 millions de tonnes en 2012-2013. (Jeune Afrique, 2016)

1.3.7 L'orge en culture hydroponique

Selon Il s'agit de l'utilisation de l'orge germée comme fourrage pour ruminants car c'est le fourrage concentré qui est dominant en Algérie. Les éleveurs pratiquant sa germination cherchent avant tout une amélioration de la valeur nutritive.

Il existe diverses installations pour la germination de l'orge. Elles sont basées sur la conservation dans une enceinte close d'un taux d'humidité et de température précis de graines mises auparavant à tremper. Dès la germination, les graines sont éclairées de façon à favoriser la photosynthèse. En 5 à 6 jours, les graines produisent des plantules de 10cm. A côté d'installations modernes avec atmosphère contrôlée existe une foule d'installations bricolées par des éleveurs ou des artisans. (Belaid, 2014),



Figure 9 : Installation de culture hydroponique (Belaid, 2014)

1.3.8. Avantages et inconvénients de la culture hydroponique

La rapidité avec laquelle les plantes pousse et s'étoffent en hydroponie suppose une grande consommation d'eau. Cependant, toute l'eau utilisée sera transpirée par la plante, sans le moindre gaspillage par infiltration dans le sol ou par évaporation. Si l'on compare avec la culture des mêmes plantes en terre la totalité de l'engrais utilisé est absorbée par la plante. La culture hydroponique assure à la plante une croissance saine et rapide, lui permettant ainsi de surmonter les attaques de nuisibles ou, du moins, d'y résister à des derniers. La plupart du temps, l'hydroponie permet d'offrir aux plantes des conditions idéales de nutrition, de

luminosité, de température et d'humidité. Le maillon faible, alors, devient le dioxyde de carbone. Grâce à l'hydroponie, c'est possible. Le niveau élevé de nitrate dans la solution nutritive suscite une croissance végétative phénoménale.

Il a aussi des inconvénients. La première et la plus importante d'entre elles, c'est que les plantes n'ont pas de protection. La terre a un pouvoir tampon. Autrement dit, elle a la capacité de maintenir une certaine stabilité autour de la masse racinaire. Dans un sol sain, tous les paramètres physiques et biologiques sont en équilibre. La température est aussi un aspect délicat. En hydroponie, la température idéale à maintenir dans la zone racinaire pour que la croissance soit maximale est comprise entre 18 et 22°C. Les racines peuvent tolérer bien plus. Jusqu'à 26°C environ, il ne se passe rien ; ensuite, la croissance ralentit, et, au-delà de 35°C, racines et plantes meurent rapidement à cause du manque d'oxygène, en particulier dans les pays tropicaux ou en intérieur, où la lumière artificielle génère beaucoup de chaleur. Un autre grand inconvénient est l'accumulation de l'humidité dans le milieu de culture qui va résulter dans le développement des agents phytopathogènes (Texier,2014)

1.3.8.1 Les maladies

L'orge cultivée peut être sensible à de nombreuses maladies, mais les sélectionneurs se sont efforcés d'incorporer des caractères de résistance dans le génome de divers cultivars. Les dégâts causés par les maladies dépendent de la sensibilité de la variété cultivée. Cette plante est sensible à diverses maladies virales, notamment au virus de la mosaïque modérée de l'orge ou bactériennes comme la glume noire ou brûlure bactérienne due à *Xanthosomas translucens*. L'orge est également sensible à la fusariose des épis due à *Fusarium* spp. (Cadot ,2016)

1.4 *Fusarium* spp.

1.4.1 Généralités

En agriculture, les moisissures sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production de l'orge. Parmi ces phytopathogènes, on retrouve un cas particulier, les *Fusarium*, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fuscus* car ses spores sont en forme de fuseau. La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par

Link en 1809, ce dernier a créé le genre pour des espèces présentant des spores cloisonnées, fusiformes, formées sur des stromas. Ses descriptions sont basées sur l'observation d'un « *Fusarium roseum* », mais aujourd'hui l'espèce type est *F. sambucinum*.

La fusariose est une maladie endémique provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (Miedaner, 1996). Elle regroupe les genres *Microchodium* et *Fusarium*, qui comptent 19 espèces capables d'induire la fusariose. La variabilité de cette maladie, au niveau de son incidence et de la production de mycotoxines, pose de nombreux problèmes en agriculture et agroalimentaire. Également, le stade de développement de la plante influence le développement et la croissance des moisissures, avec une sensibilité maximale autour de la floraison mais des contaminations plus tardives sont possibles (Cowger et al., 2010). D'autre part, les infections multiples associant différentes espèces du complexe fusarien sont fréquentes dans les champs et conduisent à des interactions dont les conséquences sur la production de toxines *in planta* sont peu connues (Simpson et al., 2004)

Les *Fusarium* sont classés comme le suit (Miedaner, 1996).:

Régne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre : Hypocreomycetidae

Famille : Nectriaceae

1.4.2 Morphologie et identification en culture

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Mais, les champignons du genre *Fusarium* présentent une grande diversité et variabilité en culture, leur identification et leur classification sont donc assez délicates. Il est important de préciser que la détermination d'une espèce se base sur de nombreux critères et non pas simplement sur la morphologie des macro et microconidies. Les phialides, plus ou moins allongées, présentent, le plus souvent, un site de bourgeonnement

unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé (*F. solani*) ou court et trapu (*F. oxysporum*). Chez d'autres espèces comme *F. proliferatum*, les phialides présentent plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides). Les phialides produisent deux types de conidies microconidies – uni- ou bicellulaires, piriformes, fusiformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées, disposées en verticille ou plus rarement en chaînettes (*F. verticilloides*) ,macroconidies – conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, souvent groupées en paquets. Les macroconidies sont fusiformes, souvent courbées, avec une cellule basale pédicellée, formant un sort de talon plus ou moins visible.

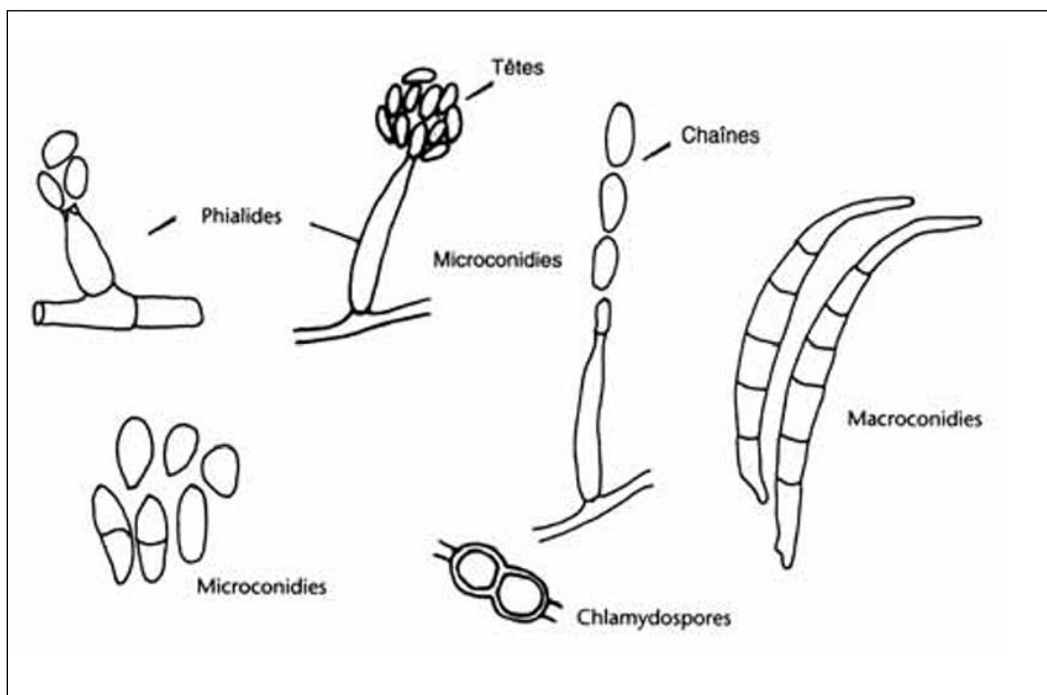


Figure 10 : Caractères Morphologique de *Fusarium* spp. (Cadot ,2016)

1.4.3 Le cycle biologique de *Fusarium* spp.

Les semences infectées : lors des infections sur épi, le mycélium attaque les grains à travers les glumes, pénètre dans le péricarpe, l'albumen, voire l'embryon. Cette source inoculum permet à la maladie de se développer dès l'automne. Pendant la germination, le mycélium reprend son activité et, selon le degré de pénétration initial, il ralentit ou inhibe la germination, entraînant des manques à la levée et la fonte des semis. La maturation des spores dépend des interactions avec les facteurs de l'environnement. Elle est favorisée par l'humidité, la chaleur et la lumière (Guenther, 2005) et freinée par la sécheresse et le froid de l'hiver. Les spores germent ensuite en surface des tissus de l'hôte lorsque les conditions y

sont favorables. Ces conditions regroupent une forte humidité (>90%) pendant 48 à 72h en conditions contrôlées et 4 à 5 jours en conditions naturelles, et des températures comprises entre 15 et 30°C (Bai ,1994)

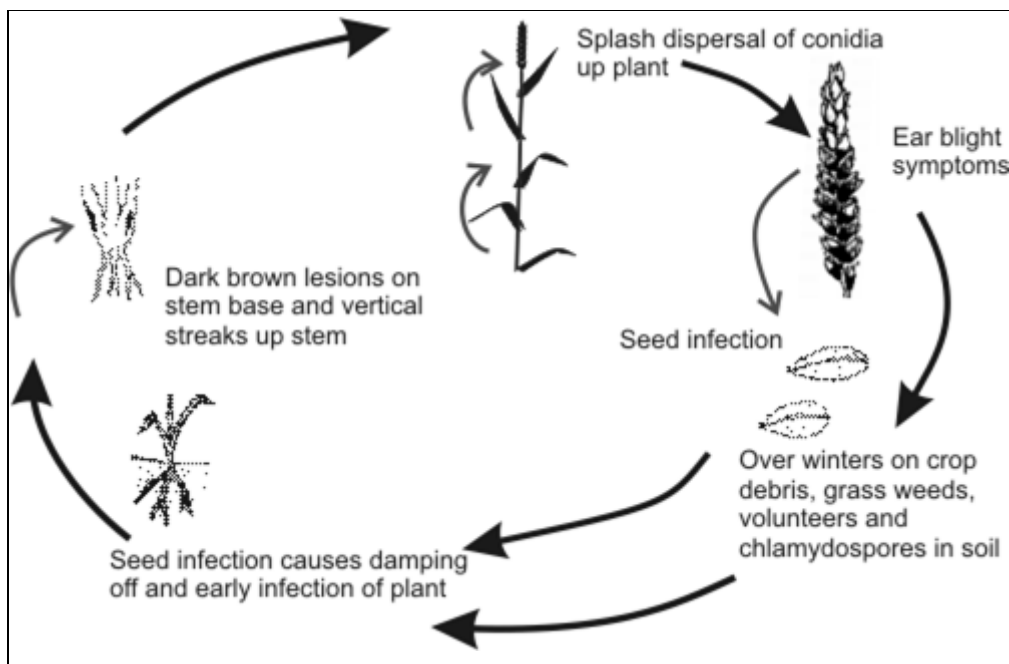


Figure 11: Cycle biologique de *Fusarium* spp. (Guenther, 2005)

1.4.4 Les mycotoxines

Les champignons de genre *Fusarium* sont connus pour leur aptitude à synthétiser certaines mycotoxines sur la plante, certaines toxines n'étant synthétisées que par certaines espèces. Les quantités et les types de mycotoxines varient selon les souches de *Fusarium* présents sur les plants. Aujourd'hui, les principales mycotoxines surveillées dans les produits alimentaires sont la déoxynivalénol (DON) et la zéaralénone (ZEA) produites par *Fusarium graminearum*. Les On le retrouve à la récolte, dans l'immense majorité des cas en d'infimes quantités. Les DON est une mycotoxine de la famille des trichothécènes et ils sont produits par différents contaminants fongiques, qui contaminent les grains de blé, d'orge, d'avoine ou de maïs et même du riz lors de la floraison. Les ZEA sont des mycotoxines émises par certaines espèces de champignons du sol, les *Fusarium*, qui peuvent coloniser certains végétaux en y produisant une maladie la Fusariose. (Guenther, 2005)

1.4.4.1 Effets sur l'animal ou l'être humain

Depuis une vingtaine d'années, on sait que certaines espèces de *Fusarium* sont susceptibles de réaliser de graves infections opportunistes surtout chez les personnes immuno-déprimées. Les spores de *fusarium* aéroportés et inhalés, ou ingérées avec la nourriture, peuvent être une

source importante de problèmes de santé. Les symptômes peuvent inclure la nausée, le vomissement, la diarrhée, la dermatite et hémorragie interne. Les spores peuvent se développer sur les yeux (première cause de kératomyose), dans les sinus, sur la peau et les ongles et sont susceptibles de provoquer de la fièvre des foins et l'asthme. Ils causent fréquemment des lésions de la peau chez les patients brûlés, des mycoses des ongles, de l'otomyose, des ulcères variqueux, le mycétome, des ostéomyélites ou des infections disséminées. Quelques espèces (*Fusarium* du groupe roseum) peuvent produire de puissantes toxines (mycotoxines), qu'on trouve parfois en concentrations significatives sur des grains ou des produits dérivés. Ingérées par des animaux ou par l'homme, elles peuvent provoquer de graves intoxications alimentaires, éventuellement mortelles, avec risque cancérigène. Ces toxines peuvent affecter les systèmes circulatoire, digestif, cutané et nerveux. (Hogan, 2013)

1.4.5. Conditions de développement.

Le développement de la fusariose est sous l'influence de conditions suivantes :

1.4.5.1 Facteurs climatiques

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial puisqu'ils vont conditionner la germination et l'infection du champignon. Des individus de la même espèce mais ayant des origines géographiques différentes vont également avoir des optima différents, en référence avec le climat de leur région d'origine (Doohan et al., 2003) Pour *M. nivale* et *Fusarium. culmorum*, cet optimum est obtenu à 18°C et 26.5°C respectivement. *Fusarium. culmorum*, *Fusarium. poae*, *Fusarium. avenaceum* et *Microchodium. nivale* sont retrouvées dans des régions plutôt fraîches. Durant tout le cycle cultural, l'humidité et le vent favorisent également la survie et la dispersion de l'inoculum primaire (Mc Mullen et al. 1997, Alvarez et al., 2009).

