

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biotechnologies

Laboratoire de Recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales



Mémoire de fin d'Etudes

Pour l'obtention du Diplôme Master2
En

Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème :

**Activité antifongique des extraits d'*Allium cepa* L. sur les
moisissures (*Fusarium* spp.) inféodées à l'orge**

Présenté par : M^{elle} SELMANI Fatma zohra

Soutenu le : 01/07/2018

Devant le jury composé de :

M ^{me} MEFTI H.	M.C.A	Département biotechnologies USDB	Président
M ^{me} . MOUMENE S.	M.C.A	Département biotechnologies USDB	Promotrice
M ^{me} . GHANAI R.	M.A.A	Département biotechnologies USDB	Examinatrice

Promotion : 2017/2018

Remerciements

En préambule à ce mémoire de fin d'étude, on adresse nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

On tient à remercier M^r. BENDALI, qui, en tant que Chef d'option et de m'avoir donné la chance de faire ce master

On tient à remercier M^{me} MOUMENE S., qui, en tant que Promotrice, à accepter de proposer ce thème et de diriger ce travail et s'est toujours montrée à l'écoute tout au long de sa réalisation de ce travail, ses conseils, son aide.

Nos remerciements s'adressent également à M^{me} MEFTI H. Qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, M^{me} GHANAI R. qui a accepté d'examiner ce mémoire

Nos reconnaissances au Chef du laboratoire de mycologie et lutte antiacridienne de l'INPV d'El Harrach de m'avoir bien reçue et accordé l'autorisation pour la réalisation de ce travail.

On présente notre gratitude à M^r BELLATRECHE M., M^{me} BOUAKAZ K., M^{lle} HIND. Et *tout* le personnel de laboratoire de l'INPV d'El Harrach pour leur accueil, leur écoute et d'avoir mis à notre disposition tous les moyens humains et matériels afin qu'on puisse accomplir notre travail de pratique dans les meilleures conditions.

Un grand merci à M^{me} FERSAOUI K. pour sa précieuse aide et ses conseils sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail.

À tous mes proches et amis qui m'ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire. Ainsi qu'à toute personne qui a aidé de loin ou de près pour l'élaboration de ce mémoire

Merci tous

Dédicace

Un jour spécial, un souvenir inoubliable, un moment qui doit être enregistré dans nos têtes, tout ce sacrifice, tout le bonheur et la joie en ce moment-là ... c'est le jour de fin d'études, le jour de ma soutenance.

Je dédie ce modeste travail, cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon cher père et ma grande mère rabbi yarham'hom, je vous donne ce travail dans un plat d'or de la vie immortelle vers la vie infinie chez vous. ma chère maman qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études et dans tout ce long chemin, merci infiniment ma chérie pour être pas seulement une partie de ma vie mais toute ma vie, et pour être la source de mes efforts, celle qui a lutté pour m'offrir les conditions adéquates pour ma réussite.

Ma chère sœur Zahia et mes frères : Rabah et Larbi sans oublier mon fiancé Khalil pour leurs contribution, leur soutien et leur patience.

Ainsi qu'à toute ma famille paternelle et maternelle

Tous mes amis de l'université avec lesquels j'ai passé des années inoubliables, et en particulier Zarima, Amira, Hadjira, Amina, Omen et Salma, tout en leur souhaitant la réussite dans tout ce qu'elles entreprennent

Tous les enseignants du département de biotechnologies qui ont contribué à ma formation durant mes cinq ans

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment

Résumé

Activité antifongique des extraits d'*Allium cepa*L. sur les moisissures (*Fusarium* spp.) inféodées à l'orge

Notre travail a visé la recherche des extraits antifongiques à base d'*Allium cepa*L. vis à vis trois isolats de *Fusarium*spp. isolé de l'orge en culture hydroponique. Cette étude a nécessité l'utilisation d'un matériel végétal représenté par les feuilles et les écorces à partir desquelles des extraits aqueux ont été préparés selon deux méthodes d'extraction : par décoction et par macération à froid en utilisant séparément de chaque partie de plante l'Ethanol, l'Acétone et l'Acétate d'éthyle. L'hydrolat a été récupéré après extraction par hydrodistillation.

L'ensemble des extraits de plante ont montré un pouvoir antifongique sur les trois isolats de *Fusarium* spp. selon la méthode de contact direct. Le pouvoir inhibiteur des extraits étudiés a porté sur la croissance mycélienne, La sporulation, La germination et la survie *in vitro* des isolats de *Fusarium* spp. Une variabilité dans le pouvoir inhibiteur a été démontrée selon les isolats vis-à-vis les extraits testés. Le taux d'inhibition pour l'infusé de feuilles a montré une inhibition totale de la croissance mycélienne (100 %) des trois isolats, cette inhibition a été également confirmée sur la sporulation (100%) et la germination (100%) ainsi que sur l'inhibition de leur survie (100%).

L'extrait aqueux obtenu par infusion des feuilles d'*Allium cepa*L. a confirmé son pouvoir inhibiteur *in vitro* ce qui explique son pouvoir fongicide vis-à-vis les trois isolats de *Fusarium* spp.

Les résultats également affirmé que certains des extraits testés ont la capacité d'inhiber la croissance mycélienne temporairement mais après prolongation de la durée d'incubation, les isolats reprennent leur croissance mycélienne progressivement ce qui confirme leur pouvoir fongistatique.

Mots-clés : *Allium cepa*, *Fusarium* spp., Pouvoir antifongique, Extraits aqueux, Hydrolat, Inhibition.

Abstract:

Antifungal activity of extracts of *Allium cepa* L. on molds (*Fusarium* spp.) subservient to barley

Our work focused on the search for antifungal extracts based on *Allium cepa* L. against three isolates of *Fusarium* spp. subservient to barley in hydroponics. This study includes the use of plant material represented by leaves and bark from which aqueous extracts were prepared using two extraction methods: by decoction and by cold maceration, using three solvents Ethanol, Acetone and Ethyl acetate from each part of the plant. The hydrolate was recovered after hydrodistillation extraction. All of plant extracts showed antifungal activity on the three isolates of *Fusarium* spp. according to the direct contact method. The variability of inhibitory potency of the extracts studied focused on mycelial growth, sporulation, germination and *in vitro* survival of isolates of *Fusarium* spp. Variability in inhibitory potency has been demonstrated according to the isolates and the extracts. Variability in the inhibitory power has been demonstrated according to the isolates with respect to the extracts tested. The inhibition rate for the leaf infused showed a total inhibition of mycelial growth (100%) of the three isolates, this inhibition was also confirmed on sporulation (100%) and germination (100%) as well as on the inhibition of their survival (100%).

The aqueous extract obtained by infusion leaves of *Allium cepa* L. confirmed its inhibitory capacity *in vitro*, which explains its fungicidal power against the three isolates of *Fusarium* spp.

The results also indicated that some of the tested extracts have the ability to inhibit mycelial growth temporarily, but after extension of the duration the incubation period; the isolates gradually resume their mycelial growth gradually, which confirms their fungistatic power.

Keywords: *Allium cepa*, *Fusarium* spp, Antifungal potency, Aqueous extracts, Hydrolate, Inhibition

ملخص:

النشاط المضاد لمستخلصات البصل *Allium cepa* L على الفطريات الضارة للشعير (*Fusarium spp.*)

تهدف دراستنا الى ابراز مدى تأثير وأهمية مستخلصات عشبة البصل المسمى علميا ب *Allium cepa*

وذلك لتقييم مدى قدرتها على محاربة الفطريات السامة من نوع *Fusarium spp.* المعزولة من الشعير في الزراعة المائية.

تتطلب هذا الدراسة استخدام مواد نباتية ممثلة بأوراق الشجر واللحاء الذي يتم تحضير المستخلصات المائية منه وفقاً لطريقتين: من خلال الاستخلاص بالنقع والتقطير الباردي باستخدام كلجزء من النبات يشكلمنفصل وذلك باستعمال ثلاثة محاليل الإيثانول والأسيتون والأسيتاتيثيل. تم استرداد الهيدرولايت (الحللة المائية) بطريقة التقطير.

أظهرت المستخلصات المائية السابق ذكرها نشاطاً مضاداً للفطريات الثلاثة ل *Fusarium spp.* عن طريقة الالتماس المباشر. ركزت القوة المثبطة للمستخلصات التي تم دراستها على نمو الفطريات وقدرتها على انتاج الأبواغ وإمكانيتها على البقاء حية. وقد ثبت تباين واضح فيما يخص القوة المثبطة وفقاً للعزلات فيما يتعلق بالمستخلصات.

معدل التثبيط للمحلول المائي المستخرج من الأوراق المنقوعة للبصل قد اظهر قابلية للبقاء بنسبة (100%) على جميع العزلات الثلاثة، تم تأكيد هذا التثبيط على التبرؤض (100%) والإنبات (100%) وبالتالي البقاء (100%)

أكد المستخلص المائي الذي تم الحصول عليه عن طريق تقطع أوراق *Allium cepa* قدرتها المثبطة في المختبر فيما يتعلق بالعزلات الثلاثة من ثلاثتهم *Fusarium spp.* فقد كان له تأثير كبير في تحلل وتمزق وتشوه بنية الغزل الفطري وخفض عدد الأبواغ كذا واستئناف نشاط ونمو الفطريات من جديد. مع عدم استئناف نمو الفصائل الفطرية من جديد تؤكد لدينا ان لهذا المحلول قوة قاتلة للفطريات

اثبتت هذه التجارب أيضا ان للبعض من هذه المستخلصات القدرة على كبح نمو الفطريات وليس بالضرورة قتلها والقضاء التام عليها وهذا راجع الى نوع المحلول وطريقة الاستخلاص.

