



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



**Université Amar Telidji-Laghouat**

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

**MEMOIRE DE MASTER**

Présenté par :

*M<sup>elle</sup>* : HASSIN Rihab

*M<sup>elle</sup>* : CHOUL Fatiha

DOMAINE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE: SCIENCES ALIMENTAIRES

SPECIALITE: AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

**Thème**

**Evaluation de l'activité antifongique des extraits de  
*Bunium incrassatum* contre les champignons du genre  
*Fusarium* isolés du blé dur *Triticum durum***

**Session : Juin 2024**

**Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
Mme. ALLALI Khadidja	MCA (UAT-Laghouat)	Présidente
Mme. Menasra Amina	MAA (UAT-Laghouat)	Examinatrice
Mme. HAMINI Faiza	MAA (UAT-Laghouat)	Encadrante

**Année Universitaire: 2023-2024**

## *Remerciements*

Tous d'abord, nous remercions *Dieu* de nous avoir donné la force, le courage et les connaissances nécessaires pour mener à bien la recherche de fin d'étude

Nous adressons nos sincères remerciements à « *Mme HAMINI Faiza* » pour sa supervision précieuse, ces conseils avisés et son soutien constant tout au long de ce projet. Son expertise et ses encouragements ont été essentiels à la réussite de ce travail

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements au personnel des laboratoires de recherche "Biologique, Chimique et Physique des Matériaux" et du « Laboratoire de recherche fondamentale » de l'université de Laghouat. Leur soutien et leur aide ont été essentiels dans la réalisation de notre mémoire.

Nous remercions les membres du jury, *Mme ALLALI Kihadidja* et *Mme MENASSRA Amina*, qui contribueront à l'amélioration de cette étude.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à l'ensemble des enseignants du département d'agronomie de l'université de Laghouat pour la qualité de la formation et de l'encadrement dont nous avons bénéficié tout au long de notre année théorique

À tous ceux et à toutes celles dont les noms n'apparaissent pas sur cette page, ils sont nombreux, qu'ils demeurent convaincus que nous ne les avons point oubliés et qu'ils soient assurés de notre profonde gratitude. *Merci.*

## **Dédicace**

*A mes chers parents Djillali et Kheira, je vous remercie du fond du cœur pour votre soutien inébranlable, votre amour sans limites et vos encouragements constants tout au long de mon parcours. C'est grâce à vous que j'ai pu atteindre cette étape précieuse de ma vie. Vous avez été mes piliers et mes guides, et ce diplôme est autant le vôtre que le mien.*

*A mes chers frères Bachir, Ahmed, Mohamed, merci d'avoir toujours été à mes côtés, de m'avoir inspiré et encouragé. Votre soutien m'a donné la force de persévérer et de réussir. Vous êtes une partie intégrante de ce succès, et je suis fier de partager ce moment avec vous.*

*A ma fidèle amie Khadidja, merci d'être toujours là, de m'écouter, de m'encourager.*

*A mon amie d'enfance Aya, je tiens à te remercier pour ton amitié sincère.*

*A ma chère grande mère, aujourd'hui, alors que je célèbre l'obtention de mon diplôme, je veux te rendre hommage et te dire combien tu me manque. Ton souvenir m'accompagne chaque jour et m'a donné la force de surmonter les obstacles pour atteindre cet objectif.*

**HASSIN Rihab**



## Dédicace

*Je dédie ce travail :*

À *mes* parents qui sont les enseignants, les soutiens, mes forces, ils sont toujours me poussés à aller de l'avant et m'ont offert le meilleur cadre possible de travail

À *mes* sœurs et mes frères qui m'ont beaucoup secondé dans ce travail par leurs assistance morale et auquel je souhaite qu'ils réussissent à leurs vies professionnelles et personnelles et *mes* neveux et nièces que Dieu les garde

À *une* personne de grandes vertus morales, et une souplesse raffinée dans ses comportements, en plus d'une largesse d'esprit et de cœur illimitée ; elle est toujours présente et jusqu'au dernier moment. Elle s'agit de ma cousine : *Mme Marfoua Meriem*