1.4.5.2 Facteurs nutritifs

Comme source de carbone et d'énergie le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentent les sucres les plus utilisés par les moisissures. Ces hydrates de carbone sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme

aérobie. Le cuivre, le magnésium, le sodium, le zinc et le molybdène sont des micronutriments. Les peptides et les protéines ne sont utilisés par les moisissures qu'après leur dégradation (Alvarez *et al.*, 2009).

1.4.5.3 pH

Les moisissures peuvent se développer dans une large gamme de pH; elles se développent à des pH compris entre 3 et 8, avec une croissance optimale entre 5 et 6 (Keller *et al.*, 1997)

1.4.5.4 Facteurs physiologiques

La développement des champignons dépend aussi des caractéristiques physiologiques de la plante comme la taille et la densité d'épillets, son état de stress, son stade de développement, et le niveau de résistance de la variété (Champeil *et al.*, 2004)

1.5 Les méthodes de lutttes contre la fusariose

Il existe plusieurs méthodes de lutte contre la fusariose :

1.5.1. Lutte chimique

En effet, les travaux de (Simpson *et al.*, 2001) soulignent la sensibilité des champignons du genre *Fusarium* aux triazoles et ceux du genre *Microdochium* aux strobilurines. Depuis, des résistances sont apparues limitant l'intérêt des strobilurines dans cette lutte. De nouvelles solutions ont été récemment développées couplant par exemple plusieurs familles chimiques comme les triazolinthione et triazole pouvant réduire jusqu'à 70% de la maladie au champ.

1.5.2 Lutte biologique :

Les agents biologiques appliqués à l'anthèse peuvent contrôler les fusarium en stoppant, en réduisant ou en retardant la germination des spores (Fernando, 2001). Selon le travail de (Keller *et al.*, 1997) une race du champignon *Clonostachys rosea* présente un potentiel pour la lutte contre la fusariose et il serait souhaitable de poursuivre les essais en champs afin de valider l'avantage de l'utilisation du *Clonostachys rosea* comme un biofongicide.

1.5.3 Lutte par des extraits de plantes

L'emploi des extraits de plantes comporte des avantages certains, avec l'augmentation des prix des produits chimiques et leur rareté sur les marchés locaux. Ces produits sont biodégradables qui représentent une bonne alternative pour les producteurs afin d'assurer la protection de leurs semences à un coût relativement faible (Handa *et al.*, 2008). A faible dose, ces plantes ne présenteraient pas de toxicité pour l'homme, puisqu'elles sont pour la plupart utilisées en médecine traditionnelle. Ce fait pourrait justifier l'engouement actuel des recherches sur les propriétés pesticides des extraits de plantes dans la protection des denrées alimentaires ; (Fatope, 1995).

1.5.3.1 Avantages des extraits de plantes

L'emploi des extraits de plantes comporte des avantages certains. Avec l'augmentation des prix des produits chimiques et la rareté de ces produits sur les marchés locaux, les produits biodégradables provenant de plantes constituent une bonne alternative qui permet aux producteurs de pouvoir assurer la protection de leurs semences à un coût relativement faible. La réduction de l'emploi des pesticides chimiques due à l'utilisation des extraits de plantes contribue énormément à la réduction de la pollution de l'environnement et cela permet également d'améliorer la santé publique des populations. L'emploi des extraits des plantes dans la lutte contre les champignons est prometteur compte tenu de leur efficacité et de leur innocuité sur l'environnement. (Benzeggouta, 2005)

1.6 Méthodes d'Extraction Traditionnelles

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales (Handa, 2008).

La tisane, que ce soit infusion, décoction ou macération, est un procédé d'extraction de constituants actifs des plantes médicinales. Le mot tisane vient du grec *ptisané* signifiant orge mondé, puis tisane d'orge. L'utilisation de la plante en tisane est retrouvée parmi les méthodes les plus anciennes à côté des fumigations, des inhalations de vapeur, de l'application d'une solution sur le corps. L'eau chaude permet ainsi de récupérer certains

constituants actifs hydrosolubles (Goetz, 2004). D'autres techniques traditionnelles étaient aussi utilisées pour la récupération des principes liposolubles et aromatiques comme les huiles infusées ((Baba-Aïssa, 2000). La présence d'un composé ou d'un autre dépend de sa solubilité dans le solvant utilisé, la température et la durée d'extraction et la fragmentation de la plante (Goetz, 2004).

1.6.1 Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles comme les huiles essentielles (Baba-Aïssa, 2000)

1.6.2 Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles. Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (Baba-Aïssa, 2000).

1.7 Analyse des extraits aqueux de plantes

1.7 .1 Dosage global des polyphénols

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal. Néanmoins une estimation rapide de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes, en particulier par utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin Ciocalteu (Singleton, 1965). Cette méthode est très sensible, et on peut avoir une bonne approximation de la teneur de l'extrait en phénols que l'on exprime alors par rapport à un composé de référence comme l'acide gallique (Macheix et *al.*,2005).

1.7.2 Screening phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes etc (Lendvai et *al.*, 2002). Le screening phytochimique a été réalisé tant sur les phases aqueuses qu'organiques par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques (Bruneton, 2009)

1.8 Etude du pouvoir fongicide des extraits aqueux des plantes

1.8.1 Méthode de contact direct

C'est une technique qui permet l'étude de la culture de cellules, de bactéries et de moisissures afin de savoir leur développement en plaçant les micro-organismes dans des conditions optimales ou tout à fait défavorables. Cette technique permet aussi l'utilisation des produits phytosanitaire dont la propriété de contrôler, repousser ou détruire les champignons, susceptibles de se développer sur les cultures. Les micro-organismes exigent pour leur croissance des aliments. Ces aliments leurs ont fournis au laboratoire par des milieux nutritifs ou milieux de culture. Pour permettre le développement des micro-organismes le milieu doit contenir tous les aliments nécessaires en quantité suffisante et en proportion relative convenable : le milieu doit être nutritif et équilibré et avoir un pH, une pression osmotique, une viscosité des caractéristiques physicochimiques compatibles avec la vie microbienne. Comme les besoins nutritionnels des microorganismes et les conditions de leurs développements sont très variés il n'existe évidemment aucun milieu universel sur lequel tous les microbes soient capables de se multiplier. Les milieux solides présentent un grand intérêt en Microbiologie. Ils permettent, lorsque la technique d'ensemencement est convenable, le développement des germes en colonies apparentes, isolées les unes des autres, provenant en principe, de la multiplication d'un seul germe et à partir desquelles peuvent être obtenues des cultures pures. (Baba et *al.*, 2008)

1.8.2 Méthode de dilution

Les produits à tester peuvent également être directement mélangés en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide sans oublier que les techniques de dilutions exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et après incubation on note la présence ou l'absence de culture; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu. (Baba et *al.*, 2008)

1.8.3 Sporulation

A ce titre, son étude s'inscrit dans le courant de la biologie moderne dont l'effort principal tend vers la compréhension du phénomène complexe de la différenciation. Sous son second aspect, prospectif, la spore fongique est considérée comme l'unité de reproduction et de dissémination des champignons pathogènes et, comme telle, constitue l'objet central des préoccupations tant des phytopathologues que des médecins et vétérinaires. Il est vrai que les deux aspects de la sporulation fongique sont étroitement imbriqués car tout progrès réalisé dans la connaissance des processus sporogénétiques permet, en retour, de développer des agents chimiques antisporeux et de doter ainsi la microbiologie d'un pouvoir de contrôle préventif sur l'activité destructrice (mycoses, etc.) ou bénéfique (antibiotique, etc.) des produits de la germination sporale. (Turien, 1968)

CHAPITRE 2
Matériels et
méthodes

2 .Matériel et méthodes

Introduction

Cette étude a été réalisée à l'Université Blida 1, dans le laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques durant les mois de janvier jusqu'à juin 2017. Elle va nécessiter l'utilisation d'un matériel végétal et d'un matériel fongique..

1. Matériel Biologique

Le matériel biologique est représenté par un matériel fongique composé de trois isolats (F1, F2 et F3) de *Fusarium* spp. et un matériel végétal composé de 7 plantes médicinales utilisées dans le domaine d'agro-alimentaire.

2. 1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour notre étude a été achetée à l'état sec chez l'herboriste au niveau de Ouled Yaïch, Wilaya de Blida. Les plantes ont été conservées dans des sachets en papier placés dans boîtes hermétiquement fermées à l'abri de l'humidité. Les données relatives à ces plantes sont résumées dans le tableau 3 :

Tableau 4: Plantes médicinales utilisée pour notre étude

Nom commun	Nom botanique	Partie de la plante utilisée
Clous de girofle	<i>Eugenia caryophyllata</i>	fleurs
Lavande	<i>Lavandula stoechas</i>	Feuilles et les somites floraux
Cannelle	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Ecorce de l'arbre
Grenadier	<i>Punica granatum</i>	Ecorce du fruit
Verveine	<i>Aloysia citrodora</i>	feuilles
Pistachier lentisque	<i>Pistacia lentiscus</i>	feuilles
Ail	<i>Allium sativum</i>	bulbes

2.2 Matériel fongique

Trois isolats fongiques F1, F2 et F3 purifiés de *Fusarium* spp. ont été prélevés des isolats Algériens de cultures hydroponiques de la variété « Saida » de l'orge ayant fait objet de nombreux travaux de recherche par (Moumene S., 2017). Ces isolats fongiques ont été entretenus par les repiquages sur le milieu PDA et incubés à 20°C pendant 20 jours.

2.3 Méthodes de préparation des extraits aqueux

La préparation de l'extrait aqueux des plantes médicinales a été effectuée selon les méthodes, par décoction et par l'infusion.

2.3.1 Décoction

Nous avons opté pour le protocole décrit par (Yuang et *al.*,2005) en y apportant quelques modifications :

En effet, 30 grammes de matériel végétal (grains, écorce, feuille, bulbe) ont été placés dans les flacons en verre stériles de 250ml aux quels, on a ajouté 200ml d'eau distillée. Ces derniers ont été placés au bain-marie jusqu'à la température de 60°C. Après refroidissement, les flacons ont été conservés au réfrigérateur à 4°C. Des dilutions des extraits aqueux pour les plantes ayant montré un pouvoir fongicide ont été préparés. Les concentrations sont retenues: 37.5mg/ml, 75mg/ml ,112.5mg/ml et 150mg/ml.

2.3.2 Infusion

La préparation des infusées a été réalisée selon le protocole décrit par (Yuang et *al.*, 2005) en y apportant quelques modifications :

En effet, 200ml d'eau distillée stérile bouillante ont été versés sur 30 grammes de matériel végétal dans des flacons en verre stériles et ensuite laissés infuser pendant 15 minutes avant de les mettre au réfrigérateur pour une conservation à 4°C.

2.4 Screening phytochimique

Le screening phytochimique a permis la mise en évidence de la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux des plantes étudiées. Ces tests ont été réalisés sur les phases aqueuses par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques. Les infusés des plantes étudiés ont été préparés selon la méthode adoptée par (Bruneton, 2009). en utilisant une concentration de 10%.