الكلمات المفتاحية: *Allium cepa*، *Fusarium spp.*، قوة مضادة للفطريات، مستخلصات مائية، تثبيط، استخلاص

Liste des tableaux

Tableau 1 :Espèces d'Allium cultivées (Foury et <i>al.</i> , 2003).....	04
Tableau 2 : Commerce international de céréales (quantités en millions de tonnes.(Agrest,2016)	09
Tableau 3 :Tableau représentatif des importations de blé dur, de blé tendre et de l'orge en quantité (tonne) et en valeur (millions USD) de l'année 2015 et 2016	10
Tableau 4 : Principales bactéries phyto-pathogènes affectant la céréaliculture.....	11

Liste des Annexes

Tableau 6 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.....Annexe1	
Tableau 7 :Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de trois souches de <i>Fusarium</i> spp.....Annexe2	
Tableau 8 : Analyse de variance de taux d'inhibition totale de la croissance mycélienne selon les extraits sur les trois isolatsAnnexe3	
Tableau 9 : Analyse de variance d'inhibition de la croissance mycélienne selon les trois isolats de <i>Fusarium</i> spp.....Annexe4	
Tableau 10 :Taux de germinationAnnexe5	
Tableau 11 :Analyse de variance de taux d'inhibition de la germinationAnnexe6	
Tableau 12 :Taux de la sporulationAnnexe7	
Tableau 13 : Analyse de variance de taux d'inhibition de la sporulationAnnexe8	

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie des feuilles et hampes florales des espèces légumières d' <i>Allium</i> (Foury et <i>al.</i> , 2003).....	5
Figure 2 : La reproduction chez <i>Allium cepa</i> var <i>cepa</i>	6
Figure 3 : Morphologie générale d' <i>Allium cepa</i> .(Tella botanica 2016).....	6
Figure 4 : Production céréalière, utilisation et stocks dans le monde (FAO, 2018).....	8
Figure 5 : Morphologie d'un épi d' <i>Hordeum vulgare</i>	13
Figure 6 : Production d'Algérie en céréale (tonnes) (FAO, 2015).....	15
Figure 7 :Caractères Morphologique de <i>Fusarium</i> spp. (Cadot ,2016).....	17
Figure 8 :Cycle biologique de <i>Fusarium</i> spp. (Guenther, 2005).....	18
Figure 9 : Feuilles d' <i>Allium cepa</i> au cours de séchage	25
Figure 10 :Protocole d'extraction de polyphénols totaux (Romani et <i>al.</i> , 2006).....	26
Figure 11 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux (Nishimiyimana et He, 2010)....	27
Figure 12 : Effet des extraits aqueux d' <i>Allium cepa</i> sur la croissance mycélienne sur L'isolat 1 du <i>Fusarium</i> spp.....	31
Figure 13 : Effet des extraits aqueux d' <i>Allium cepa</i> sur la croissance mycélienne sur L'isolat 2 du <i>Fusarium</i> spp.....	32
Figure 14 : Effet des extraits aqueux d' <i>Allium cepa</i> sur la croissance mycélienne sur L'isolat 3 du <i>Fusarium</i> spp.....	33
Figure 15 : Modification morphologique des isolats de <i>Fusarium</i> spp. étudiés selon l'effet des extraits d'oignon (x100).....	33
Figure 16 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium</i> spp. selon les extraits aqueux testés.....	35
Figure 17 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat de <i>Fusarium</i> spp souche 1 selon les extraits aqueux testés.....	36
Figure 18 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat de <i>Fusarium</i> spp. souche 2 selon les extraits aqueux testés.....	36
Figure 19 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat de <i>Fusarium</i> spp. souche 3 selon les extraits aqueux étudié.....	37

Figure 20 : Morphologie des spores de témoin et traité de l'isolat F3 de <i>Fusarium</i> sp (x100).....	38
Figure 21 : Inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Fusarium</i> spp souche 1 et 2 selon les extraits aqueux étudié.....	38
Figure 22 : Inhibition de la germination de l'isolat de <i>Fusarium</i> spp souche 1 selon les extraits aqueux étudié.....	39

List des Abréviations

ANOVA Analysis of variance

EAAL l'extrait aqueux à base d'*Allium cepa*

EA Acétate d'Ethyle

Dé Décoction

Et Ethanole

Ec Ecorces

FspL l'isolat fongique de *Fusarium spp*

FAO Food and Agriculture Organisation

Hyd Hydrolat

GLM Generalized Linear Model

GMS Grammes de matière sèche

Inf Infusion/infusé

Prb Probabilité

PD Potato Dextrose agar

Sommaire

INTRODUCTION	1
1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	
1. Généralité sur la famille des Liliaceae	3
1.2 Aperçu sur l'oignon.....	4
1.3 Généralité sur les céréales	7
1.4 Importance.....	8
1.5 Généralité sur l'orge	12
1.6 Problèmes phytosanitaires	15
1.7 Aperçu sur fusariose.....	16
1.7.2 généralités sur Fusarium spp.....	18
1.8 Généralité sur les mycotoxines.....	18
1.9 Les méthodes de lutte contre la fusariose.....	20
1.10 Méthodes d'Extraction Traditionnelles.....	21
1.10.1 Infusion.....	21
1.10.2	22
Décoction.....	
1.10.3 L'extraction des polyphénols avec de différents extraits.....	22
1.11 Etude du pouvoir fongicide des extraits aqueux des plantes.....	23
2. MATERIEL ET METHODES.....	
2.1 Introduction.....	24
2.2 Matériel biologique.....	24
2.3 Préparation des extraits de la plante étudiée.....	24

2.4 Extraction des polyphénols.....	25
2.5 Etude du pouvoir antifongique des extraits polyphénoliques et l'hydrolat d' <i>Allium cepa</i>	28
2.6 Analyse statistique.....	30
3. RESULTATS ET DISCUSSION	
3.1. Calcul de rendement.....	31
3.2 Activité antifongique sur les isolats de <i>Fusarium spp</i>	31
3.2.1 Pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne des isolats de <i>Fusarium spp</i>	31
3.3 L'analyse de la variance	35
3.4 Effet des extraits de la plante sur la sporulation.....	38
3.5 Effet des extraits de la plante sur la germination	39
3.6 Etude de la survie des isolats de <i>Fusarium spp</i> sous l'effet des extraits aqueux d' <i>Allium cepa</i>	40
4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	
4.1 Conclusion	42
5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXE	

Introduction

Introduction

L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est l'une des céréales les plus importantes dans le monde.

Cette culture a toujours occupé une place importante parmi les autres céréales (blé dur et tendre) en Algérie. Jusqu'à une certaine époque (1900), elle était à la tête des cultures destinées à l'autoconsommation humaine (Badr et al.,2000).

Aujourd'hui, l'orge occupe le quatrième rang dans la production céréalière mondiale. Elle est utilisée pour l'alimentation humaine, les malts de brasserie et son rôle dans l'alimentation animale a toujours été et reste fondamentale (Akar et al.,2004)

L'orge est la deuxième céréale en importance après le blé dur (Benmahammed et al.,2003).

Face aux nouveaux défis (changement climatique, crise économique mondiale, hausse des prix alimentaire), l'Algérie a très touchée par la désertification et par le manque d'eau, sera confrontée plus que jamais à des difficultés pour assurer la sécurité alimentaire. (Rahal-Bouziane.,2015)

A cause de cette crise diverses techniques d'hydroponie furent adoptées à travers le monde (Texier.,2014). Cette culture présente plusieurs avantages comme le contrôle de la nutrition, la conservation de l'eau, de meilleures rendements et meilleures qualités de l'orge aussi que 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 moisissures qui attaquent et détériorent la qualité des céréales par la production de mycotoxines. Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsable d'environ 70% des maladies des plantes cultivées (Deacon.,2005)

La lutte chimique contre la maladie de fusariose doit être raisonnée compte tenu de la possibilité d'apparition de biotypes du pathogène résistants à divers fongicides. Ces phénomènes de résistance constituent un problème dans la lutte (Boungab, 2013)

Dans ce sens, notre présente étude vise la valorisation des extraits préparés à partir d'*Allium cepa* L., contre la Fusariose de l'orge au cours du stockage dans les chambres hydroponiques. Ce travail porte sur la détermination du pouvoir antifongique de ces extraits sur les isolats de *Fusarium* spp. prélevés de l'orge, de production locale.

Allium cepa Lest l'espèce la plus commune des oignons en Algérie. Elle est utilisée traditionnellement par la population locale, et notamment dans la préparation de quelques plats.L'oignon (*Allium cepa* L.), de la famille des Liliacées, est un légume utilisé pour ses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques (Roldan et al., 2009).

L'oignon est une plante médicinale possédant un goût piquant et une odeur prononcée. Il comprend essentiellement du fructosane, de l'alliine, de la cépaline et du flavonoïde. Il contient également des saponines, des composés sulfurés et du sélénium. L'oignon se décline en 4 espèces, l'oignon jaune, l'oignon blanc, l'oignon rouge et l'oignon rose.

2. Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1 Introduction :

Notre étude expérimentale s'est étalée sur une période de 5 mois de février à la fin du mois de juin de l'année 2018 au niveau des laboratoires suivants :

- ❖ Laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales au Département de Biotechnologie, Faculté SNV, Université de Blida1, pour L'extraction des polyphénols.
- ❖ Laboratoire de Lutte Antiacridienne et laboratoire de Mycologie de l'INPV d'El Harrach.

Ce travail nécessite l'utilisation d'un matériel biologique constitué d'un matériel végétal et d'un matériel fongique et le suivi rigoureux d'un protocole expérimental ainsi qu'une analyse statistique des résultats obtenus.

2.2 Matériel biologique

2.2.1 Matériels végétal

Notre étude a été réalisée sur les feuilles, les écorces et les déchets d'*Allium cepa*, achetée en Décembre 2017, d'un marché de légumes, la région de KOLEA, Wilaya de Tipaza.

Les échantillons de la plante étudiée ont été séparée et mis à sécher à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant un mois pour servir à l'extraction de polyphénols, et stockés à l'abri de l'humidité et la lumière.

2.2.2 Matériel fongique :

L'activité antifongique a été évaluée sur 3 isolats de *Fusarium* spp. (F1, F2 et F3, in Chiwawa, 2017). Ces isolats fongiques issus des échantillons de culture hydroponique de l'orge fourragère de la variété locale « Saïda » ont été purifiés, identifiés comme isolats de *Fusarium* spp et conservés à l'abri des contaminations (Communication Personnelle de Mme Moumene, 2017). Ils ont fait l'objet de deux mémoires de fin d'étude de Master 2 (Chiwawa, 2017), (Merrouki, 2017)

2.3 Préparation des extraits de la plante étudiée

Cette étude a porté sur les composés phénoliques, extraites de la plante *Allium cepa* (oignon) à partir des feuilles, des écorces de deux variétés de plante (variété rouge et jaune).

2.3.1 Séchage et broyage

Les feuilles et l'écorce d'*Allium cepa* ont été séchées durant un mois à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour mieux conserver les molécules sensibles à la chaleur et à la lumière.

Après séchage, les feuilles et l'écorce ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

Cette dernière a été stockée dans des sachets en papier ombrés bien fermé et conservée jusqu'à l'utilisation.