À *tous* membres de ma famille *Choul, et Belhadj*

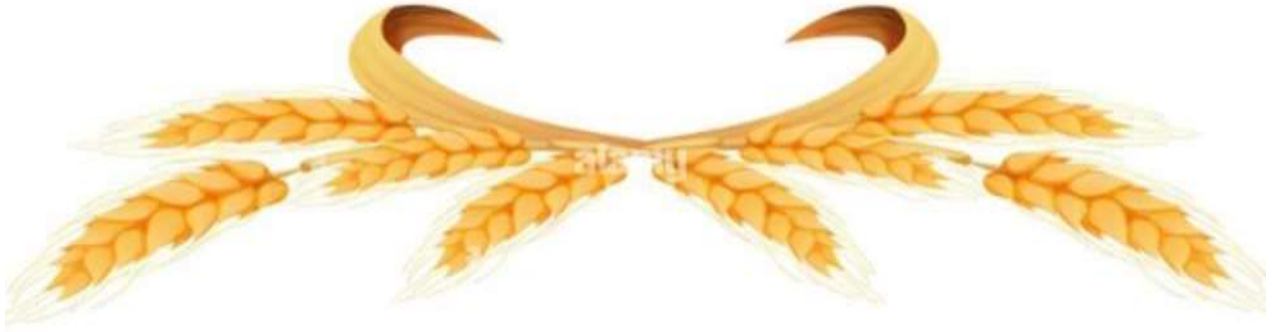
À *ma* chère amie qui a été présente dans tous les moments pour le meilleur et pour le pire  
*Chikhaoui Khadidja Oumelbanine*

*À tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin*

*Milles fois merci malgré que c'est peu*

*Choul Fatiha*





### تقييم النشاط المضاد للفطريات لمستخلصات *Bunium incrassatum* ضد فطريات من جنس *Fusarium* المعزولة من القمح الصلب *Triticum durum*

يلعب القمح دورًا حيويًا في الأمن الغذائي العالمي والاقتصاد الزراعي، كونه غذاءً أساسيًا للعديد من الدول. الأمراض الفطرية التي تتطور خلال تخزين القمح تشكل مصدر قلق كبير بسبب عواقبها الاقتصادية الكبيرة وتأثيرها المحتمل على صحة الإنسان والحيوان. تضمنت دراستنا استخراج وقياس المركبات الفينولية من نبات التلقود (بونيوم إنكراساتوم) باستخدام طريقة كاشف فولين-سيوكالتو للفينولات وطريقة كلوريد الألومنيوم للفلافونويدات. تم جمع العينات من أربعة مناطق مختلفة: الأغواط، تيارت، أفلو، وقلية. بالإضافة إلى ذلك، أجرينا تحليلات للتلوث على دفعات مختلفة من القمح الصلب (*Triticum durum*) باستخدام طريقة جيفيس وعزلنا عدة سلالات فطرية لهدف التعريف والتوصيف. شمل هدفنا أيضًا تقييم النشاط المضاد للفطريات للمواد المستخلصة ضد فطريات الجنس فيزريوم باستخدام طريقة "تقنية الطعام المسموم". أظهرت المستخلصات قيمًا مرتفعة من المركبات الفينولية في العينات الأربعة، حيث بلغت  $0.1 \pm 17.73$  ملغ جال/100 غرام جاف للعينه من تيارت. كما كانت محتويات الفلافونويدات مرتفعة نسبيًا، حيث بلغت  $0.1 \pm 1.4$  ملغ كيو/100 غرام جاف للعينه من تيارت. وكانت السلالتان المعزولتان والمحددتان من جنس فيزريوم حساسة للمستخلصين النباتيين المختبرين. وفي الختام، فإن هذه النبتة تعتبر مصدرًا ممتازًا لمضادات الأكسدة الطبيعية ويمكن اعتبارها مضافًا طبيعيًا أو طعامًا وظيفيًا أو مكونًا في الأطعمة الوظيفية. علاوة على ذلك، يقدم مستخلص بونيوم إنكراساتوم حلًا طبيعيًا وأمنًا ضد فيزريوم، مما يقلل من الآثار السلبية على البيئة والصحة البشرية. يمكن أن يساعد استخدامه كمبيد حشري بيولوجي في تعزيز أمن الإنتاج الزراعي وحماية المحاصيل من الخسائر الاقتصادية الكبيرة الناجمة عن هذا الفطر.