2.5.1 Mise en évidence des saponosides

La recherche des saponosides consiste à verser dans un tube à essais, 2 ml de l'extrait total aqueux. Le tube a été agité sur l'agitateur pendant 15 secondes puis laissé au repos durant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm affirmera la présence de saponosides (Dohou et *al.* 2003).

2.5.2 Mise en évidence des polyphénols

La recherche des polyphénols consiste à mettre 500µl de chaque extrait avec une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins confirmera la présence de polyphénols. (Dohou et *al.* 2003).

2.6 Etude du pouvoir fongicide des extraits aqueux des plantes étudiés

L'activité antifongique des extraits aqueux a été réalisée sur les trois isolats fongiques de *Fusarium* spp. *in vitro* par la méthode du contact directe sur milieu gélosé « PDA » pour déterminer les taux d'inhibition. Par ailleurs, l'étude du pouvoir antifongique a été réalisé sur l'aspect cultural et morphologique des isolats témoins et ceux qui ont été développés sous l'effet des extraits aqueux des plantes étudiés. L'aspect cultural a été décrit par observation visuelle. Quant à la morphologie elle a nécessité la préparation de lames pour l'observation microscopique à l'aide du microscope photonique au grossissement X500 (Turien, 1968).

2.6.1 Méthode de contact direct

Chaque extrait a été mélangés séparément avec le milieu PDA en ajoutant 19 ml du milieu PDA stérile en surfusion à 2 ml de l'extrait aqueux dans une boite de Pétri. Les boites de Pétri ont été agitées manuellement pour homogénéisation de l'extrait avec le milieu de culture. Après solidification du milieu les disques mycélien de 6mm de diamètre de chacun des isolats de *Fusarium* spp. ont été ensemencés à l'aide d'une pipette de Pasteur par le dépôt du disque au centre de la boite. Les boites ont été toutes fermées avec un parafilm avant l'incubation. En effet, cinq répétitions ont été prises en considération pour chaque isolat et chaque extrait. Différentes dilutions ont été préparées pour les extraits ayant montré un fort pouvoir inhibiteur. Le milieu PDA sans extrait a servi de témoin pour chaque isolat (Mishra et Dubey, 1992) L'incubation des boites a été réalisée durant 7 jours à la température de 30°C (Mohammedi, 2005)

2.6.2 Etude du pouvoir fongicide des extraits sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

Après 7 jours d'incubation, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont été calculés selon la formule décrite par (Soro, 2008).

$$PI (\%) = (A-B)/Ax100$$

:

PI(%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage;

A : Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

B : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait

2.6.3 Etude de l'inhibition de la sporulation des isolats de *Fusarium* spp.

Après incubation de 20 jours à la température de 28°C, 10 ml d'eau distillée stérile ont été versés dans chaque boîte de Pétri puis, la culture de chaque isolat de *Fusarium* spp. a été à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les suspensions conidiennes ont été récupérées dans des tubes à essais stériles à l'aide d'une micropipette. Ces derniers ont été soumis à l'agitation à l'aide d'un agitateur de tubes vortex. Les suspensions conidiennes de chacun des isolats témoins et ceux qui ont été en présence d'extraits de plantes à fort pouvoir inhibiteur ont fait l'objet de comptage du nombre de conidies à l'aide d'une cellule de Malassez sous microscope optique au grossissement (X125).

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation (I_s) a été déterminé selon la formule décrite par (Hibar et al., 2005) :

$$I_s = (N_0 - N_s) / N_0 \times 100$$

Où :

N_0 = étant le nombre moyen de conidies estimé chez le témoin

N_s = le nombre moyen de conidies estimé en présence des extraits aqueux de plantes étudiés

2.6.4 Etude de la survie des isolats de *Fusarium* spp. sous effet des extraits aqueux des plantes étudiés

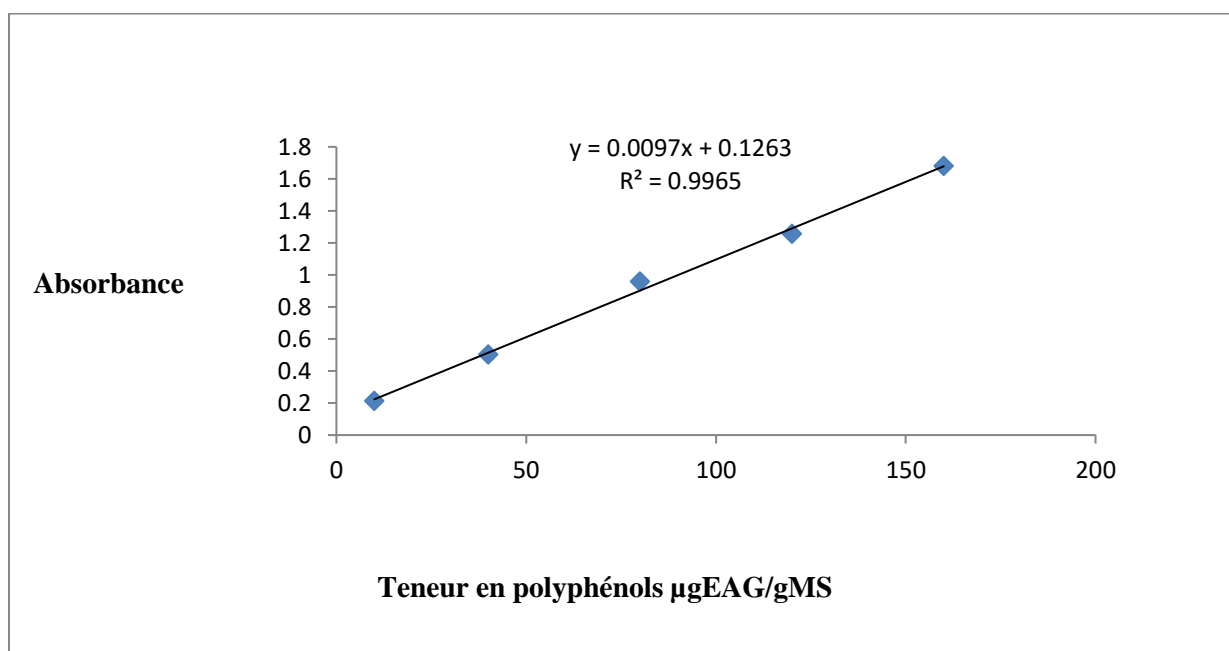
Après un mois d'incubation dans l'étuve réglée à la température de 28°C, des observations visuelles des cultures des isolats ont été fait poursuivies s'il y a une survie suite à l'effet des plantes à fort pouvoir inhibiteur. Cette étude a été réalisée par la mesure du diamètre de la croissance mycélienne pour déterminer les taux d'inhibition de la croissance mycélienne. (Baba et al. 2008)

2.7 Dosage quantitatif des polyphénols

Le dosage se fait par réactions colorimétriques, ainsi on a utilisé le réactif Folin-Ciocalteu pour déterminer le teneur des polyphénols. Cette méthode a été décrite par (Singleton et Rossi 1965).

Pour cela, 200µl de chacun des extraits sont mélangé avec 1000µl du réactif de Folin-Ciocalteu à 10%. La présence des phénols dans les extraits est prouvée par l'apparition d'une couleur bleu foncé. Après 5 minutes d'incubation on a ajouté 800µl de Na₂CO₃ à 7,5%. Ensuite, l'ensemble est incubé à la température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765nm. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par µg de matière végétal sèche.

Figure 13 : Courbe d'acide gallique



2.8 L'analyse statistique

Les moyennes de chaque essai et chaque paramètre ont été calculées à l'aide d'Excel 2007. Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel SYSTAT7 (2004). Le premier test concerne analyse de la variance « **ANOVA** » permettant de connaître la signification des différences au seuil de signification $\leq 0,05$. La deuxième test concerne l'analyse de la variance par le modèle linéaire généralisé (**GLM**) permettant au modèle linéaire d'être relié à la variable réponse via une fonction lien et en autorisant

l'amplitude de la variance de chaque mesure d'être une fonction de sa valeur prévue (Anscombe , 1948, Bailey, 2008).

CHAPITRE 3

Résultats et discussion

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Analyse phytochimique des extraits aqueux étudiés

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans les tissus végétaux des plantes étudiées. Leur détection a reposé sur des essais de saponification des extraits aqueux et le changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur les extraits aqueux préparés par infusion sont résumés dans le tableau 5. La présence des saponosides a été confirmée par l'apparition de mousse persistante d'une hauteur supérieure à 1cm. Ces composés ont été présents dans l'extrait de *Pistacia lentiscus* alors qu'ils étaient faibles dans les autres extraits aqueux avec la réduction rapide de la hauteur de mousse après leur agitation pendant 15 secondes (Figure 13A). Par ailleurs, les polyphénols, ont été identifiés et leur présence a été détectée dans tous les extraits de plantes étudiés mis à part, celui d'*Allium sativum* (Figure 13B).

Tableau 5: Résultats du screening phytochimique des extraits aqueux de plantes étudiés

Extraits aqueux des plantes	<i>Eugenia caryophyllata</i>	<i>Lavandula stoechas</i>	<i>Allium sativum</i>	<i>Punica granatum</i>	<i>Aloysia citrodora</i>	<i>Pistacia lentiscus</i>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
Recherche des saponosides	-	+	-	-	+	+	-
Recherche des polyphénols	+	+	-	+	+	+	+

- : absence des composés ,+ : présence des composés.

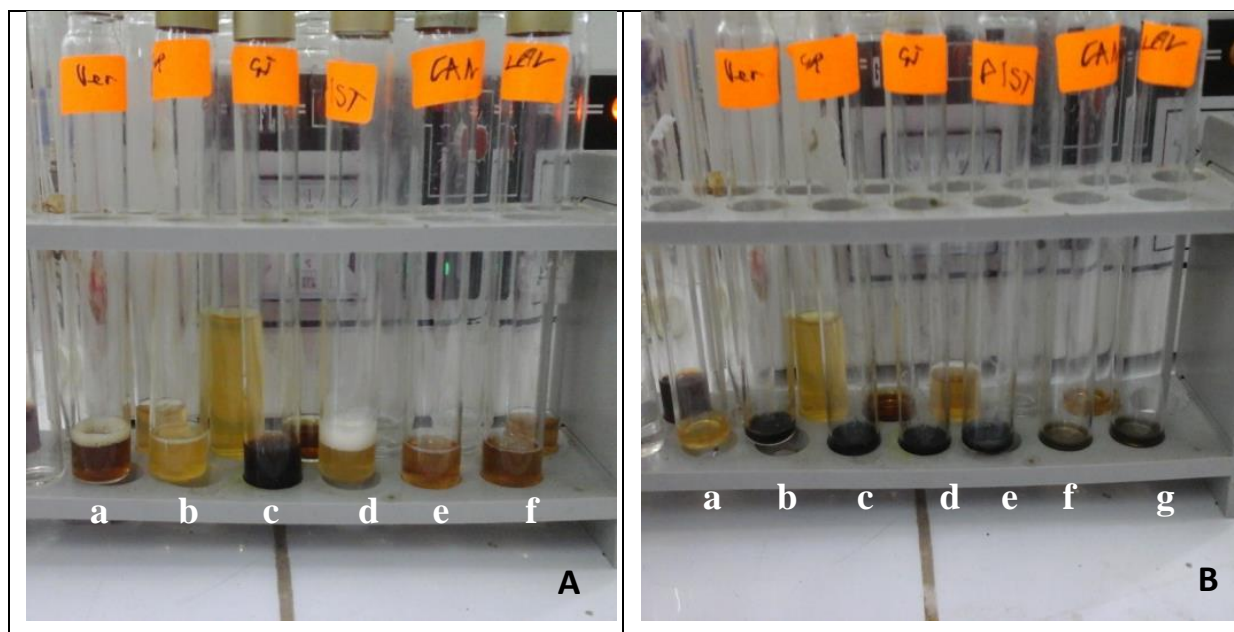


Figure 13 : Mise en évidence des saponosides (A) et des polyphénols (B) dans les extraits aqueux de plantes étudiées

a : *Aloysia citrodora*, b : *Allium sativum*, c : *Eugenia caryophyllata*, d : *Pistacia lentiscus*, e : *Cinnamomum zeylanicum*, f : *Lavandula stoechas*