Figure 09 : Feuilles d'*Allium* au cours de séchage

2.3.2 L'extraction

2.3.3 Extraction de l'hydrolat :

L'extraction aqueuse de l'hydrolat obtenue à partir d'*Allium cepa* par hydrodistillation en utilisant un appareil du type Clevenger. Ce dernier a été récupéré de cette extraction

En effet, 60g de la poudre végétale de la plante ont été introduits dans un ballon à fond avant d'y ajouter de l'eau distillée jusqu'à sa moitié, ce dernier a été mis dans un chauffe ballon.

L'extraction a duré trois heures pour la récupération de l'hydrolat respectivement dans un flacon en verre stérilisé, conservé à une température de 4°C jusqu'à son utilisation.

2.4 Extraction de polyphénols totaux

2.4.1 Macération :

Dans la présente étude, la méthode utilisée est celle de l'extraction par macération, en utilisant un solvant polaire afin d'obtenir des extraits enrichis de composés phénoliques. (Venturini, 2010).

L'extraction des polyphénols totaux a été effectuée en utilisant trois solvants l'Ethanol, l'Acétone et l'Acétate d' Ethyle.

Nous avons opté pour le protocole décrit par (Romani et al., 2006) en y apportant quelques modifications. La méthode d'extraction de l'extrait éthanolique est résumée dans la (Figure 10)

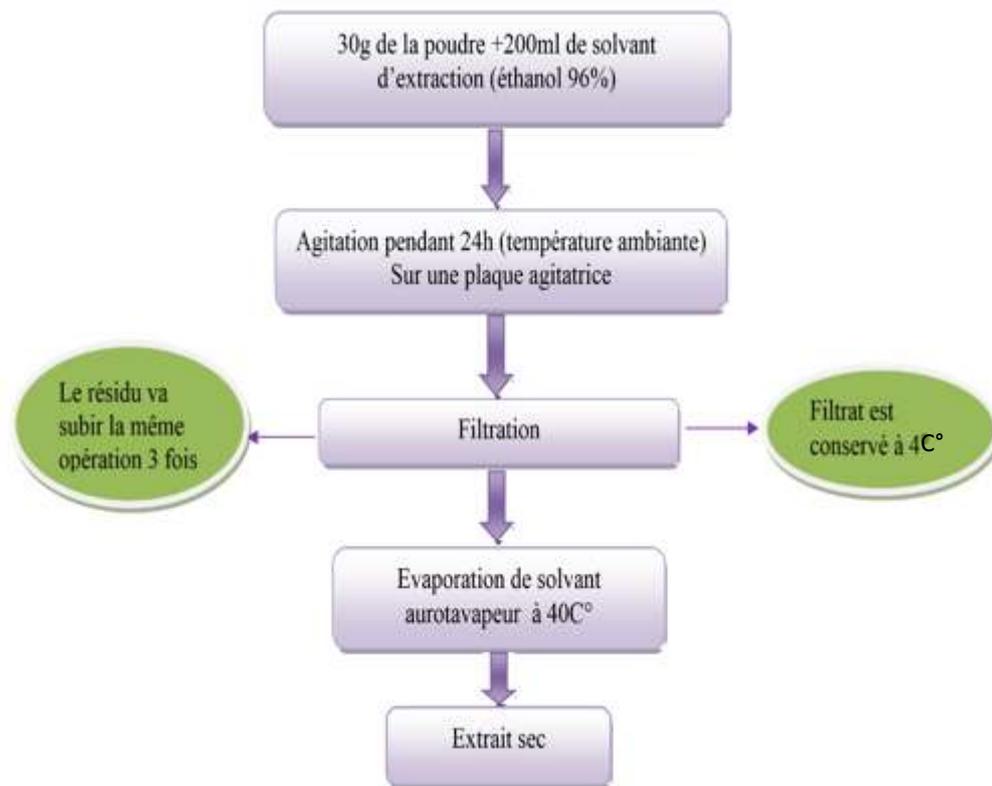


Figure10: Protocole d'extraction de polyphénols totaux (Romani et al., 2006)

La méthode d'extraction des polyphénols totaux selon le protocole de (Mohammedi, 2013). En apportant quelques modifications.

30 grammes de matière végétale (Feuilles et écorce) ont été extraits par macération sous agitation magnétique pendant 24 heures avec successivement chacun des systèmes de solvants suivants : acétone/eau (70/20 : v/v) et acétate d'éthyle (Goni et al.2005). Les macérât ont été ensuite filtrés sur du papier wattman et les filtrats ont été évaporés à sec sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapor). Les extraits secs obtenus ont été ensuite conservés au réfrigérateur à 4° C jusqu'à l'utilisation.

2.4.2 Extraction par infusion

Cette méthode d'extraction décrit par (Nishimiyimana, 2010) a été réalisée selon le protocole résumé par la (Figure 11)

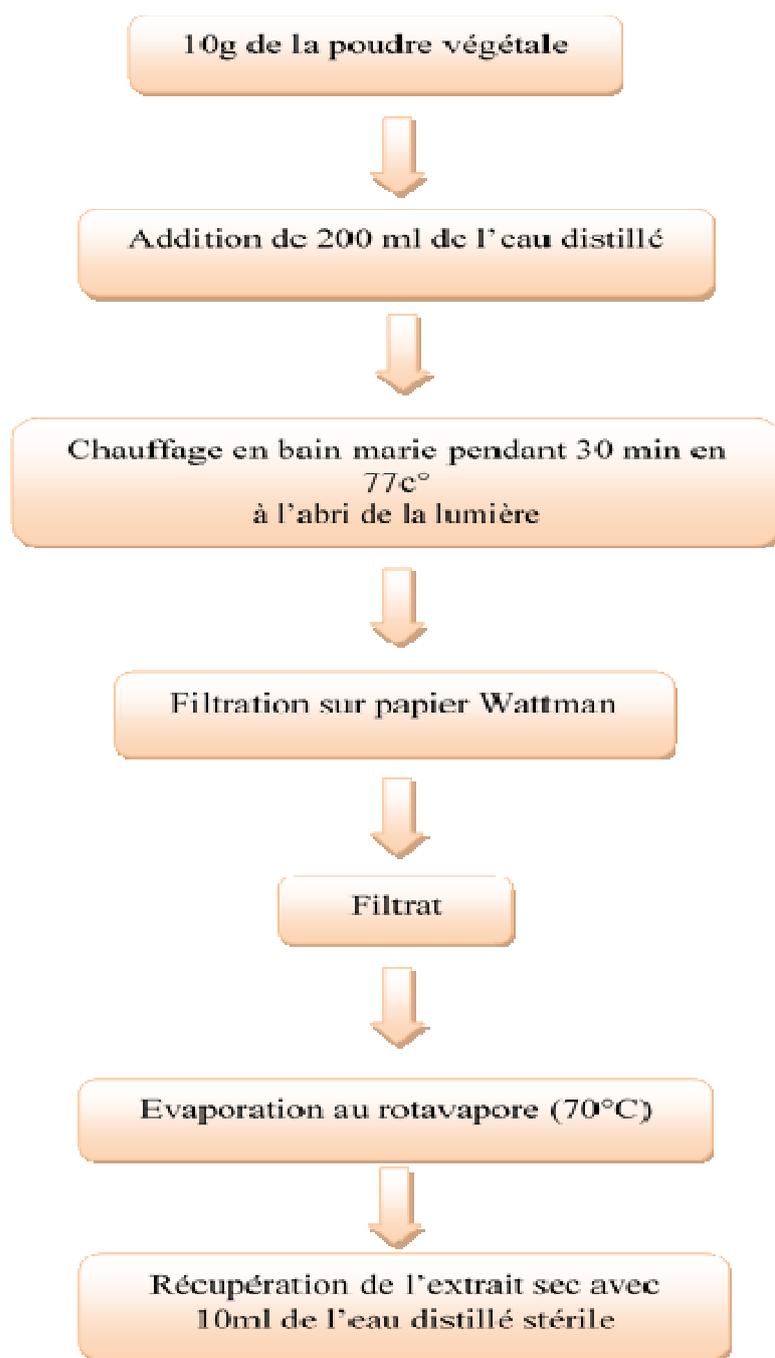


Figure 11 :Protocole d'extraction des polyphénols totaux (Nishimiyimana et He, 2010)

2.5 Etude du pouvoir antifongique des extraits polyphénoliques et l'hydrolat d'*Allium cepa*

2.5.1 Introduction

L'activité antifongique des extraits aqueux et de l'hydrolat ont testés 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'effet des extraits testés a été évalué sur l'aspect cultural et morphologique des isolats témoins et ceux qui ont été développés sous l'effet des extraits aqueux des plantes étudiés en comparant avec les isolats témoins. L'aspect cultural a été décrit par observation visuelle des cultures. Quant à la morphologie elle a nécessité des préparations de cultures pour l'observation microscopique à l'aide du microscope photonique au grossissement (X500) (Turien, 1968).

2.5.2 Méthode de contact direct

1 ml de chaque extrait aqueux ou de l'hydrolat a été placé séparément dans des boîtes Pétries de 90 mm de diamètre, en ajoutant 15 ml du milieu PDA stérile en surfusion. Les boîtes de Pétri ont été agitées manuellement pour homogénéisation de l'extrait avec le milieu de culture. Par contre les boîtes de témoins ont été préparées à 15 ml de PDA seulement.

La préparation a été effectuée sous hôte à flux laminaire, dans les conditions d'asepsie. Les boîtes ainsi préparées ont été mises à refroidir à l'abri des contaminants.

Après solidification du milieu les disques mycéliens de 5 mm de diamètre de chacune des isolats de *Fusarium* spp. ont été repiqués à l'aide d'une pipette Pasteur par le dépôt du disque mycélien au centre de la boîte. Les boîtes ont été toutes fermées avec un parafilm avant l'incubation. En effet, trois répétitions ont été réalisées pour chaque isolat et chaque extrait. Le milieu PDA sans extrait a servi de témoin pour chaque isolat (Mishra et Dubey, 1992). L'incubation des boîtes a été réalisée durant 7 jours à la température de 30°C (Mohammedi, 2005).

Les paramètres suivants ont été suivis pour l'évaluation des taux d'inhibition des isolats testés et ceux des témoins : la croissance mycélienne déterminée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre du disque mycélien déposé, les modifications de l'aspect morphologique par observation vitale des cultures développées, la sporulation exprimée par le comptage des spores par le biais de la cellule de Malassez, ainsi que la survie.

2.5.3 Etude de l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de

Fusarium spp.

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont été calculés selon la formule décrite par Pandey et al. (1982), et rapportée par Sharma et Tripathi (2008) :

$$IG = (d_0 - d_t) / d_0 \times 100$$

Où : IG = taux d'inhibition de la croissance mycélienne (en %), d_0 = moyenne des diamètres de la colonie fongique du témoin (en mm), d_t = moyenne des diamètres de la colonie fongique du traitement (en mm).