**الكلمات الرئيسية:** *Bunium incarssatum*؛ جذور؛ مركبات فينولية؛ فلافونويدات؛ نشاط مضاد للفطريات.

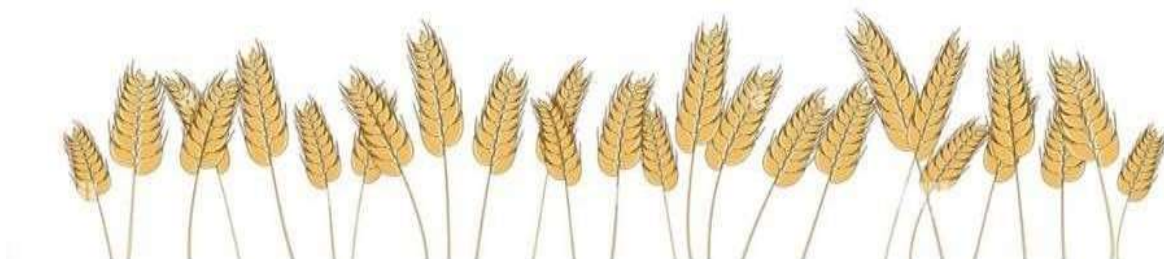


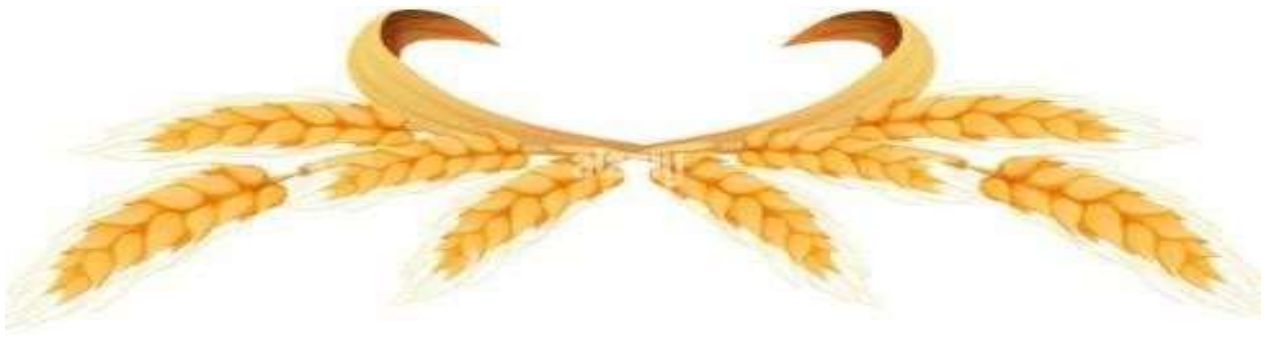


## **Evaluation de l'activité antifongique des extraits de *Bunium incrassatum* contre les champignons du genre *Fusarium* isolés du blé dur *Triticum durum***