3.2. Activité antifongique des extraits aqueux de plantes sur les isolats de *Fusarium* spp.

3.3.1. Pouvoir inhibiteur des extraits aqueux de plantes sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

L'effet *in vitro* des extraits aqueux de plantes étudiés sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. a montré une forte inhibition sur la croissance mycélienne de l'isolat F1. Les extraits aqueux préparés par les deux méthodes d'extraction ont montré le même pouvoir inhibiteur. La sensibilité à l'effet des extraits était très faible pour les trois isolats fongiques étudiés (F1, F2 et F3). Une bonne croissance mycélienne des isolats a été enregistrée pour l'effet inhibiteur d'*Aloysia citrodora* et de *Pistacia lentiscus*. De même, un très faible pouvoir antifongique a été enregistré pour l'extrait aqueux de *Punica granatum*. (Figure 14)

Par ailleurs, l'extrait aqueux ayant montré une activité inhibitrice complète était celui à base d'*Eugenia caryophyllata*, testé à la concentration de 150mg/ml sur l'ensemble des isolats de *Fusarium* spp. étudiés. Cependant, les isolats étaient tous résistants à l'activité des extraits à base d'*Allium sativum* et de *Lavandula stoechas*, vu leur effet inhibiteur modéré. Aussi,

l'extrait aqueux à base de *Cinnamomum zeylanicum* n'a pas montré d'inhibition sur la croissance mycélienne de l'isolat F3, mais son effet inhibiteur a été très faible sur les isolats F1 et F2. En se basant sur les teneurs en polyphénols, l'extrait aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* a donné une efficacité supérieure à ceux d'*Aloysia citrodora* et de *Punica granatum* malgré leurs teneurs plus élevées en polyphénols.(Figure 15) En effet, l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* a inhibé significativement la croissance mycélienne de tous les isolats fongiques (F1, F2 et F3). L'inhibition complète a été enregistrée par l'extrait à une concentration de 150mg/ml mais, elle a commencé à régresser à partir de la concentration de 37.5mg/ml où, un très faible pouvoir inhibiteur a été enregistré sur la croissance mycélienne. Tous les isolats fongiques ont donc présenté la même sensibilité pour les extraits aqueux de plantes testés à la concentration de 75mg/ml, mais après quelques jours l'isolat fongique F3 a montré une résistance traduite par la reprise de leur croissance mycélienne. (Figure 16).

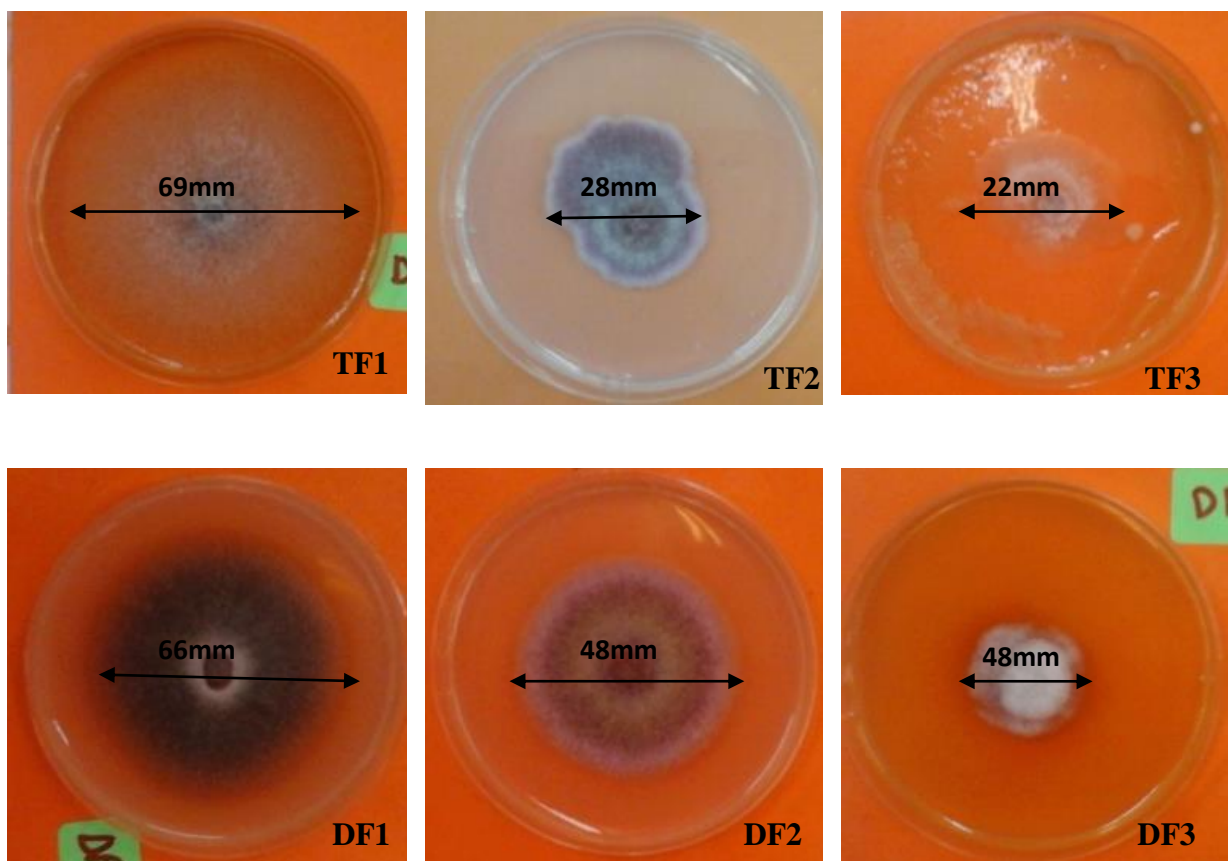


Figure 14: Effet des extraits aqueux à base de *Pistacia lentiscus* préparés par décoction (D) sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

T : Témoins, P : *Pistacia lentiscus*

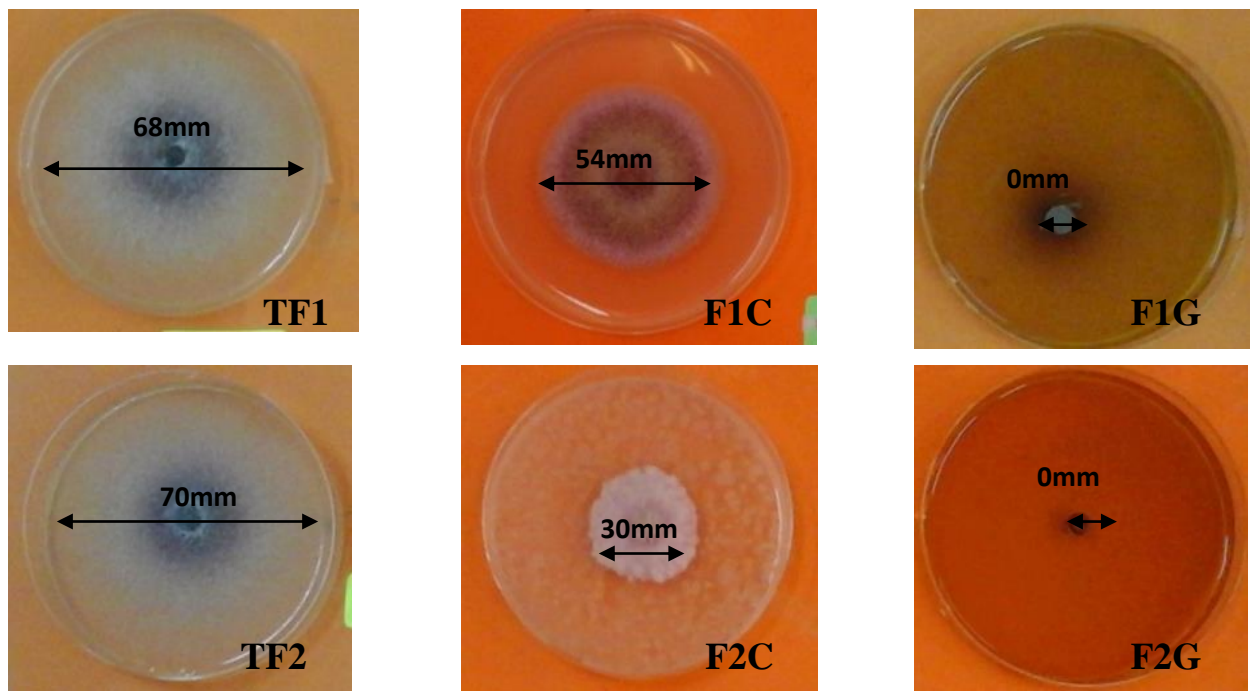


Figure 15 : Effet des extraits aqueux des plantes étudiées préparés par décoction sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

T : Témoins, C : *Cinnamomum zeylanicum*, G : *Eugenia caryophyllata*

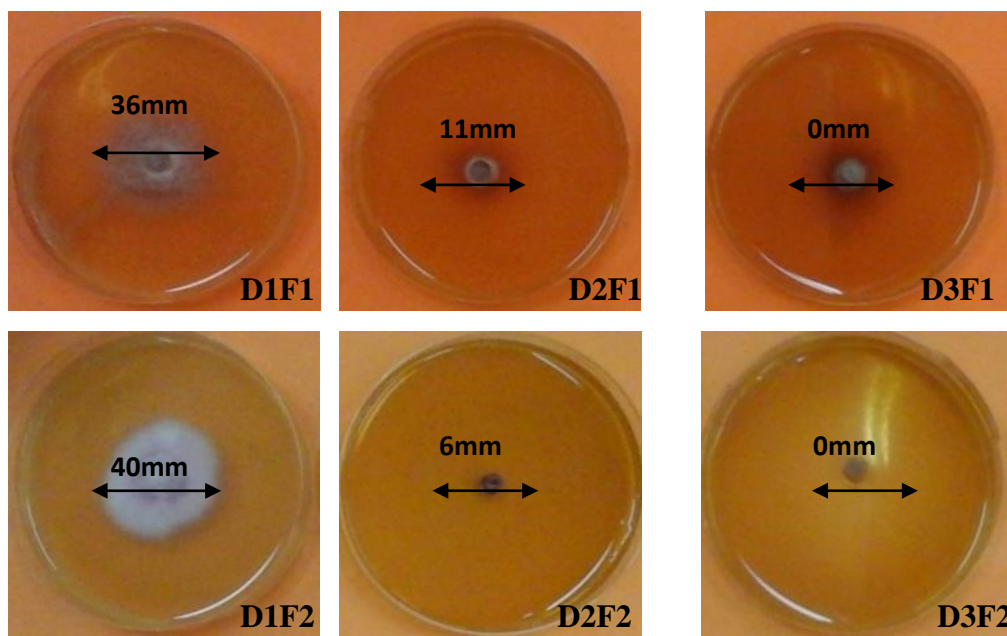


Figure 16: Effet de l'extrait aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* préparé par décoction et testé à différentes concentrations sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

T : Témoins, D1 : 37.5mg/ml, D2 : 75mg/ml et D3 : 112.5mg/ml

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a montré une différence non significative selon les isolats de *Fusarium* spp. et les extraits aqueux (préparés par décoction et infusion) de plantes testés ($P=0.098$; $P=0.327$) (Figure 17a). La sensibilité à l'effet des extraits étaient très faible pour les trois isolats de *Fusarium* spp. L'isolat F2 était le plus sensible avec un taux d'inhibition de 21% alors que, F3 était moins sensible avec un taux d'inhibition de 2%. Tous les extraits testés ont présenté de faibles taux d'inhibition quelque soit la méthode de préparation utilisée (Figure 17b). En effet, le taux d'inhibition enregistré pour l'extrait aqueux à base de *Punica granatum* préparée par décoction était le plus important (23%) alors que celui à base de *Pistacia lentiscus* préparé par infusion s'est avéré le plus faible (2%).

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a également montré une variabilité selon les espèces de *Fusarium* spp. et selon les extraits aqueux de plantes (préparés par décoction) ($P=0.008$; $P=0.000$) (Figure 18). Cependant, l'isolat F3 a montré une résistance à l'effet inhibiteur de tous les extraits, alors que les isolats F2 et F1 étaient plus sensibles avec une légère meilleure inhibition de l'isolat F1 (38%). L'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* était très efficace avec un taux d'inhibition proche de 100% pour les trois isolats alors que, les extraits aqueux d'*Aloysia citrodora*, de *Punica granatum*, de *Lavandula stoechas*, de *Pistacia lentiscus* et d'*Allium sativum* étaient faibles (28%). Ainsi, les isolats fongiques étudiés étaient moins sensibles à ces extraits (Figure 15a). Par ailleurs, l'extrait aqueux du *Cinnamomum zeylanicum* n'a pas montré d'effet antifongique *in vitro* sur l'ensemble des isolats fongiques étudiés (Figure 18b).

Une variabilité a été enregistrée sur la croissance mycélienne de l'ensemble des isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet de l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* préparé par décoction ($P=0.027$; $P=0.050$) (Figure 15). L'isolat F3 semblait très résistant (17 %) à l'extrait aqueux testé à différentes concentrations (Figure 15a) alors que les isolats F1 et F2 étaient très sensibles (70% et 80% respectivement). Le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* augmenté avec l'augmentation de la concentration. (Figures 16, 19a et 19b).