2.5.4 Etude de l'inhibition de la sporulation et germination des isolats de

Fusarium spp.

Les cultures d'isolats fongiques développées sous l'effet des extraits aqueux et l'hydrolat testés ainsi que ceux des témoins, après une période d'incubation de 21 jours à 30°C, dont on a prélevé deux disques de 5 mm de chaque isolat des espèces fongiques étudiées à l'aide d'une pipette pasteur et mis en contact direct avec 10 ml d'eau distillée stérile dans des tubes à essai stérilisés, puis ont été soumis à l'agitation à l'aide d'un agitateur vortex.

Les suspensions conidiennes récupérées de chacun des trois isolats de *Fusarium spp.* ont fait l'objet de détermination du nombre des spores germées et non germées par le biais de comptage à l'aide d'une cellule de Mallassez sous microscope optique, au grossissement (x100)

Les taux d'inhibition ont été calculés pour la sporulation et la germination respectivement selon les formules décrites par (Hmouni., 1996) . Suivantes :

$$IS(\%) = \frac{(ST - St)}{ST} \times 100$$

Chapitre 2 Matériel et méthodes

Ou : IS(%): Taux d'inhibition de la sporulation, ST(conidies/ml): Concentration en conidies de l'inoculum témoin et St(conidies/ml): Concentration en conidies de l'inoculum traité pour les extraits de plante. Par ailleurs, le pourcentage d'inhibition de la germination

2.5.5 Etude de la survie des isolats de *Fusarium* spp sous effet des extraits aqueux de la plante étudiée

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 de chaque partie de la plante utilisée 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)

2.6 Analyse statistique

Afin de mettre en évidence l'efficacité des différentes préparations à partir d'*Allium cepa* vis-à-vis les isolats de *Fusarium* spp. et pour faire une comparaison entre le pouvoir antifongique *in vitro* sur les différents paramètres biologiques de l'agent pathogène à savoir, la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie sur les trois isolat fongiques étudiés, des analyses statistiques ont été effectuées. Les moyennes de chaque essai dans notre étude ont été calculées et classées à l'aide de logiciel Excel 2016. Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel SYSTAT7 (2004). le test de la variance « ANOVA » et du modèle GLM (Generalized Linear Model). Les différences ont été considérées comme significatives pour $P \leq 0,05$ (Philippeau, 1989).

3. Résultats et discussion

3.1 Activité antifongique sur les isolats de *Fusarium* spp.

3.1.1 Pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

Les extraits aqueux et l'hydrolat préparés à partir d'*Allium cepa* (oignon) ont montré une variabilité du pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne de l'isolat F1, F2 et F3 de *Fusarium* spp.

Les trois isolats de *Fusarium* spp. étudiés ont montré une variabilité dans leur croissance mycélienne selon l'effet des extraits d'oignon testés

Une faible croissance mycélienne a été enregistrée sous l'effet inhibiteur des extraits éthanoliques 2 et 3 (Figure 12).

Par ailleurs, l'infusé 2 a montré une activité inhibitrice complète sur l'ensemble des isolats de *Fusarium* spp étudiés. Cependant, les isolats étaient tous résistants à l'activité de l'hydrolat d'*Allium cepa*

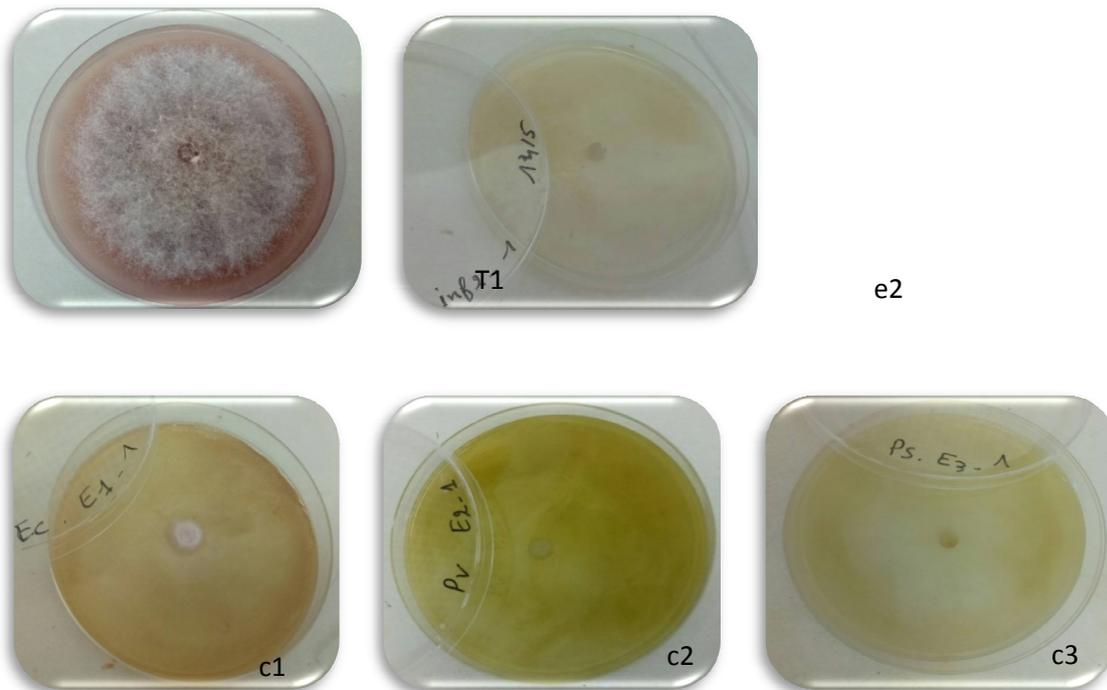


Figure 12 :Effet des extraits aqueux d'*Allium cepa* sur la croissance mycélienne sur L'isolat F1 du *Fusarium* sp.

Ethanol

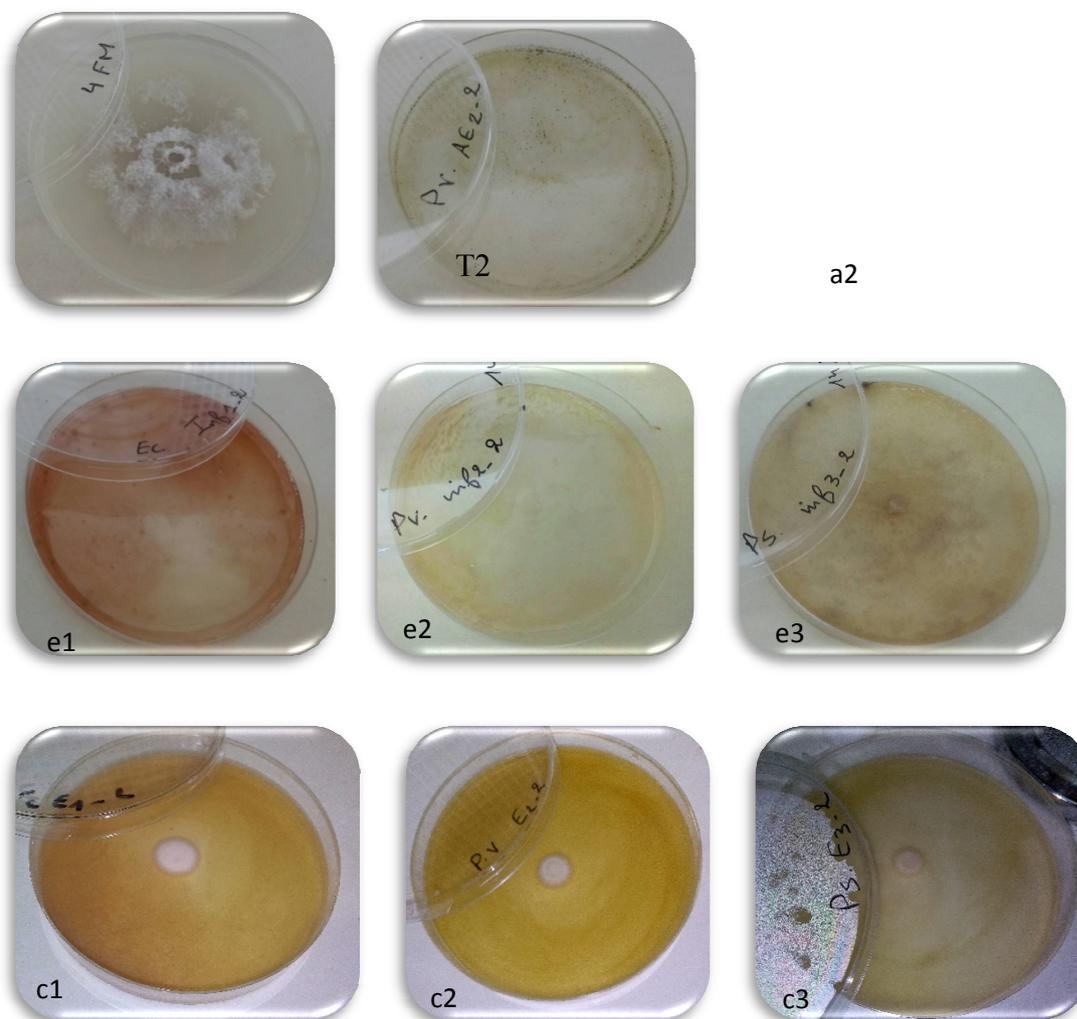


Figure 13 :Effet des extraits aqueux d'*Allium cepa* sur la croissance mycélienne sur L'isolat F2 du *Fusarium* sp.