Le blé joue un rôle essentiel pour la sécurité alimentaire mondiale et pour l'économie agricole, assurant la nourriture de base pour de nombreux pays. Les maladies fongiques qui se développent pendant le stockage du blé sont particulièrement préoccupantes en raison de leurs conséquences économiques importantes et de leur impact potentiel sur la santé humaine et animale. Notre étude a consisté en l'extraction des composés phénoliques de la plante Talghouda (*Bunium incrassatum*) et leur dosage à l'aide de la méthode du Folin-Ciocalteu pour les phénols et du chlorure d'aluminium pour les flavonoïdes. Les échantillons étudiés proviennent de quatre régions distinctes : Laghouat, Tiaret, Aflou et Gueltat. En parallèle, nous avons mené des analyses de contamination sur différents lots de blé dur (*Triticum durum*) par la méthode du Geves et isolé plusieurs souches fongiques en vue de leur identification et caractérisation. Notre objectif incluait également l'évaluation de l'activité antifongique des extraits contre les champignons du genre *Fusarium* en utilisant la méthode de la « poisoned food technique ». Les extraits ont relevé des valeurs assez élevées de composés phénolique pour les quatre échantillons avec  $17.73 \pm 0,1$  mg EAG/100g MS pour celui de Tiaret. Les teneurs en flavonoïdes étaient relativement importantes également avec  $1.4 \pm 0,1$  mg EQ/100g MS pour l'échantillon de Tiaret. Les deux souches de *Fusarium* isolées et identifiées se sont révélées sensibles aux deux extraits de la plante testés. En conclusion, cette plante constitue une excellente source d'antioxydants naturels et peut être considérée comme additif naturel, aliment fonctionnel ou un ingrédient d'aliment fonctionnel. De plus, l'extrait de *Bunium incrassatum* offre une solution naturelle et sûre contre le champignon *Fusarium*, réduisant les impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine. Son utilisation comme biopesticide peut améliorer la sécurité des productions agricoles et protéger les cultures des pertes économiques causées par ce champignon.

**Mots clés :** *Bunium incrassatum*; Racines; Composés phénoliques ; Flavonoïdes ; Activité antifongique.





## **Evaluation of the Antifungal Activity of *Bunium Incrassatum* Extracts Against *Fusarium* Species Isolated from Durum Wheat *Triticum Durum***

Wheat plays a crucial role in global food security and the agricultural economy, serving as a staple food for many countries. Fungal diseases that develop during wheat storage are particularly concerning due to their significant economic consequences and potential impact on human and animal health. Our study involved the extraction and quantification of phenolic compounds from the Talghouda plant (*Bunium incrassatum*) using the Folin-Ciocalteu method for phenols and the aluminum chloride method for flavonoids. The samples studied were from four distinct regions: Laghouat, Tiaret, Aflou, and Gueltat. Additionally, we conducted contamination analyses on various durum wheat (*Triticum durum*) batches using the Geves method and isolated several fungal strains for identification and characterization. Our objective also included evaluating the antifungal activity of the extracts against *Fusarium* fungi using the poisoned food technique. The extracts showed high values of phenolic compounds across the four samples, with  $17.73 \pm 0.1$  mg GAE/100g DM for the Tiaret sample. Flavonoid content was also relatively high, with  $1.4 \pm 0.1$  mg QE/100g DM for the Tiaret sample. The two isolated and identified *Fusarium* strains were sensitive to the two plant extracts tested. In conclusion, this plant is an excellent source of natural antioxidants and can be considered a natural additive, functional food, or ingredient in functional foods. Moreover, the *Bunium incrassatum* extract offers a natural and safe solution against *Fusarium*, reducing negative impacts on the environment and human health. Its use as a biopesticide can enhance the safety of agricultural production and protect crops from significant economic losses caused by this fungus.

**Keywords:** *Bunium incrassatum*; Roots; Phenolic compounds; Flavonoids; Antifungal activity.



## Liste des abréviations

<b>Bd</b>	Blé dur
<b>B. incrassatum</b>	Bunium incrassatum.
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>Min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>G</b>	Gramme
<b>µm</b>	Micromètre
<b>SNA</b>	Synthetischer Nährstoffärmer Agar
<b>DCPA</b>	Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar
<b>A<sub>w</sub></b>	Activité d'eau
<b>Moy</b>	Moyenne
<b>Tab</b>	Tableau
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>F.</b>	<i>Fusarium</i>
<b>%</b>	Pourcentage
<b>°C</b>	Degrée Celsius
<b>Abs</b>	Absorbance
<b>CCLS</b>	Coopérative de céréales sèches et légumineuse