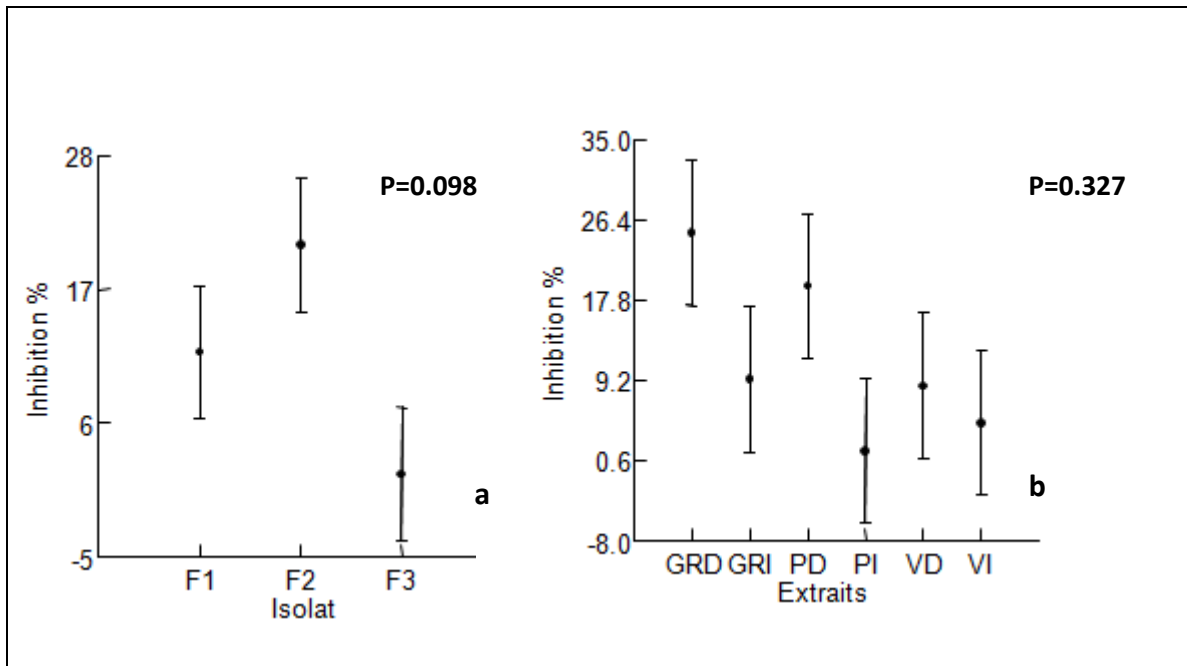


Figure 17: Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. En modèle GLM selon les isolats (a) et selon les extraits préparés par la méthode de décoction et infusion (b)

F1, F2, F3 : Les isolats de *Fusarium* spp. , D : Décoction, I : Infusion , GR : *Punica granatum*, P : *Pistacia lentiscus*, V : *Aloysia citrodora*

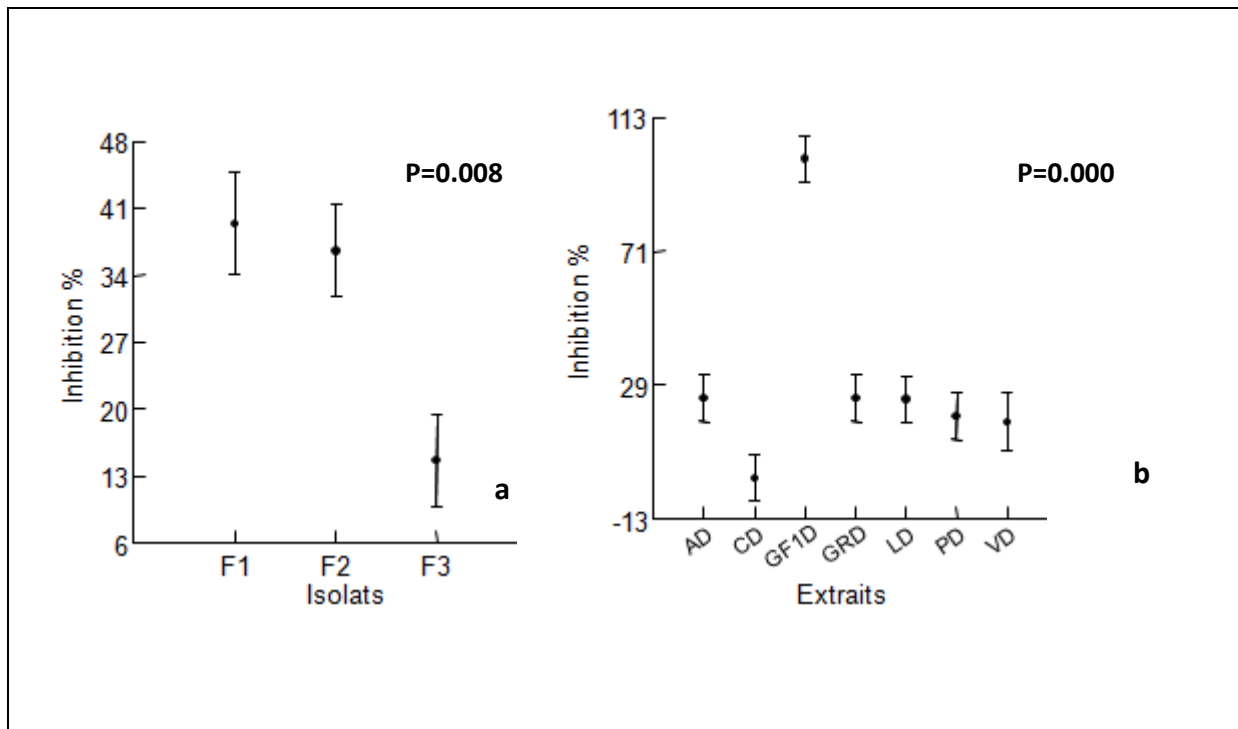


Figure 18: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. En modèle GLM selon les isolats (a) et selon les extraits aqueux préparés par la méthode de décoction(b)

F1, F2, F3 : Les isolats de *Fusarium* spp. , D : Décoction, I : Infusion, A : *Allium sativum*, C : *Cinnamomum zeylanicum* , GF1D : *Eugenia caryophyllata*, L : *Lavandula stoechas*, P : *Pistacia lentiscus* , V : *Aloysia citrodora*

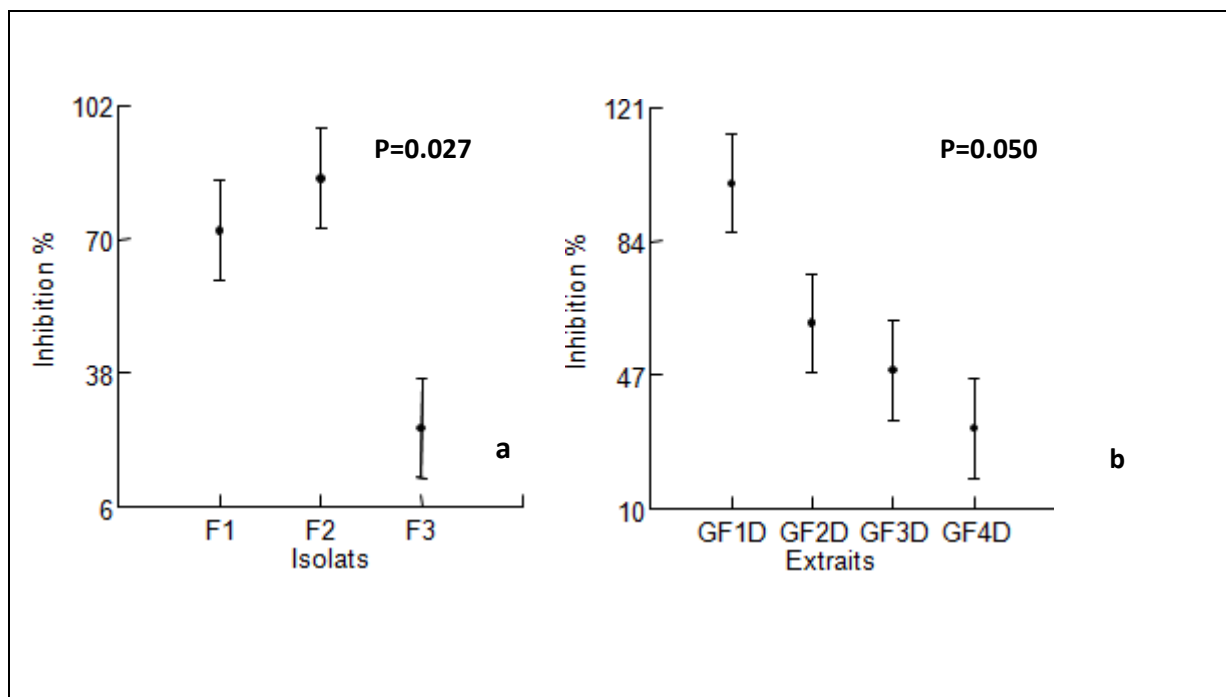


Figure 19: L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. En modèle GLM selon les isolats (a) et selon les dilutions des extraits aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* préparés par la méthode de décoction (b)

-F1, F2, F3 : Les isolats de *Fusarium* spp. , D : Décoction, I : Infusion , GF1 : 37,5mg/ml , GF2 : 75mg/ml , GF3 : 112,5mg/ml , GF4 : 150mg/ml

3.3.2. Etude du pouvoir inhibiteur de l'extrait d'*Eugenia caryophyllata* sur la sporulation des isolats de *Fusarium* spp.

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation a montré une variabilité selon les espèces de *Fusarium* spp. et une différence non significative selon les extraits d'*Eugenia caryophyllata* préparée par la méthode de décoction ($P=0.000$; $P=0.893$)

L'extrait aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* a été peu efficace sur l'isolat fongique F3 qui a nécessité des concentrations plus élevées. Ainsi, une haute concentration en spores a été enregistrée pour les suspensions conidiennes de cet isolat résistant. Cependant, une inhibition complète (100%) de la sporulation a été enregistrée sur les deux isolats fongiques F1 et F2 (Figure 20). (Le pouvoir inhibiteur de l'extrait aqueux était très important sur la sporulation des isolats F1 et F2 (100%) contrairement à F3 qui a montré une grande résistance à l'égard de l'extrait testé.

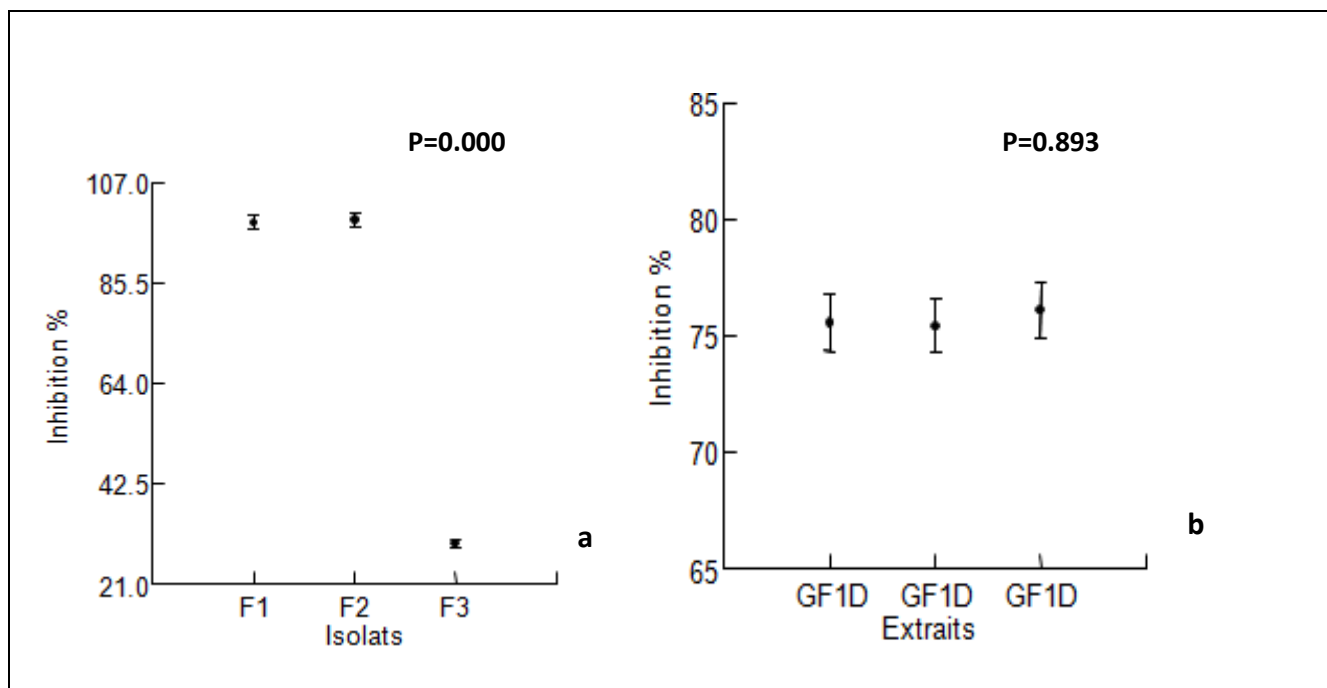


Figure 20: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Fusarium* spp. En modèle GLM selon les isolats (a) et selon les concentrations des extraits aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* préparés par décoction (b)

GF1D : *Eugenia caryophyllata*

3.3.3. Etude de la survie des isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet de l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata*

La croissance mycélienne des isolats témoins et ceux traités sous l'effet de l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* a été suivie durant un mois. Une faible croissance mycélienne a été enregistrée pour les trois isolats après repiquage sur milieu PDA avec un changement progressif de la couleur du milieu du brun au noir induisant à la fin la destruction et la mort de l'inoculum (Figure 21).