variété

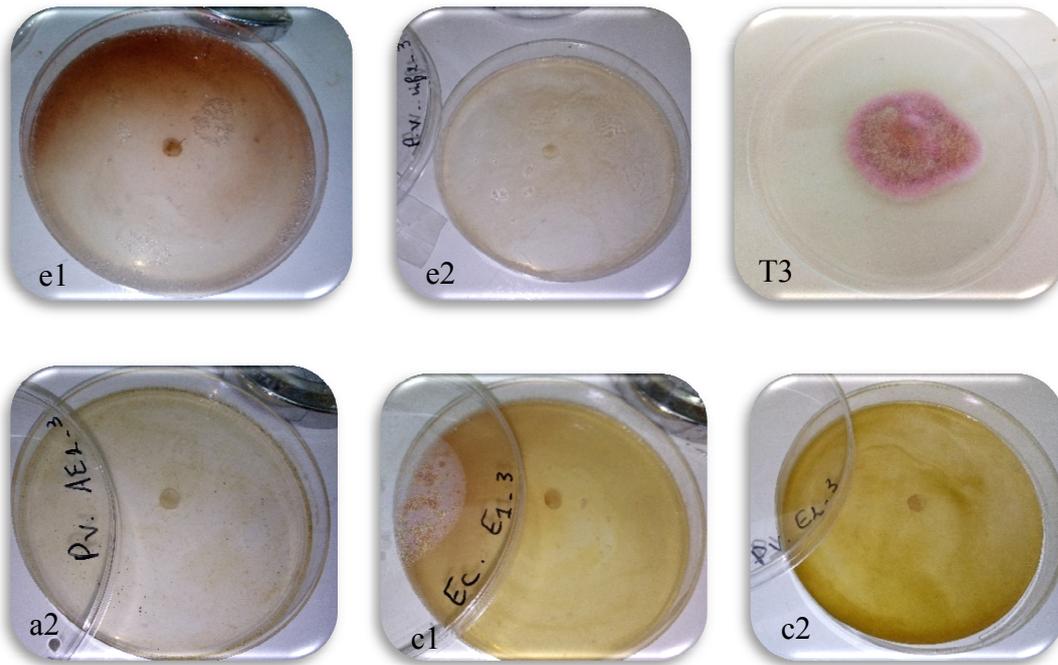
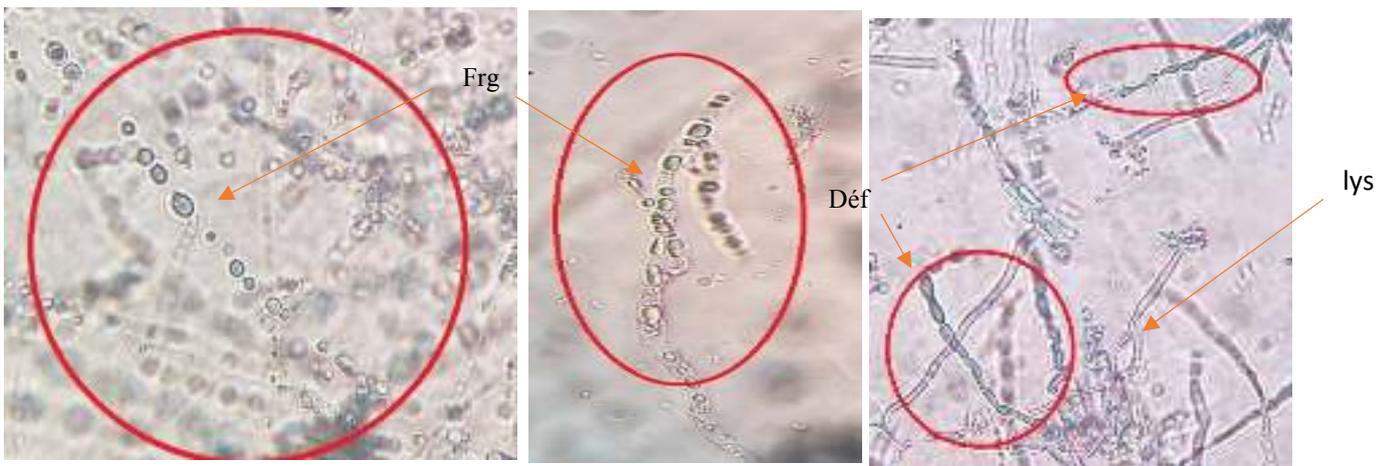


Figure 14 :Effet des extraits aqueux d'*Allium cepa* sur la croissance mycélienne sur L'isolat F3 du *Fusarium* sp.



Frg : Fragmentation, Lys : Lyse, Dfr : Déformation

Figure 15 : Modification morphologique des isolats de fusarium spp. étudiés selon l'effet des extraits d'oignon (x100)

Selon les observations macroscopique, la croissance mycélienne de l'isolat F1 a montré une inhibition totale (100%) avec l'ensemble des extraits (l'Infusé2, l'Ethanol 1,2 et 3) selon la (Figure 12)

L'isolat F2 a montré aussi une inhibition totale (100%) avec (l'Infusé 2et 3, l'Acétate d'éthyle 2, et l'Ethanol 1,2 et 3) selon la (Figure 13).

La croissance mycélienne de l'isolat F3 été inhibé également avec un taux de (100%) avec les extraits suivant (l'Infusé 1et2, l'Acétate d'éthyle2, l'Ethanol 1et 2)

Cela indique que les extraits aqueux préparé à partir de l'oignon ont un pouvoir inhibiteur très fort sur les trois isolats de *Fusarium* spp.

Pour le reste des extraits on' a enregistré une inhibition forte et faible selon les extraits vis-à-vis les trois isolats fongique.

Cette inhibition importante peut être traduite par l'effet fongicide des extraits d'oignon préparés, qui a été montré par la lyse mycélienne aussi que la digestion du contenu mycélien et des conidies ce qui induit une inhibition de sporulation et de la croissance mycélienne.

(Figure21)

On 'a remarquer que l'infusé 2 est l'extraits commun pour son pouvoir inhibiteur sur les trois isolats F1, F2 et F3. Cela confirmé avec la modification de mycélium et l'apparition de lyse et des fragments **(Figure15)**

3.3 L'analyse de la variance

Letaux d'inhibition de la croissance mycélienne a montré une différence nonsignificative selon les trois isolats de *Fusarium* spp.et les extraits testées. ($P=0.327$, $P\leq 0.05$)

Globalement, tous les extraits ont montré un effet inhibiteur qui voisinait 50% jusqu'à 74% (Figure 16)

Les résultats d'analyse de variance ont confirmé que le taux d'inhibition de la croissance mycélienne est varié selon les extraits de l'oignon vis-à-vis les trois isolats de *Fusarium* spp.

Cela avec une différence très hautement significative ($P=0.00 < P=0.005$) avec les trois isolats et les extraits testés.

La croissance mycélienne sous l'effet des extraits après classée les isolats dans l'ordre décroissant suivant : F2, F3 et enfin F1 (figure15)

On ce qui concerne S1, des taux d'inhibition très importants ont été enregistré particulièrement vis-à-vis l'effet des extraits c1, c2, e2, e3.

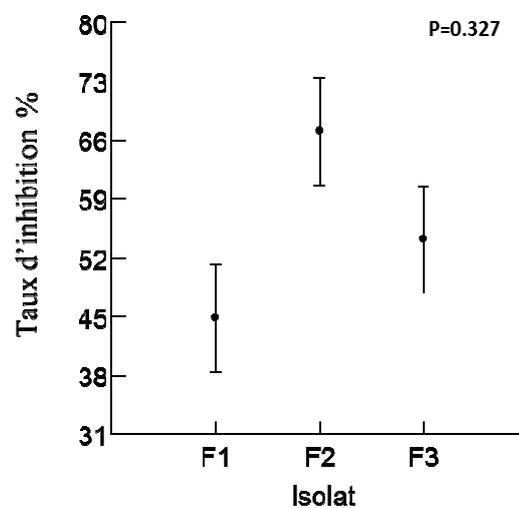
Et F2 une inhibition de 60% et se rapprocher de 80% a été enregistré pour a2, c2, c3, e1, e2, e3.

L'isolat F3 a montré des taux moins important voisinait a 50%.

Les Solvant a haut pouvoir inhibiteur sont a2, c2, c3, e1, e2, e3. Avec une sensibilité de (52%) pour l'isolat F1 (Figure 17), et

Pour l'isolat F2 une inhibition de (76%) a été enregistrer (Figure18) et (61%) pour l'isolat F3 (Figure19)

Dans cette étude on peut dire que l'isolat F1 est la plus résistant aux traitements et l'isolat F2 est la plus sensible.



F1: isolat 1, F2 : isolat2, F3 : isolat3

Figure 16: Inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. selon les extraits aqueux testés

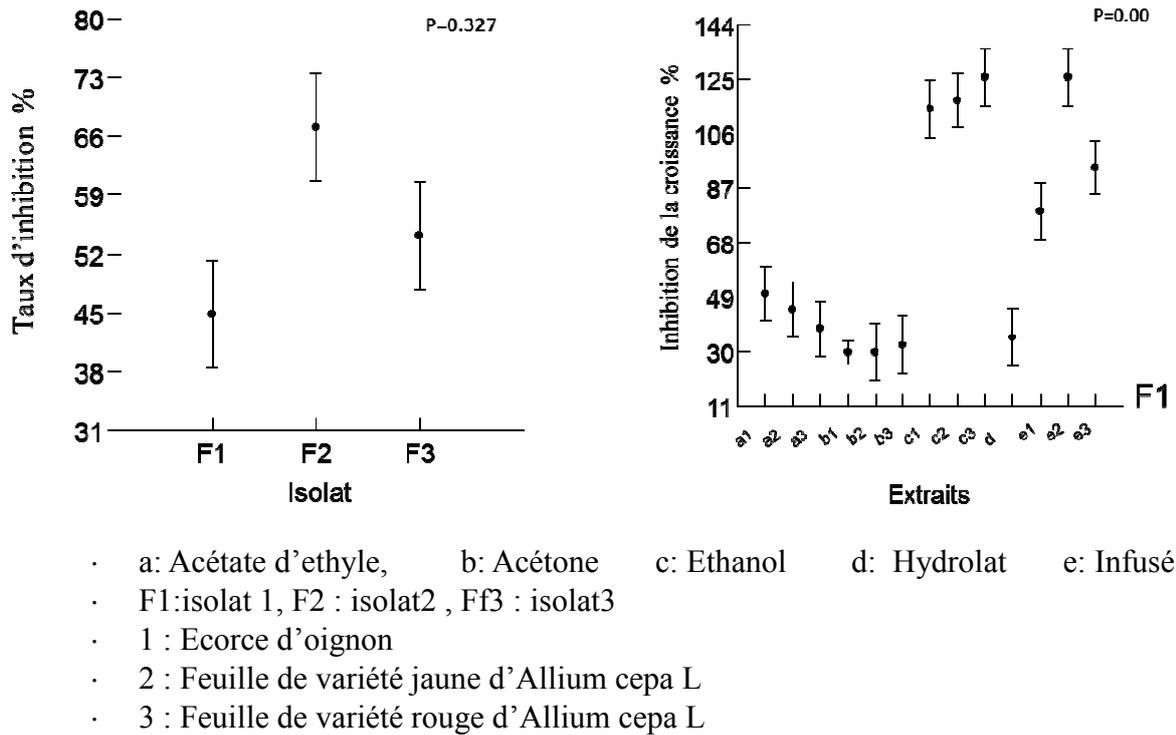


Figure 17: Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat F1 de *Fusarium* sp. selon les extraits aqueux testés