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b>	Grain du blé	<b>2</b>
<b>Figure 02.</b>	Vue en coupe d'un silo souterrain (matmoura) pour le stockage des céréales capacité 1.8 m3	<b>5</b>
<b>Figure 03.</b>	Photo de silos pour le stockage et la conservation du blé	<b>7</b>
<b>Figure04.</b>	Une image représentant un rat domestique <i>Rattus rattus</i> sur un sac de céréales en stockage	<b>10</b>
<b>Figure 05.</b>	Image microscopique d'aspergillus-flavus	<b>14</b>
<b>Figure 06.</b>	Image descriptive de Penicillium-terverticille	<b>14</b>
<b>Figure 07.</b>	Les principales caractéristiques morphologiques des deux espèces de <i>Fusarium</i>	<b>15</b>
<b>Figure 08.</b>	Les sept espèces du genre <i>Bunium</i>	<b>21</b>
<b>Figure 09.</b>	Description morphologique de <i>B. incrassatum</i>	<b>22</b>
<b>Figure 10.</b>	Les fleurs et les tubercules de <i>B.incrassatum</i>	<b>23</b>
<b>Figure 11.</b>	Distribution de <i>Bunium incrassatum</i> dans le nord-africain	<b>24</b>
<b>Figure 12.</b>	Schémas de l'étude expérimentale	<b>28</b>
<b>Figure 13.</b>	Lots de blés collectés	<b>31</b>
<b>Figure 14.</b>	Extraction des échantillons avec le montage à reflux	<b>32</b>
<b>Figure 15.</b>	Évaporation de l'échantillon avec l'évaporateur rotatif	<b>33</b>
<b>Figure 16.</b>	Les étapes de l'extraction liquide/liquide	<b>34</b>
<b>Figure 17.</b>	Protocole de préparation des extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	<b>35</b>
<b>Figure 18.</b>	Dosage des phénols totaux	<b>37</b>
<b>Figure 19.</b>	Illustration de la méthode de désinfection des grains utilisées	<b>40</b>
<b>Figure 20</b>	Illustration de la méthode Geves	<b>41</b>
<b>Figure 21.</b>	<i>Fusarium</i> sur SNA ; Exposition au UV proches	<b>43</b>
<b>Figure 22.</b>	Protocole de prélèvements à réaliser pour l'observation de critères microscopiques de <i>Fusarium sp.</i> Cultivé sur milieu SNA	<b>44</b>
<b>Figure 23.</b>	Méthode de conservation des champignons sur milieu PDA incliné	<b>46</b>
<b>Figure 24.</b>	Les dilutions des extraits de <i>Bunium incrassatum</i>	<b>48</b>
<b>Figure 25.</b>	Préparation pour l'étude de l'activité antifongique	<b>48</b>

<b>Figure 26.</b>	Histogramme représentant les taux d'extraction des 4 échantillons de <i>Bunium incrassatum</i> en % de la masse du résidu	<b>50</b>
<b>Figure 27.</b>	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	<b>51</b>
<b>Figure 28.</b>	Histogrammes représentant les teneurs en composés phénoliques des 4 échantillons de <i>Bunium incrassatum</i> en mg EGA/100g de MS	<b>52</b>
<b>Figure 29.</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	<b>54</b>
<b>Figure 30.</b>	Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des 4 échantillons de <i>Bunium incrassatum</i> en mg EQ/100g de MS.	<b>54</b>
<b>Figure 31.</b>	Taux de contaminations de l'ensemble des lots de semences en pourcentage	<b>57</b>
<b>Figure 32.</b>	Taux de contamination de la semence en fonction du taux d'humidité du grain de blé	<b>58</b>
<b>Figure 33.</b>	Résultat de la méthode PDA : Isolement des moisissures à partir de grains de blé après 7 jours de culture a 25° C	<b>60</b>
<b>Figure 34.</b>	Résultat de la purification par repiquage successif sur milieu DCPA après 7 jours de culture a 25° C	<b>61</b>
<b>Figure 35.</b>	Résultat de la méthode SNA : repiquage successif sur milieu SNA après 7 jours de culture a 25° C	<b>61</b>
<b>Figure 36.</b>	Résultat de la culture d'isolat 1 <i>Penicilliums</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	<b>62</b>
<b>Figure 37.</b>	Caractères microscopiques de <i>Penicillium digitatum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400).	<b>63</b>
<b>Figure 38.</b>	Résultat de la culture d'isolat 2 d' <i>Aspergillus</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	<b>64</b>
<b>Figure 39.</b>	Caractères microscopiques d' <i>Aspergillus</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400).	<b>64</b>
<b>Figure 40.</b>	Résultat de la culture d'isolat 3 <i>Alternaria</i> (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	<b>65</b>
<b>Figure 41.</b>	Caractères microscopiques d' <i>Alternariat</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Conidies septés. B : Mycélium septé.	<b>65</b>
<b>Figure 42.</b>	Résultat de la culture d'isolat de <i>Rhizopus</i> (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	<b>66</b>
<b>Figure 43.</b>	Caractères microscopiques de <i>Rhizopus</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.) montrant un sporangiphore	<b>67</b>
<b>Figure 44.</b>	Culture de <i>Fusarium sambucinum</i> sur PDA après 7 jours de culture à 25° C	<b>69</b>