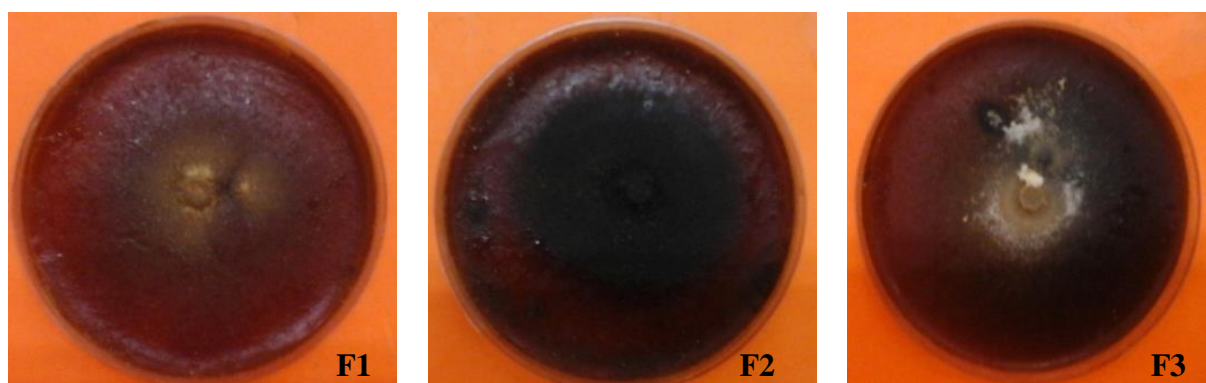


Figure 21 : Survie des isolats de *Fusarium spp.* étudiés sous effet de l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata*

-F1, F2 ,F3 : Les isolats de *Fusarium spp.*

3.4 Dosage des polyphénols

Pour connaître la relation entre l'activité antifongique avec la teneur en polyphénols les extraits aqueux, préparés à partir d'*Eugenia caryophyllata*, de *Punica granatum* ayant montré un important pouvoir inhibiteur sur les isolats de *Fusarium spp.* testés ont été comparés à l'extrait préparé à base d'*Aloysia citrodora* à faible pouvoir antifongique. L'extrait aqueux à base d'*Aloysia citrodora* a été le plus riche en polyphénols avec une concentration de 74.8 $\mu\text{gEAG/gMS}$ et par degré moindre celui de *Punica granatum* avec une teneur de 64.5 $\mu\text{gEAG/gMS}$. Cependant l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* semblait le plus pauvre avec une teneur de 37.5 $\mu\text{gEAG/gMS}$ (Figure 22). Dans ce sens, le pouvoir antifongique des extraits de plantes testés n'était pas lié aux polyphénols totaux mais à d'autres composés chimiques en le comparant à leur pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne et .de la sporulation.

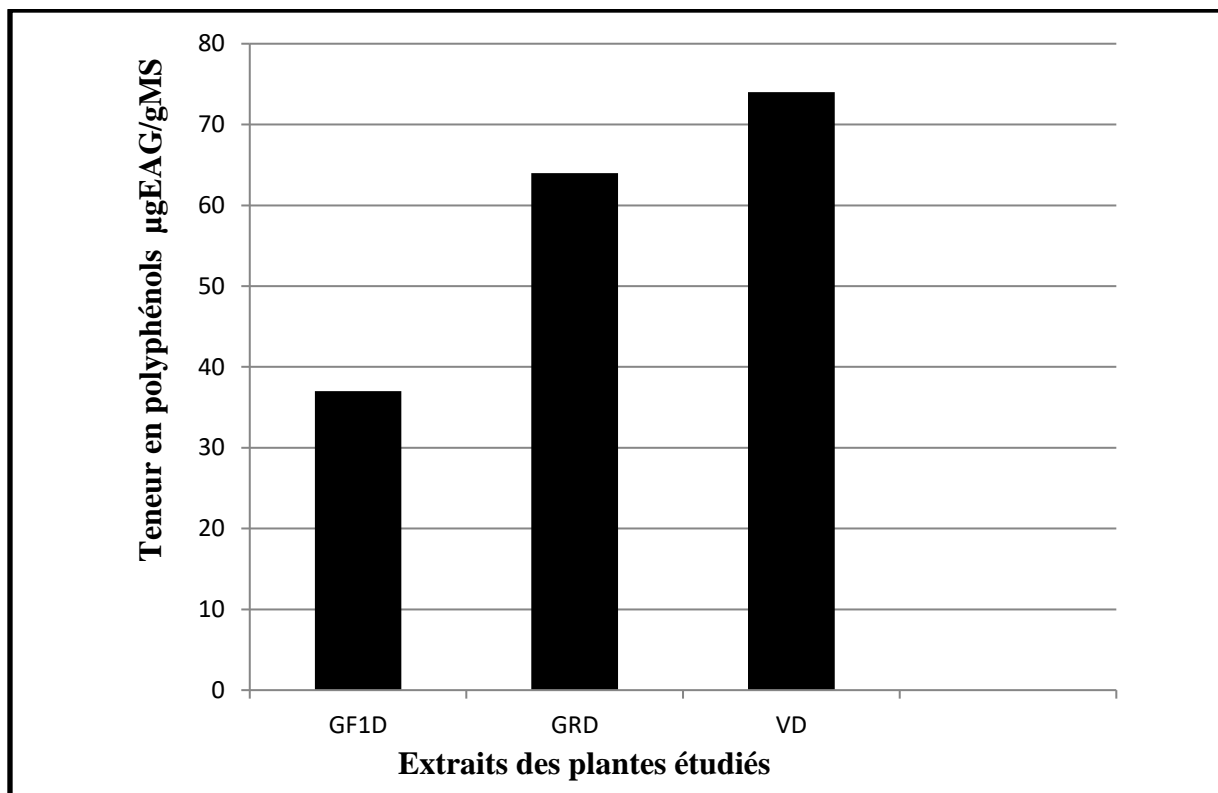


Figure 22: Teneur en polyphénols des extraits aqueux des plantes étudiés

-GF1D : *Eugenia caryophyllata*, GRD : *Punica granatum*, VD : *Aloysia citrodora*

En effet, les extraits aqueux des plantes étudiés étaient caractérisés par des odeurs fortes appétissantes et épicées particulièrement ceux d'*Eugenia caryophyllata*, d'*Aloysia citrodora*, de *Cinnamomum zeylanicum* et d'*Allium sativum*. Ainsi les caractéristiques organoleptiques de nos extraits de plantes testés corroborent avec celles décrites par de nombreux auteurs. Bruneton (1999) a révélé une faible odeur pour l'extrait aqueux à base d'*Allium sativum* mais qui se développe et devient forte et souffrée dès que les tissus sont lésés. (Benzeggouta , 2005) a souligné que les extraits aqueux à base de *Cinnamomum zeylanicum* et de *Lavandula stoechas* possèdent une odeur fortement parfumée et aussi singulièrement douce et chaude. Cependant l'infusé à base de *Punica granatum*, avec les caractéristiques sans odeur et sa couleur corroborent avec l'observation faite par Bruneton, (2009) qui a prouvé que l'unique coloration des grenades vient de la présence d'anthocyanosides.

Le screening phytochimique a révélé la présence des extraits de plantes étudiés en polyphénols sauf pour l'extrait d'*Allium sativum*. En effet, la présence des polyphénols et des saponosides dans quelques plantes étudiées a été confirmée par les travaux de Baptista et *al.*

(2015) sur l'activité antioxydante et antifongique de deux espèces de *Lavandula stoechas* en Portugal. Ils ont trouvé la présence des polyphénols et des saponosides dans leurs extraits. Nos résultats coïncident avec ceux de Soro et *al.*,(2008) qui ont mis en évidence la présence des polyphénols dans les extraits aqueux de *Lavandula multifida* par le screening phytochimique. La recherche de Patni et *al.*, (2012) ont montré la présence des mêmes composés dans l'écorce de *Punica granatum*. Khushwinder et *al.*,(2017) ont également cité la présence des polyphénols dans l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata*. Par ailleurs, l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* a également affirmé la présence des saponosides. Ceci a été confirmé par le screening phytochimique réalisé fait par Bendifallah et *al.*,(2015) dans la caractérisation des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* de la région montagneuse de Boumerdes, Algérie. Sharma et *al.* (2016) ont démontré à leur tour la présence des saponosides et polyphénols dans l'extrait à base de *Cinnamomum zeylanicum*. Cependant, l'absence de polyphénols et de saponosides dans l'extrait aqueux à base d'*Allium sativum* ne coïncide pas avec les travaux d'Ameh et *al.*(2013) qui ont confirmé la présence des saponosides dans l'extrait méthanolique de la même plante. Cette présence, peut être interprétée par la variation physiologique, environnementale, géographique et génétique chez la plante affectant son métabolisme secondaire.(Figueiredo et *al.*,2008)

Les teneurs en polyphénols de nos extraits de plantes sont confirmées par de nombreux travaux rapportés par la bibliographie. Podsedek, (2007) a montré une quantité élevée, 360 μ EAG/gMS de polyphénols dans l'extrait méthanolique d'*Aloysia citrodora*, de la région Teskreyia, Tunisie. D'après l'étude de Lairini et *al.*, (2014), une quantité de polyphénols de 18 μ g EAG/gMS a été enregistrée dans l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* de la région nord ouest du Maroc (Taounate), donc plus faible à ceux enregistrée dans nos extraits. Ces différences de concentrations peuvent être expliquées par la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques (Tawaha et *al.*,2007). Dans le même contexte, plusieurs auteurs ont prouvé que la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh et *al.*,2008). Podsek (2007) a également affirmé que la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques

(génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage).

L'étude du pouvoir antifongique *in-vitro*, réalisée selon la méthode de contact direct des extraits aqueux vis-à-vis de trois isolats de *Fusarium* spp. a montré un pouvoir inhibiteur variable en fonction de l'isolat fongique, de la plante utilisée et de la dose appliquée. Les isolats F1 et F2 semblent être les plus sensibles avec une inhibition supérieure à 90% pour l'ensemble des extraits aqueux testés particulièrement celui d'*Eugenia caryophyllata*. Cependant des taux d'inhibition faibles ont été enregistrés par les extraits à base d'*Allium sativum*, *Punica granatum* et *Pistacia lentiscus*, alors qu'il avait absence d'inhibition pour l'extrait à base d'*Aloysia citrodora*.

Selon l'étude de Soro et al. (2008), l'huile essentielle de *Lavandula multifida* L. du Maroca montré une zone d'inhibition d'un diamètre de 10.6 mm sur *Escherichia coli* à la concentration de 9.6µl/ml et un diamètre de 37.3mm à une concentration de 0.6µl/ml pour *Pseudomonas aeruginosa*. Nos résultats sont en accord avec la recherche de Vasconcelos et al.(2003) sur *Fusarium graminearum* ayant montré une grande sensibilité aux extraits de l'écorce de la *Punica granatum* en raison de la structure de la paroi cellulaire. Une autre étude a également confirmé l'efficacité de l'écorce de *Punica granatum* et *Citrus sinensis* vis-à-vis de *Fusarium graminearum* aux concentrations de 500 et 1000 µg/ml (Shatha et al.,2013).