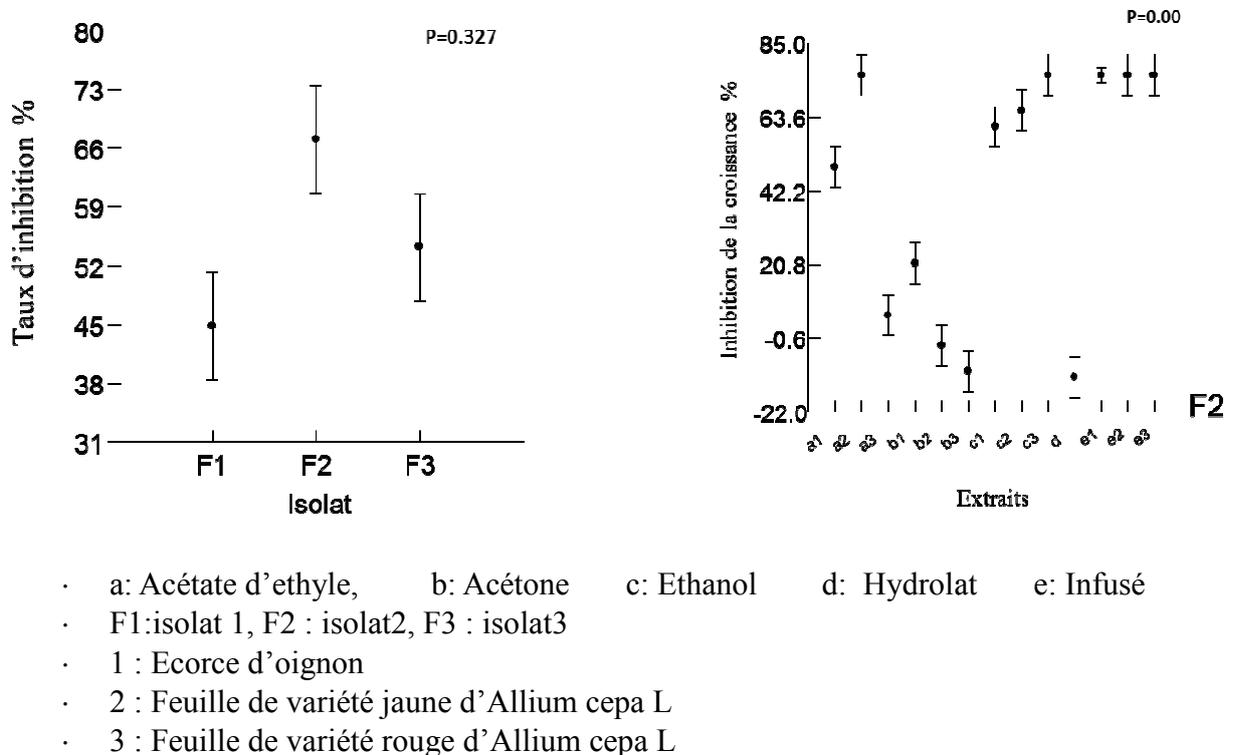
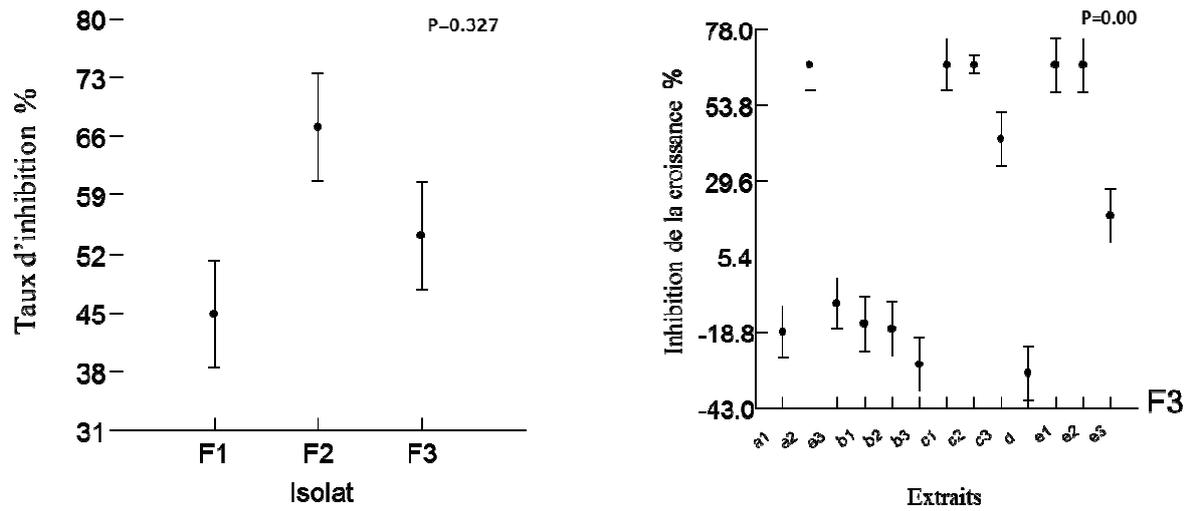


Figure 18 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat F2 de *Fusarium* sp. selon les extraits aqueux testés



- a: Acétate d'ethyle, b: Acétone c: Ethanol d: Hydrolat e: Infusé
- F1: isolat 1, F2 : isolat2, F3 : isolat3
- 1 : Ecorce d'oignon
- 2 : Feuille de variété jaune d'Allium cepa L
- 3 : Feuille de variété rouge d'Allium cepa L

Figure 19 : Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat F3 de *Fusarium* sp. selon les extraits aqueux étudié

3.4 Effet des extraits de la plante sur la sporulation

Pour la sporulation et la germination on 'a utilisé la cellule de Mallasses pour compter le nombre totale des spores germé et non germé, dans cette étude on 'a remarqué que le taux de germination des spores a été presque an un taux de 100% pour chaque extraits et chaque isolat fongique.

On'a trouver qu'il y a une différence selon le plan morphologique des spores de F3, avec une inhibition très forte de nombre de spores sur l'ensemble des isolats de *Fusarium* spp.

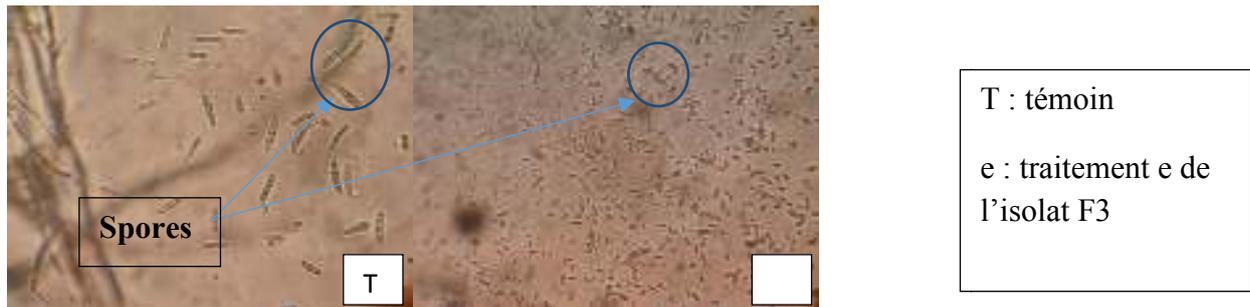
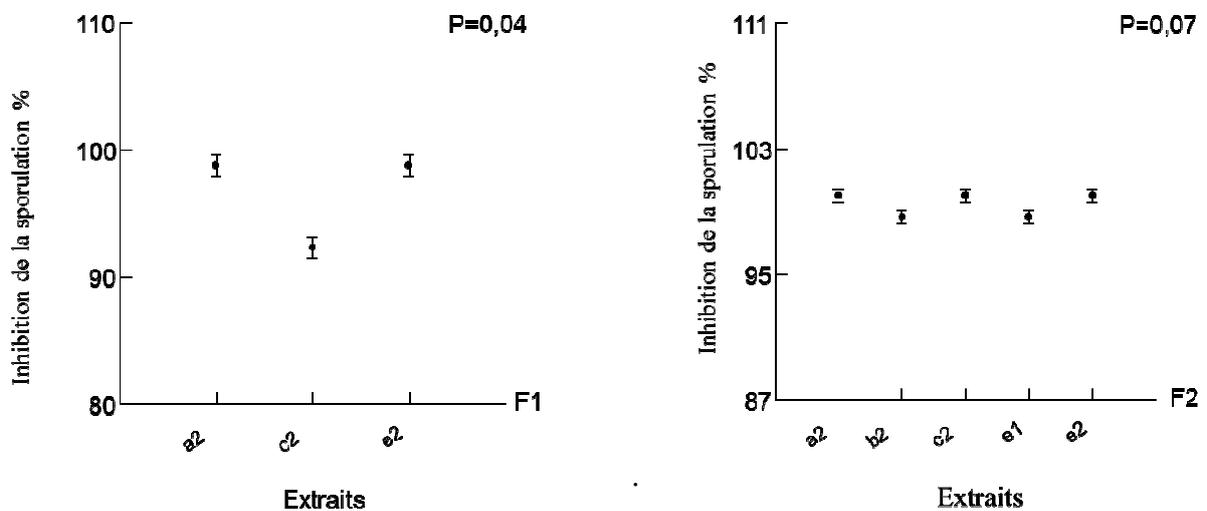


Figure 20 : Morphologie des spores de témoin et traité de l'isolat F3 de *Fusarium* sp (x100)



a :Acétate d'ethyle, b: Acétone c:Ethanol e: Infusé
 1 : Ecorce d'oignon
 2 : Feuille de variété jaune d'*Allium cepa* L

Figure 21 : Inhibition de la sporulation de l'isolat F1 et F2 de *Fusarium* spp.selon les extraits aqueux étudié

L'analyse statistique des taux d'inhibition de la sporulation des isolats fongiques de *Fusarium* spp par les extraits étudié selon l'ordre :

A révélé une différence significative pour la souche1 ($P=0.04$)et une différence non significative pour la souche F2 ($P=0.07 > P=0.05$) et une inhibition totale (100%) pour la souche F3.