<b>Figure 45.</b>	Caractère microscopique de <i>Fusarium sambucinum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidie et microconidies	<b>69</b>
<b>Figure 46.</b>	Culture de <i>Fusarium culmorum</i> sur PDA après 7 jours de culture à 25° C	<b>71</b>
<b>Figure 47.</b>	Caractère microscopique de <i>Fusarium culmorum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidies	<b>72</b>
<b>Figure 48.</b>	Culture de <i>Fusarium solani</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C	<b>74</b>
<b>Figure 49.</b>	Caractère microscopique de <i>Fusarium solani</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné et phialide portant une macroconidie. C : Clamydiospores	<b>74</b>
<b>Figure 50.</b>	Culture de <i>Fusarium graminearum</i> sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C	<b>76</b>
<b>Figure 51.</b>	Caractère microscopique de <i>Fusarium graminearum</i> sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné	<b>76</b>
<b>Figure 52.</b>	Méthode de conservation en tube sur milieu PDA incliné	<b>77</b>
<b>Figure 53.</b>	Photos des résultats du test de l'activité antifongique des extraits méthanoïque de composés phénoliques de <i>Bunium incrassatum</i> par la méthode « <i>poisoned food technich</i> »	<b>80</b>
<b>Figure 54.</b>	Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de de l'échantillon de Tiaret	<b>82</b>
<b>Figure 55.</b>	Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de de l'échantillon de Laghouat	<b>82</b>
<b>Figure 56.</b>	Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de d'Aflou	<b>83</b>
<b>Figure 57.</b>	Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de Gueltat	<b>83</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les principales mycotoxines et leurs effets.....	<b>17</b>
<b>Tableau 2</b> : Classification de la plante <i>Bunium incrassatum</i> .....	<b>21</b>
<b>Tableau 3</b> : Composition de la poudre de racine de <i>B. incrassatum</i> .....	<b>24</b>
<b>Tableau 4</b> : Description du matériel végétal de l'étude.....	<b>29</b>
<b>Tableau 5</b> : Liste des lots de céréales analysés.....	<b>30</b>
<b>Tableau 6</b> : Taux de contamination de la semence par le <i>Fusarium</i> .....	<b>56</b>
<b>Tableau 7</b> : Taux d'humidité des différents lots de semences en pourcentage de la masse.....	<b>57</b>
<b>Tableau 8</b> : Liste des isolats obtenus.....	<b>59</b>
<b>Tableau 9</b> : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium sambucinum</i> .....	<b>68</b>
<b>Tableau 10</b> : Caractères microscopiques de <i>Fusarium sambucinum</i> .....	<b>68</b>
<b>Tableau 11</b> : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium culmorum</i> .....	<b>70</b>
<b>Tableau 12</b> : Caractères microscopiques de <i>Fusarium culmorum</i> .....	<b>71</b>
<b>Tableau 13</b> : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium solani</i> .....	<b>73</b>
<b>Tableau 14</b> : Caractères microscopiques de <i>Fusarium solani</i> .....	<b>73</b>
<b>Tableau 15</b> : Caractères macroscopiques de <i>Fusarium graminearum</i> .....	<b>75</b>
<b>Tableau 16</b> : Caractères microscopiques de <i>Fusarium graminearum</i> .....	<b>75</b>
<b>Tableau 17</b> : Les résultats de l'activité antifongique pour chaque extrait.....	<b>78</b>
<b>Tableau 18</b> : Tableau représentant le % des composants du résidu .....	<b>81</b>