Par ailleurs, l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eugenia caryophyllata* par Sharma et al.,(2016) a confirmé que leur pouvoir fongicide reste lié à la dose de l'extrait testé à l'égard de l'isolat de *Fusarium oxysporum*, avec une inhibition totale de sa croissance mycélienne et de sa sporulation à la concentration de 125 mg/L. Cet effet antifongique est du à la présence de composés phénoliques qui adhèrent à la membrane cellulaire en empêchant la croissance par la déstabilisation de l'ADN (Cowan ,1999). Le même résultat été prouvé par d'autres recherches qui ont lié l'activité antimicrobienne à la présence des polyphénols (Deans, 2002). Par ailleurs, *Eugenia caryophyllata* a été également valorisée pour ses extraits qui efficaces contre les agents pathogènes comme, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora* et *Pseudomonas syringae*pv. *Syringae* (Huang et Laksham, 2010). Son huile essentielle a été aussi utilisée dans le control de maladies causées par *B. cinerea*.

En conclusion, Les extraits de plantes précités ont montré une perturbation de la paroi des souches fongiques par adsorption des composés phénoliques suite à la complexation de

polysaccharides membranaires, comme conséquence de réduction de la fluidité des couches internes et externes de la paroi qui devienne défectueuse et sensible à la lyse osmotique des agents fongiques. Il est donc difficile d'associer l'activité antifongique à des composés simples ou des classes chimiques dont ils relèvent (Mishra et Dubey, 1994). Les effets inhibiteurs affichés peuvent être dues à des synergies entre les différents composés. (Altundag, 2011)

4. CONCLUSION

L'orge en culture hydroponique est sans doute la plante fourragère la plus exposée à la contamination fongique par le genre *Fusarium*. Son développement peut avoir plusieurs conséquences comme l'altération des propriétés organoleptiques, l'apparition de toxicité engendrée par les mycotoxines produites par ces agents fongiques, ainsi que la diminution de la valeur nutritive de l'orge. Dans ce contexte, notre présente étude a visé d'étudier l'activité antifongique des extraits aqueux à base de quelques plantes médicinales contre trois isolats de *Fusarium* spp. (F1, F2 et F3) issus des germes contaminées d'orge hydroponique en Algérie. Des extraits aqueux de plantes ont été préparés par décoction et infusion. Ils ont fait objet au screening phytochimique et avant leur évaluation de leur activité antifongique *in vitro* par la méthode de contact direct. En effet, l'extrait aqueux de plante ayant montré le pouvoir antifongique le plus important a été retenu pour tester son pouvoir inhibiteur aux concentrations de 37.5mg/ml, 75mg/ml, 112.5mg/ml et 150mg/ml. L'évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes testés a été basée essentiellement sur la croissance mycélienne pour l'ensemble des extraits de plantes testés mais sur la croissance mycélienne selon les différentes concentrations, la sporulation et la survie pour l'extrait au meilleur pouvoir antifongique. Une évaluation de la teneur en polyphénols a été réalisée pour l'extrait à pouvoir inhibiteur faible, moyen et important pour la corrélation entre l'activité antifongique et la teneur en polyphénols.

En général, les résultats du screening phytochimique ont montré la présence de polyphénols chez la majorité des plantes étudiées et l'absence des saponosides chez la plus part des plantes étudiées. Seul, l'extrait aqueux d'*Allium sativum* a montré une absence des polyphénols mais une forte présence de saponosides a été détectée dans l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus*.

L'étude du pouvoir antifongique, réalisée selon la méthode de contact direct des extraits aqueux vis-à-vis des trois isolats de *Fusarium* spp. a montré un pouvoir inhibiteur *in-vitro*

variable en fonction de l'isolat fongique, de la plante utilisée et de la dose appliquée. Les isolats F1 et F2 semblent être les plus sensibles, avec une inhibition supérieure à 90% pour l'ensemble des extraits aqueux testés particulièrement pour *Eugenia caryophyllata*. Cependant, une faible inhibition a été enregistrée par les extraits à base d'*Allium sativum*, de *Punica granatum* et de *Pistacia lentiscus*, alors qu'elle était absente pour l'extrait à base d'*Aloysia citrodora*. L'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* a révélé des activités antifongiques variables selon les isolats et les concentrations. En effet, les isolats F1 et F2 ont montré une sensibilité à la concentration de 75mg/ml. L'isolat F3 a montré une résistance aux deux premières dilutions. Il n'a montré l'inhibition qu'à partir de la concentration de 112.5mg/ml. Ainsi, l'extrait aqueux d'*Eugenia caryophyllata* a complètement inhibé la croissance mycélienne et la sporulation des isolats F1 et F2 à la concentration de 150mg/ml mais partiellement l'isolat F3. En revanche, une bonne croissance mycélienne (taux d'inhibition inférieure à 20%) a été enregistrée chez les isolats sous l'effet de l'extrait aqueux à base d'*Aloysia citrodora*. Cet extrait a montré une forte teneur en polyphénols (74.8mgEAG/gMS) comparé à celle de l'extrait aqueux à base d'*Eugenia caryophyllata* (37.2mgEAG /gMS) qui a montré un fort pouvoir inhibiteur vis-à-vis de l'ensemble des isolats de *Fusarium* spp. étudiés.

Les résultats obtenus indiquent que les isolats fongiques les plus sensibles sont les F1 et F2 par contre, F3 était le plus résistant. Il serait donc intéressant de poursuivre notre recherche sur les extraits de plantes à haut pouvoir inhibiteur pour réduire et éliminer ce dernier. Dans le but d'augmenter l'efficacité contre ces agents pathogènes, les composés des plantes sont plus efficaces en synergie, il est donc plus bénéfique de rechercher une autre méthode d'extraction pour augmenter le rendement des principes actifs à activité antifongique. On propose également, une étude d'identification des composés actifs d'*Eugenia caryophyllata*, refaire les tests antifongiques après extraction des principes actifs, on doit faire également une étude de l'effet des extraits sur la vitesse d'inhibition pour déterminer l'efficacité. Notre étude a été limitée à l'utilisation de quelques parties des plantes étudiées, nous proposons de faire une évaluation des autres parties de la plante *Eugenia caryophyllata*, rechercher plus de principes actifs efficaces. On doit s'étaler, rechercher et sélectionner d'autres plantes médicinales endémiques, faciles à cultiver pour leur exploitation en culture hydroponique. On a trouvé que les composés dans les extraits ne sont pas conservés pour une longue période, donc il sera plus bénéfique si on fait une lyophilisation des extraits pour fabriquer une poudre pour utiliser dans la conservation des graines visée pour la culture hydroponique. Comme la

poudre borique utilisée contre les insectes. Il serait très important aussi d'identifier les isolats fongiques étudiés par approche moléculaire pour connaître leur aptitude à la production de mycotoxines. Il est également intéressant d'expliquer la sensibilité et la résistance des isolats testés. Il serait aussi intéressant d'approfondir nos connaissances sur l'impact d'utilisation des extraits de plantes testés sur le pouvoir mycotoxinogène des isolats et rechercher une solution biologique contre l'isolat F3 de *Fusarium* spp. étudié.

Les références

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abbas K. and Abdelguerfi A., 2008.** Evaluation of a regenerated natural meadow in a semi-arid area of Algeria, *Option méditerranéenne*, 79:179-185.
2. **Alvarez C.L., Somma S., Moretti A., et Fernandez- Pinto V., 2009.** Aggressiveness of *Fusarium graminearum sensu stricto* isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology*, 158:173–181.
3. **Ali-Shtayeh M.S. et Ghdeib A .S., 1998.** Antifungal Activity of Plant Extracts Against Dermatophytes. *Mycoses*, 42 :12-13.
4. **Amarda J. et Barra A., 1992.** Taxonomic revision of *Aloysia* (Verbenaceae, Lantanae) in South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 41: 88-90.
5. **Ameh G., Eze S.C. and Omeje F.U., 2013.** Phytochemical screening and antimicrobial studies on the methanolic bulb extract of *Allium sativum* L., *African Journal, Biotechnology*, 12 :1665-1668.
6. **Anscombe F.J., 1948.** The transformation of Poisson, binomial and negative-binomial data. *Biometrika* 35(3-5): 246-254
7. **Altundag E. et Ozturk M. 2011.** Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia Social Behaviour Sciences* 19: 756 - 777.

B

8. Baba Aissa F., 1999.Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Edas., 368 p.

9. Bai G. and Shaner G., 1994. Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Disease*, 78: 760–766.

10. Bagamboula C.F. et Uyttendaele M. , 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, linalool against *Shigella sonnei*. *Food microbiology*, 21 : 33-42.

11. Bammou M., Slimani I. and Baoudi A. 2015. Valorisation du lentisque *Pistacia lentiscus L* : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of applied Biosciences*, 86 : 7966-7975

12. Baptista R., Madureira M.A., Jorge R. et Lopes M.,2015. Antioxidant et antimycotic activities of two native *Lavandula* species from Portugal, *Evidence-Based Complementary and alternative Medicine*, Article ID 570521, 10p

13. Belleti G., Ndagijimana M. and Sisto C.,2004. Evaluation of the antimicrobial activity of *Citrus* essences on *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal Agric. Food Chemistry*,52(23) :6932-6038.

14. Belaid D., 2014. Systèmes fourragers en Algérie, produire malgré le déficit hydrique, en ligne sur <http://www.djamel-belaid.fr/grandes-cultures-fourages-en->.(1 /09/ 2015).

15. Bendifallah L. , Benmafoud A. et Hameni S.,2014. Phytochemical study and *in vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus L*. in Bourmerdes moutainous region, Algeria. *Journal of Fundamental and Applied sciences*, 6(2) :229-237.

16. Benzeggouta N., 2005. Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Mémoire de Magister, Biotechnologie Alimentaire, Université des Frères Mentouri-Constantine, Algérie, 160p.

17. Booth N.L., Nikolic D. and Geller S.E., 2004. New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50 : 120-123.

18. Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie- phytochimie-plantes medicinales. 3^e édition *Technique & Documentation*, 1120 pages.

19. Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, pp.223-253.

C

20. Cadot V.,2016. Mosaïques de l'orge : identification des virus prédominants impactant sur le rendement et la qualité technologique, en vue d'orienter la sélection vers une résistance durable, Arvalis : <http://www.arvalis-infos.fr> , 30/03/2017

21. Charef M. and Yousfi M., 2008 , Medicinal and aromatic plants of the Middle east, Determination of the fatty acid composition of Acorn, *Pistacia lentiscus* seed growing in Algérie, *Oil chemistry Society*, 85 :921-924.

22. Cheng S.S., Liu Y., Hsui Y.R. et Chang S.T., 2006. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource Technology* 97: pp. 306–312.

23. Cowan M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 :564-582.

D

24. Deans S.G., 2002 .Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 5,p: 80–165

25 . Deina M. , Rosa A. and Casu V.,2003. Natural product: their chemistry and biological significance. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 80:65-70.

- 26. Dohou R., Yamni K., Tahrouch S., Hassani I.L., Badoc A. and Gmira N., 2003.** Screening Phytochimique d'une Endémique Ibero-marocaine, *Thymelaea Lythroides*. *Bulletin-Societe de Pharmacie de Bordeaux*, 142 :61-78.
- 27. Doohan F., Brennan J. and Cookie B., 2003.** Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109:755–768.
- 28. Dossier de grenadier**, faculté des sciences, Institute Klorane, Toulouse, France, 16p.
- 29. Domineco O., Wall R. et Russell R.** The encyclopedia of medical and veterinary Entomology : <https://books.google.dz>. (30/04/2013)
- 30. Demarquilly C.,1970 :** Evolution de la digestibilité et de la quantité ingerée des plants entiers des céréales entre la floraison et la maturation du grain, *Annales de Zootechnie*, 19 (4)413-422

E

- 31. Encyclopédie des plantes médicinales, 2001 ,** Identification, préparation, et soins. Larousse, France, 334p.
- 32. Experimental Phytochemistry, 2014 ,** The Phytochemical constituents and relative antimicrobial activities against clinical pathogens of different seed extracts, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Laboratory manuel, College of Pharmacy, King Saud University, Riyadh, 21 : 3-61.

F

- 33. FAOSTAT, 2016, Food and agriculture organisation of the United nations,** Production et consommation des céréales, [>faostat](http://www.fao.org/) . (Feb 9,2016)

34. Fatope M.O., Nuhu A.M. and Takeda Y.,1995., Cowpea weevi bioassay :a simple pre-screening for plant with grain protectant effects. *International Journal of pest Management*, 42(2) :84-86.

35. Feillet P., 2000. Le grain de blé composition et utilisation. *INRA*, Paris, 53p.

36. Fernando G.D., 2001. Occurrences, Distribution and Pathogenicity of the cowpea Root and stem Rot Pathogen, *Phytophthora vignae*, in sous of Sri Lanka. *Plant Disease*, 77 :1158-1164.