Par rapport aux isolats, les meilleurs taux d'inhibition de la sporulation étant selon des extraits aqueux infusé² sur les trois souches (100%). (Figure 19)

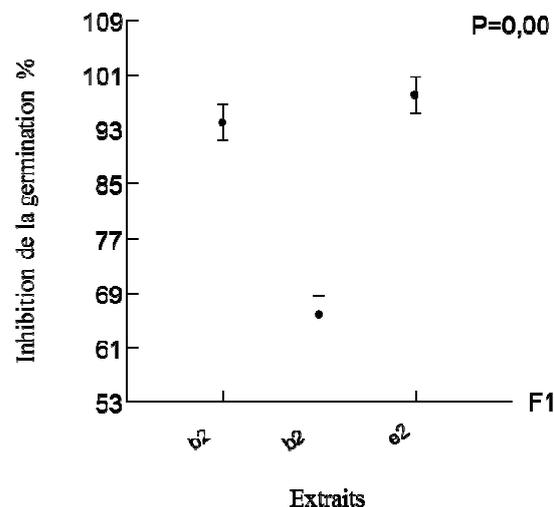
Une inhibition de (100%) pour les souches 2 avec (Acétate d'éthyle², Ethanol 2 et 3 (Annexe7)

Pour F1 inhibition totale avec les extraits (Acétate d'éthyle 2 et Ethanol 2)(Annexe7), et Pour F3 l'infusé¹ à donner une inhibition totale (100%). (Annexe7).

D'après cette observation et l'observation microscopique on' a trouver que l'isolat F3 la plus sensible au stade sporulation.

3.5 Effet des extraits de la plante sur la germination

Pour le taux d'inhibition de germination on' a enregistré une inhibition totale (100%) pour les souches F2 et F3, et la souche résistante F1 qui a donné une différence très hautement significative ($P=0.00$) avec un taux d'inhibition voisin au (100%).



b: Ethanol, e: Infusé, 2 : Feuille de variété jaune d'*Allium cepa* L

Figure 22 : Inhibition de la germination de l'isolat de *Fusarium* spp souche 1 selon les extraits aqueux étudié

3.6 Etude de la survie des isolats de *Fusarium* spp sous l'effet des extraits aqueux d'*Allium cepa*

La croissance mycélienne des isolats témoins et ceux traités sous l'effet de l'extrait aqueux d'*Allium cepa* a été suivie durant un mois. Aucune croissance mycélienne n'a été enregistrée sur les trois isolats après leur repiquage sur milieu PDA. Aucune croissance mycélienne n'a été enregistrée cependant l'isolat F3 avec l'Ethanol 2 et sur F1 avec l'Ethanol 2 et l'Acétate d'éthyle 2. (Annexe 13).

3.7 Discussion

En effet, les résultats ainsi obtenus ont été révélés une variabilité de pouvoir antifongique d'*Allium cepa* L selon les extraits testés sur les trois isolats fongiques de *Fusarium* spp. et cela à travers différents paramètres : la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie *in vitro* de l'agent pathogène. Dans l'ensemble l'infusé 2 et l'extrait préparé de l'Acétate d'éthyle 2 ont présentés une forte inhibition antifongique.

Quelques travaux de recherche ont déjà confirmé l'activité antifongique d'*Allium cepa* sur les agents pathogènes.

L'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* spp. selon la méthode de contact direct par les extraits de plantes, a été déjà confirmé par des travaux utilisant les extraits de plantes.

Des travaux ont été réalisés sur le pouvoir antifongique avec le genre *Allium* (*Allium cepa*, *Allium sativum* et *Allium fistulosum*) sur *Fusarium graminearum* et *Candida albicans*, selon Benmeddour et al., (2015) cette étude a montré une efficacité très élevée, avec des pourcentages d'inhibition de 5.6% (avec le jus d'*Allium cepa* à 5% de concentration) jusqu'à 83.3% avec l'Huile essentielle d'*Allium sativum*. Contrairement aux bactéries, l'effet inhibiteur des HE des *Alliums* sur *Fusarium graminearum* est supérieur à celui des jus.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Chiwawa, (2017) sur de nombreux extraits aqueux de plantes testés sur les mêmes isolats fongiques. Ils ont confirmé les potentialités antifongiques et fongicides de certains extraits tels que préparés à partir de clous de girofle testés selon les doses appliquées.

Ainsi, le pouvoir inhibiteur des extraits de l'oignon a été interprété par les travaux de (Cowan, 1999), (Kooper 1910), (Liu et al., 2014) ainsi que (Ye et al., 2013) qui ont affirmé que l'activité biologique des extraits d'*Allium cepa* est liée à leur composition chimique aux

groupements fonctionnels de ses composés majoritaires, à leur effet synergique et à leurs proportions. Les extraits d'*Allium cepa* ont une forte puissance d'inhibition contre le *Fusarium sp* Benmeddour et al., (2015).

Plusieurs études ont été effectuées sur l'activité antifongique de plusieurs plantes contre des champignons du genre *Fusarium* (El-houit et al., 2011 ; Hamdani, 2015). Les résultats obtenus dans cette étude ont montré une inhibition de la croissance mycelienne qui dépend des extraits de la plante étudiée et de la méthode utilisée.

Divers composés chimiques soufrés et non soufrés ont été isolés du bulbe d'oignon. En 1910, Kooper a examiné le jus frais de l'oignon commun, il a identifié l'acide thiocyanique et l'allylthiocyanate (Shankaranarayana et al., 1982). Les composés soufrés sont les plus caractéristiques de l'huile essentielle de l'oignon et l'ail tels que dimethyldisulfide, dimethyltrisulfide et allylmethyltrisulfide. Les jus de l'oignons contiennent aussi l'alliinase, une enzyme qui transforme le trans-s-(1-propenyl) cysteinesulfoxide en propanethial S-oxide qui est le facteur lacrymogène (Pizzorno et al., 2012). D'autres composés ont également été caractérisés dans les extraits: cépaènes, zwibelanes et di- et tripeptides soufrés (Winkler et al., 1992)

Il est important de signaler qu'aucun travail n'a été réalisé sur le pouvoir inhibiteur de la germination sur *Fusarium spp.* sous l'effet des extraits aqueux de l'oignon. Par contre Mébarki (2016) a prouvé un important effet inhibiteur de molécules extraites de plantes : *Anvillea radiata*, *Bubon graveolens* et *Cotulacinearea* sur la germination des conidies de *Fusarium oxysporum* 100% par *A. radiata* et *B. graveolens*.

Nos résultats coïncident avec ceux obtenus par Benmeddour et al., (2015) qui ont montré que les extraits d'*Allium cepa* ont donné une forte inhibition sur *Candida albicans* avec un pourcentage de (67.2%) pour le jus frais et (99.4 %) pour l'extrait aqueux et (45.9%) pour l'huile essentielle .

4. Conclusion et perspectives

Conclusion

La présente étude vise la recherche d'une lutte biologique contre les moisissures inféodée de l'orge à la culture hydroponique et les céréales au cours de stockage en général.

Dans ce contexte, notre étude a porté sur l'Activité antifongique des extraits aqueux préparés à partir de l'oignon (*Allium cepa*) par macération à froid et par infusion, testé sur trois isolats de l'Agent pathogène *Fusarium* spp. (F1, F2 et F3) issues des grains contaminés d'orge en culture hydroponique.

L'évaluation de l'activité antifongique selon la méthode de contact direct *in vitro* des extraits aqueux d'*Allium cepa* a porté sur la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie a été étudiée pour l'isolat inhibé par les extraits préparés à partir de la feuille d'oignon (de la variété jaune et rouge) s'en montrés les plus efficaces sur les trois souches fongique.

Une variation de la croissance mycélienne a été remarquée entre les isolats et les extraits testés selon le taux d'inhibition.

On' a enregistré une inhibition totale sur les trois isolats de *Fusarium* spp. avec l'infusé 2 de la feuille (de la variété jaune) d'oignon.

La sporulation a été également inhibé à 100% sur les isolats F2 et F3 de *Fusarium* spp. et très fortement réduite pour l'isolat F1 (98.94%) avec l'infusé 2, et (92.25%) avec l'Acétate d'éthyle 2. Ces résultats ont confirmé l'inhibition de la reprise de croissance des isolats.

Les isolats de *Fusarium* spp. les plus sensibles sont F2 et F3 contrairement à l'isolat résistant F1.

Les extraits aqueux préparés à partir d'*Allium cepa* pour avec leur pouvoir fongicide lutte contre les isolats de *Fusarium* spp. étudiés.

Les futures travaux de recherche, on propose de compléter les meme études par :

- Déterminer de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits testés sur les isolats de *Fusarium* spp.étudies.
- Déterminer la composition chimique des extraits d'oignon testés.
- Elargir la gamme de plantes et/ou des extraits sur les moisissures inféodées à l'orge cultivée en hydroponie.
- Tester les extraits d'*Allium cepa* sur d'autres agents fongiques.
- Approfondir l'étude des modes d'action des extraits et/ou des composés actifs sur les isolats fongiques de *Fusarium* spp. et d'autres moisissures.
- Etude de l'impact de ces extraits sur la qualité de l'orge.
- Etude toxicologique sur les concentrations des extraits de plante et/ou du composé actifs à utilisés sur le terrain.

Chapitre4 Conclusion et perspectives

-Identification des isolats fongiques par approche moléculaire et analyse chimique pour connaître leur aptitude à la production de mycotoxines

1. Références bibliographiques

1. Akthar M.S., Degaga B. and Azam T., 2014. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1):1-7.
2. Albitar N. 2010. Etude comparative des procédés de séchage couplés à la R. A.OUEDRAOGO et al. / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9(1): 281-291, 2015-290
3. 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.
4. Alvarez C.L., Somma S., Moretti A., et Fernandez- Pinto V., 2009. Aggressiveness of *Microbiology Biotechnology*, 19: 305-309
5. Aguiar R. W. D. S., Ootani M. A., Ascencio S. D., Ferreira T. P., Santos M. M. D. and Santos G. R. D., 2014. Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species. *The Scientific World Journal*: 8.
6. Amarati F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Lotfi Arab, El Ajjouri M., Chaouch A., 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14 (1): 141-148.
7. André Gallais , et al 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. INRA, Paris. 57, 58 P.
8. André Gallais , 2015. comprendre l'amélioration des plantes Enjeux, méthodes, objectifs, et critères de sélection. Quae, France. 189 P.
9. APS, 2016. La production algérienne de céréales a nettement reculé en 2015-2016. *Jeune Afrique*, 19-20p.
10. Bai G. and Shaner G., 1994. Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Disease*, 78: 760–766.
11. Baba Aissa F. (2000) *Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident.* Ed. Librairie moderne Rouiba. 46p.
12. Badr A. M., 2000. On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*). *Mol. Biol. Evol.*, 17 : 499–510.
13. Baik B.K. and Ulrich, S.E., 2008, Barley for food: characteristics, improvement and renewed interest . *Journal of cereal science*, 48: 233-242.
14. Benabderrazik J.L.R., 2014. Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb. *IPEMED, Paris* 37:263–268.
15. Benbouali M., 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*. These de Magister, Université Hassiba ben bouali chlef, Algérie, 177p.
16. Benkeblia N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensm.-Wiss. u. Technol* Benmahammed A.K. 2003. Sélection multicaractères pour améliorer le niveau de stabilité du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi-aride. *Revue sciences et technologies*, 19: 98-103.

17. Benmeddour T, Laouar H, Benabdi A, Brahimi S.,2015. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre *Allium* : *A. cepa*, *fistulosum* et *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de Doussan (wilaya de *Bisakra*) p.09-14
18. Beuilltin des sciences,1818. La société philomatique, paris.79 P.
19. 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.
20. Cai Y, Luo Q, Sun M., Corke H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *J. Life Sci.*, 74: 2157-2184.
21. Charles-Louis-Fleury Panckoucke, 1818. Dictionnaire des sciences médicales. C.L.F Panckoucke éditeur, Paris. Tome 28, 255 P.
22. Claude Foury et al., 2003. Histoire de légumes : des origines de l'Orée du XXI^e siècle. INRA, Paris. 107P.
23. Cristani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* 55:6300-6308.
24. Cristani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., Venuti V., Bisignano G., Saija A., Trombetta D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* 55:6300-6308.
25. Demarquilly C.,1970 : Evolution de la digestibilité et de la quantité ingérée des plants entiers des céréales entre la floraison et la maturation du grain, *Annales de Zootechnie*, 19 (4)413-422
26. Doohan F., Brennan J. and Cooke B., 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 109:755–768.
27. Dossier de grenadier, faculté des sciences, Institute Klorane, Toulouse, France, 16p emerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81(12), 1340-1348.
28. Élisabeth Lemoine, Guide des légumes du monde, Delachaux et Niestlé, Lausanne, 1999, p. 12.
29. FAO.,2017.Situation alimentaire mondiale. Fao.
<http://www.fao.org/worldfoodsituation/fr/?%FA%11%04 30-08-2017>
30. FAO.,2018.Situation alimentaire mondiale. Fao.
<http://www.fao.org/worldfoodsituation/fr/?%FA%11%04 07-06-2018>
31. Fatope M.O., Nuhu A.M. and Takeda Y.,1995., Cowpea weevil bioassay :a simple prescreening for plant with grain protectant effects. *International Journal of pest Management*, 42(2) :84-86.
32. Feillet P., 2000. Le grain de blé composition et utilisation. INRA, Paris, 53p.
33. Feillet P., 2000. Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308 p

34. *Fusarium graminearum* sensu stricto isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology*, 158:173–181.
35. 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
36. Gilbert J. and Woods S.M. 2006. Strategies and considerations for multi-location FHB screening nurseries. In: Ban T., Lewis J.M., Phipps E.E. (eds.). 2006. The global *Fusarium* initiative for international collaboration: A strategic planning workshop held at CIMMYT, El Batán, Mexico; March 14 - 17, 2006. CIMMYT, Mexico, pp. 93102.
37. Giorgia et al, 2012. L'oignon du Niger: etude d'une filière traditionnelle face à un marché L'Harmattan, Paris. 19P.
38. Goetz C.W. , 2004, Extraction techniques. *Analytical Sciences, Journal of Chromatography*, : 138-147
39. Guenther J. and Trail F., 2005. The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1) : 229-
40. Guenther J. and Trail F., 2005. The development and differentiation of *Gibberella zeae*(anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1) : 22:237.
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.
42. 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
43. Guy M C, 1876. L'Algérie: agriculture, industrie, commerce. Bab el oued, alger .74 P.
44. 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.
45. Harborne J.B., 1989.General procedures and measurement of total phenolics. *Plant* 1164.
46. Hmiri S, Rahouti M, Habib Z, Satrani B, Ghanmi M, El Ajjouri M., 2011. Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80 : 824 - 836.
47. Hmouni A.M., 1996. Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bull.*, 26: 697-705
48. 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.

49. 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
50. Hooper L. et Cassidy A. 2006. A review of health care potential of bioactive compounds. *J. Sci. Food Agr.*, 86: 1805-1813.
51. 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.
52. Irkin R., Korukluoglu M. 2007. Control of *Aspergillus niger* with garlic, onion and leek extracts. *African Journal of Biotechnology* 6(4):384-387.
53. Jean-Paul Louédoc, « L'oignon de Roscoff : une AOC à croquer », dans *Ouest France*, no 20148, 27 novembre 2010, p. 42
54. Jubert P.CH., 1842. De la recolte, de la conservation, du semis et de la germinations de graines. librairie de M^{me} Bouchard- Huzard, Paris. 90P.
55. 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*
56. Lepoivre, P., 2003. *Phytopathologie : bases moléculaires de biologie des pathosystèmes et fondement des stratégies de lutte*. De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux, Brussels, Belgium, 432p
57. Louis Liger *La nouvelle maison rustique: ou Economie rurale, pratique et générale de tous les biens de campagne*. ANVI, Paris tome 3. 69P.
58. Lucini E.I., Zunino M.P., López M.L., Zygodlo J.A. 2006. Effect of Monoterpenes on Lipid Composition and Sclerotial Development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *J. Phytopathol.* 154: 441–446
59. Lydie Suty, 2015. *les végétaux les relations avec leur environnement* éditions Quae. 26P.
60. Labée Van Den Hecke et al, 1835. description d'une moisissure (*mucor*), avec quelques observations organo-graphique et physiologiques sur les champignons. Lyon. 29P
61. Michel Pitrat, et Claude Foury, *Histoires de légumes. Des origines à l'orée du XXI^e siècle*, INRA, Paris, 2003, 410 p. (ISBN 2-7380-1066-2), p. 111.
62. Miedaner T., 1996. Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. *Plant Breeding*, 116 : 201-220.
63. 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.
64. Mouton Fontenille et al., 1798. *tableaux des systèmes de botanique généraux et particuliers*. Lyon. 113P.

65. 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.
66. Mohammedi Z. et Atik F., 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature & Technologie*, 6: 34-39.
67. Mohammedi Z. 2013. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et SudOuest de l'Algérie. Thèse
68. MOQUIN- Tandon, 1866. *Eléments de botanique médicale*. J.B.Baillière et fils, paris. 2 éditions .247P
69. Mullen Mc ., Jones R., Gallenberg D., 1997. Scab of wheat and barley: A Re
70. Nicolas Philibert Adelon, 1838 .*dictionnaire de médecine ou répertoire des sciences médicales*. Réchet,Paris. 2éditions, 18 Tomes.116P.
71. shimiymana D S and He Q.(2010) Radical Scavenging Capacity of Rwandan CTC Tea Polyphenols Extracted Using Microwave Assisted Extraction. *Pakistan Journal of Nutrition*.9 (6):589-593.
72. Observation nationale des filières agricoles et agro alimentaire en janvier 2016
73. Ozenda P.,1977.*Flore du Sahara*.CNRS,paris 2eme édition Antonin Bossu,1872.*Traité des plantes médicinales indigènes ...: précédé d'un cours élémentaire de botanique*.Bureaux de l'abeille médicale, Paris 3eme édition
74. Philippeau G., 1989. Comment interpréter les résultats d'une analyse de variance ? *Institut technique des céréales et des fourrages (ITCF)*, 47p
75. Pandey D.N., 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens* / Fungitoxische und phytotoxische Eigenschaften des ätherischen Öis von *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 89(6) :344-349.
76. Paul Pesson et al, 1984. *Pollinisation et productions végétales*.INRA, Paris.147, 480P.
77. Quzel P.,et Santa S.,1962-1963.*Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*.CNRS, Paris. 2 tomes,1170p
78. Rahal-Bouziiane 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.
79. Raymond Gouyaet al, 2011. *Les produits phytosanitaires: Distribution et applicationles différents méthodes de luttés et le choix d'un produit en lutte chimique*. Educagri,DIJON.tome 1. P68
80. Raynal.G et al, 1989.*Ennemis et maladies des prairies, Maladie- ravageurs et parasites animaux plantes parasites troubles de la nutrition*.INRA, Paris.67, 172 P
81. Reed C. 2009. *Import Risk Analysis: Onions (*Allium cepa*, Liliaceae) Fresh Bulbs for Consumption from China (1st edn)*. MAF Biosecurity Press: New Zealand.
82. Remy C. (2004). *Narcissus in Perfumery.*, in Hanks G. R. (2002). *Narcissus and Daffodil The genus Narcissus*. Ed. Taylor & Francis.London and New York. 450 p.

83. Remy E.A., 1861. *essai de la nouvelle classification des graminées*. librairie Germer baillière, Paris 1^{er} partie.
84. Roldan M. 2009. *Biological Activity and Nutritional Properties of Processed Onion Products*. These, Universidad Autónoma de Madrid, p. 194.
85. Romani, A., Pineli, C., Cantini, A., Cimato, and D., Heimler., (2006). *Characterization of violetto di Toscana, typical Italian variety of artichoke (Cynarascolymus L)*. *J.FoodChem.* Vol. 95.pp: 221_225.
86. Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A., 1993. *Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium*. *J.Essent.oil res.*5 : 179-184.
87. Scheidweiler M J , 1841. *Cours raisonné et pratique d'agriculture et de chimie agricole*. Société Belge de librairie, Bruxelles. tome1. 220P
88. Sharma N., Tripathi A. 2006. *Fungitoxicity of the essential oil of Citrus sinensis on post-harvest pathogens*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22(6):587-593.
89. 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.
90. Shatha A.S. and Saeed Z., 2013. *Induced nephro-toxicity in rats*. *Journal American Science*, 9(10) :20-25.
91. 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.
92. *Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC, en termes de cinétique et de qualité nutritionnelle. Applications à la valorisation des déchets agro-industriels*. PhD thèse, Université de La Rochelle. p 193
93. Venturini. N.; ChrKF .; Desjobert; J.M.; Karp; D.; Paolini, J.; (2010). *Chemotaxonomic investigations of peel and petit grain essential oils from 17 citronncultivrs; chemistry and biodiversity: 736-751*.
94. Ye C.L., Dai D.H. and Hu W.L. 2013. *Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (Allium cepa L.)*. *food control* 30(1):48–53.
95. Yin M.C., Tsao S.M. 1999. *Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species*. *Int. J. Food Microbiol.* 49:49-56.