G

37. Goetz C.W. , 2004, Extraction techniques. *Analytical Sciences, Journal of Chromatography*, : 138-147.

38. Graniti A., 1992. Phytotoxins and their involvement. *Plant disease*, 41:751-755.

39. Gulfraz M, Waheed A, Mehmood S, et Ihtisham M. 2006. Extraction and purification of various organic compounds in selected medicinal plants of Kotli Sattian, district Rawalpindi, Pakistan. *Ethnobot Leaflets* 10: 13 - 23.

40. Guenther J. and Trail F., 2005. The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1) : 229-237.

41. Gupta A et Joshi V., 2014. Scientific evaluation of traditional plants having antidiabetic potential-a review. *World Journal of Pharmacy Science* 3: 496 - 507.

H

42. Handa S.S. , Khanuja S.P.S. et Longo G., 2008. , Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. International Centre for Science and Technology, Trieste, Italy : 266p.

43. Harborne J.B., 1989.General procedures and measurement of total phenolics. Plant phenolics, Vol 1. Academic Press, Londres, 552p.

44. Hibar K., 2002. La fusariose du collet et des racines de la tomate: pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement, Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, 54 p.

45. Hogan N., 2013, Mycotoxins produced by *Fusarium* and their effects on people and animals, professeur, Département de Science Animale, Toxicologie, Université de Saskatchewan, America, 33p

46. Huang Q. et Laksham D.K., 2010. Effect of clove oil on plant pathogenic bacteria and bacterial wilt of tomato and geranium. *Journal of plant Pathology*,92(3) : 701-707.

J

47. Jeane Afrique, 2016, La production Algérienne de céréales,(aôut, 30, 2016)

[www.jeanafrique.com>economie>production](http://www.jeanafrique.com/economie/production)

K

48. Kansole M.,2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques Lamiaceae du Burkina Faso, Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso, 124 p.

49. Keller S.E., Sullivan T.M. and Chirtel S., 1997. Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Industrial Microbiology Biotechnology*, 19: 305-309.

50. Kellouche A. et Soltani N., 2005. Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus*, *International Journal of Tropical Insect Science* Vol. 24, No. 1: 184-191.

51. Kunwar R.M. et Bussmann R.W. 2009. Medicinal plants and quantitative ethnomedicine: a case study from Baitadi and Darchula districts, far-west Nepal. *Journal of National History Museum* 24: 73 - 82.

L

52. Lairini S., Bouslamti R. et Zerrouq F., 2014. Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante. 1Equipe Bioindustrie et Technologie Alimentaire. Laboratoire Agroalimentaire et Sécurité Sanitaire des Aliments (LASSA). Université Sidi Mohammed Ben Abdallah, Maroc, 5 : 2314-2318.

53. Leroux P. and Gradet A. 1978. Effet de l'imazalil sur la biosynthèse de l'ergostérol chez *Penicillium expansum*, Academy of Science, Versailles, Paris, INRA, 13 :454-459

Lendvai B., Zelles T., Rozsa B, and Vizi E. 2002. Vinca alkaloid exchanges morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*, 59 (4) : 257-260.

54. Le Petite Larousse, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins. 2ème Edition, Edition Larousse. Paris, 1786p

M

55. Macheix J.J., Fleuriet A. and Sarni M., 2005. Les composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôles des polyphénols en agroalimentaire. Technology and Engineering, 2^{ème} édition, Paris: 510p.

56. Menaceur F. et Hazzit M., 2014, Comparative study of the chemical composition and antibiotic activity of essential oil extracts of *Aloysia citrodora* and *Rosmarinus Tourneforti*, *International Journal of Agricultural Science and Research*, Vol 4, December ,6 :139-146

57. Mc Mullen M., Jones R., Gallenberg D., 1997. Scab of wheat and barley: A Re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81(12), 1340-1348.

58. Miedaner T., 1996. Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. *Plant Breeding*, 116 : 201-220.

59. Mishra A.K. and Dubey N.K., 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Applied and Microbiology*, 60(4): 1101-1105.

60. Mohammedi Z., 2005. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister, Université Abou bakr belkaid, Tlemcen, 150p.

P

61. Patni S., Sah A.N, Meena H, Pandey H.K. et Manchanda A. 2012., Physico-chemical, phyto-chemical and elemental analysis of medicinal plants. *Journal of Advanced Applied Sciences Research* 3: 3624 – 3628

62. Phattayakorn K. et Wanchaita P., 2009. Antimicrobial activity of thai herb extracts against coconut milk spoilage microorganisms, *Kasetsart Journal of Natural Sciences*. 43: 752-759.

63. Pibiri A., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, Suisse, 198p.

64. Pousset J.L.,2004, Plantes médicinales africaines. Edition Ellipses, Professeur de pharmacognosie, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université de Poitiers : 160p

R

65. Rahal-Bouziane H., 2015. Caractérisation agro-morphologique des orges (*Hordeum vulgare* L.) cultivées dans les oasis de la région d'Adrar, Algérie. Thèse de magister en sciences agronomiques. Institut national d'Agronomie, Adrar, Algérie, 114p.

S

66. Sharma R., 2016. Effects of *Citrus* L. Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* L. *Van Tieghem. Microbiology. Research*, Apr, 21(4): 345-545.

67. Shatha A.S. and Saeed Z.,2013. Induced nephro-toxicity in rats. *Journal American Science*, 9(10) :20-25.

68. Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R.M., 1965. Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299: 152-178.

69. Simpson D.R., Weston G.E., Turner J.A., Jennings P., Nicholson P., 2004. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *European Journal of Plant Pathology*, 107 : 421-431.

70. Soro K., 2008. Antibacterial activity of *Lavandula multifida* against multiresistant strains of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Morocco, Laboratoire de Chimie, *Les Molécules Bioactives et l'Environnement*, Université Moulay, Morocco, 10p

T

71. Tawaha K., Alali F.Q. and Gharibeh M., 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4): 1372-1378.

72. Texier W., 2014. L'Hydroponie pour tous, tout sur l'horticulture à la maison. Rapport sur l'hydroponie moderne, Paris, France, 16p.

73. Turien G., 1968, Fungal sporulation, *Pathology and Microbiology*, Laboratoire de Microbiologie générale, Université de Genève, Suisse, 32(2)98-113

U

74. Unlu M., Ergene E, Unlu G.V., Zeytinoglu H.S et Vural N. 2010, Composition, Antimicrobial Activity and *In Vitro* Cytotoxicity of Essential Oil From *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae), *Food and Chemical Toxicology*, 48 :3274-3280.

V

75. Vasconcelos L.C. , Higinio J.S. et Sampaio M.C. ,2003. , Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis, *Mycoses*, 192-196

Y

76. Yang Y.C., Lee H.S., Lee H.S., et Clark L.M., 2005, Ovicidal and Adulticidal Activities of *Cinnamomum zeylanicum* Bark Essential Oil Compounds and Related Compounds Against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae), *International Journal for Parasitology*, 35 : 1595-1600

Z

77. Zaika, L. L. 1988. Spices and Herbs ,Their Antimicrobial Activity and Its determination" *Journal of Food Safety*,9 : 97-118.

Annexes

LES ANNEXES

Annexe 1

Tableau 7: d'acide gallique

Acide gallique					
[c] µg/ml	A1	A2	A3	MOYENNE	SD
10	0,197	0,213	0,227	0,21233333	0,01501111
40	0,489	0,511	0,506	0,502	0,01153256
80	0,959	0,959	0,96	0,95933333	0,00057735
120	1,104	1,341	1,321	1,25533333	0,13143947
160	1,666	1,695	1,68	1,68033333	0,01450287

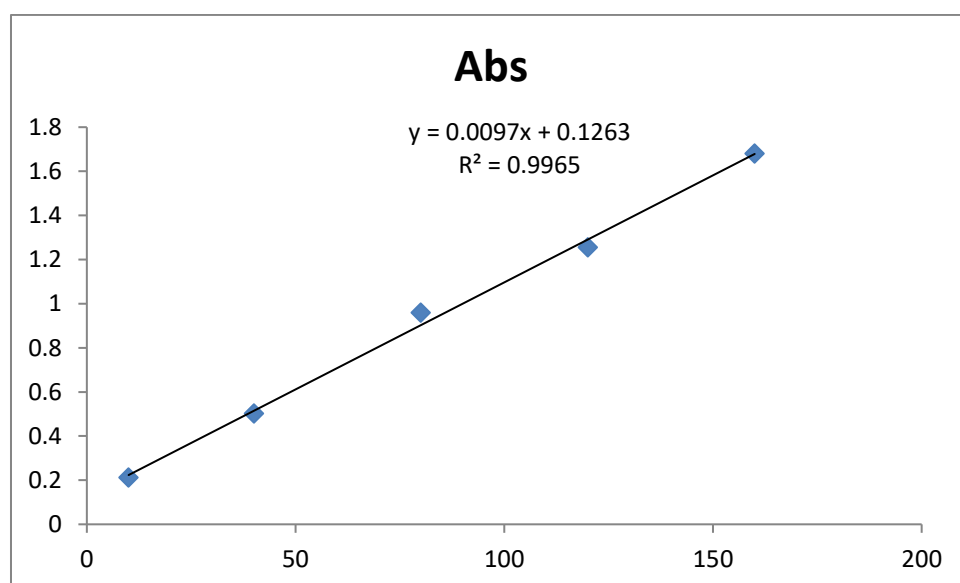
Annexe 2

Tableau 8 : Absorbance

[c] µg/ml	Abs
10	0,21233333
40	0,502
80	0,95933333
120	1,25533333
160	1,68033333

Annexe 3

Figure 22 : Courbe d'acide gallique



Annexe 4

Tableau 9: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Isolat	Extrait	Inhibition %
F1	VI	4%
F1	PI	4%
F1	GRI	0%
F1	VD	0%
F1	PD	16%
F1	GRD	47%
F2	VI	2%
F2	PI	1%
F2	GRI	28%
F2	VD	26%
F2	PD	42%
F2	GRD	25%
F3	VI	8%
F3	PI	0%
F3	GRI	0%
F3	VD	0%
F3	PD	0%
F3	GRD	3%
F1	PD	16%
F1	GRD	47%
F1	GF1D	100%
F1	CD	0%
F1	AD	43%
F1	LD	43%
F2	VD	26%
F2	PD	42%
F2	GRD	25%
F2	GF1D	100%
F2	CD	0%
F2	AD	32%
F2	LD	31%
F3	VD	0%
F3	PD	0%
F3	GRD	3%
F3	GF1D	100%
F3	CD	0%
F3	AD	0%
F3	LD	0%
F1	GF1D	100%
F1	GF2D	84%
F1	GF3D	70%
F1	GF4D	34%
F2	GF1D	100%

F2	GF2D	100%
F2	GF3D	75%
F2	GF4D	63%
F3	GF1D	100%
F3	GF2D	0%
F3	GF3D	0%
F3	GF4D	0%
F1	GF1D	100%
F1	GF1D	99%
F2	GF1D	98%
F3	GF1D	30%
F3	GF1D	28%
F3	GF1D	31%
F1	GF2D	99.9%
F2	GF2D	99%
F3	GF2D	32%
F3	GF2D	28%
F3	GF2D	29%
F3	GF2D	27%
F1	GF3D	96%
F2	GF3D	99.9%
F3	GF3D	33%
F3	GF3D	34%
F1	GF1D	100%
F1	GF2D	26%
F2	GF1D	100%
F2	GF2D	26%
F3	GF1D	100%
F3	GF2D	26%
F1	GF1D	100%
F1	GF2D	26%

Annexe 5

Tableau 10: Analyse de variance du taux d'inhibition

Source	Sum /squares	df	Mean/sq	p
ISO\$	1065.444 2	532.722	2.956	0.098
EXTRAIT\$	1199.111 5	239.822	1.331	0.327
Error	1801.889 10			
180.189				

Annexe 6

Tableau 11: Analyse de variance

Source	Sum /squares	df	Mean/sq	p
ISO\$	2428.321	2	1214.161	0.008
EXTRAITS\$	18251.631	6	3041.938	0.000
ERROR	1759.012	11	159.910	

Annexe 7

Tableau 12 : analyse de variance

Source	Sum /squares	df	Mean/sq	p
ISO\$	7874.000	2	3937.000	0.027
EXTRAITS\$	7507.000	3	2502.333	0.050
ERROR	3402.000	6		
	567.000			
Source	Sum /squares	df	Mean/sq	p
ISO\$	17674.928			
EXTRAITS\$	1.			
ERROR				

Annexe 8

Tableau 13 : Matériel pour les analyses phytochimiques and le dosage

Verrerie	Réactifs et produits chimiques
Béchers Pipettes 10ml, 1ml Flacons Tubes à essais	Reagent Folin Ciocalteu chlorure ferrique à 2%. Na ₂ CO ₃ Acide gallique Ethanol
Les autres matériels	
Papier aluminium Parafilm Bain marie Bec bensen L'eau distillée Etuve Spectrophotomètre Balance	