# *Table des matières*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumés

Introduction générale

## **Partie 1. Synthèse bibliographique**

### **Chapitre 1. Généralité sur le blé**

1. Historique.....	1
2. Position systématique .....	1
3. Structure des grains de blé.....	1
4. Importance du blé.....	3
5. Stockage du blé.....	4
5.1. Conditions de stockage optimales.....	4
5.2. Stockage du blé en Algérie .....	5
6. Facteurs d'altération du blé .....	7
6.1. Altération d'origine mécanique ou physique.....	8
6.2. Altérations d'origine biologique .....	9
6.3. Altération d'origine enzymatique .....	10
6.4. Altération d'origine microbiologique .....	12
7. Procédés de traitement des grains .....	17
7.1 . La lutte chimique.....	17
7.2 . La lutte biologique .....	18
7.3. La lutte physique .....	19

### **Chapitre 2. Généralité sur l'espèce *Bunium incrassatum* (Talgouda)**

1. Taxonomie et systématique.....	20
2. Description botanique.....	22

3. Répartition géographique.....	23
4. Composition phytochimique.....	24
5. Utilisation de Bunium incrassatum.....	25

## **Partie 2. Etude expérimentale**

<b>I. Méthodologie de travail .....</b>	<b>27</b>
I.1 Lieu de réalisation du travail.....	27
I.2 Schéma de l'étude expérimentale .....	28
<b>Matériels et méthodes</b>	
I.3 Matériel biologique .....	29
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>32</b>
II.1. Extraction des phénols totaux.....	32
II.1.1. Extraction solide/liquide.....	32
II. 1. 2. Extraction liquide/liquide.....	33
II.1. 3. Rendement de l'extraction.....	36
II.2. Dosage des phénols totaux .....	36
II.3. Dosage des flavonoïdes .....	37
II.4. Analyse de la contamination des semences.....	38
II. 4. 1. Méthode d'analyse de l'humidité des grains .....	38
II. 4. 2. Méthode d'isolement des souches fongiques .....	38
a. Échantillonnage et prise d'essai .....	38
b. Désinfection des semences.....	38
c. La méthode du Geves.....	41
d. Méthode de purification des souches fongiques.....	42
e. Méthode d'identification et de caractérisation.....	42
f. Méthode de conservation.....	45
g. Calculs .....	46

II.5. Test de l'activité antifongique des extraits.....	47
III. Statistiques .....	49

### **Résultats et discussion**

1. Taux d'extraction.....	50
2. Teneurs en phénols totaux .....	51
3. Teneurs en flavonoïdes .....	53
4. Taux de contamination de la semence .....	56
4.1. Taux d'humidité .....	57
5. Résultat de l'isolement.....	59
6. Résultat de l'identification des différentes souches.....	62
6.1. Identification des moisissures les plus fréquentes.....	62
6.2. Identification des souches de <i>Fusarium</i> .....	67
7. Résultat de la conservation .....	77
8. Résultats de l'activité antifongique.....	77
9. Analyse globale des résultats .....	81

### **Conclusion générale et perspective**

### **Références bibliographiques Annexe**

# **INTRODUCTION**

## *Introduction*

---

Le blé est une culture essentielle à l'alimentation mondiale, jouant un rôle crucial dans la sécurité alimentaire et l'économie agricole de nombreux pays. Le blé revêt aussi une importance cruciale pour la souveraineté alimentaire des états, assurant leur autonomie dans la production de nourriture de base (FAO, 2020). En 2022, la production mondiale de blé était estimée à environ 784 millions de tonnes métriques (FAO, 2022). Le blé est une source importante de glucides, de protéines et de nutriments essentiels, jouant un rôle vital dans la lutte contre la faim et la malnutrition (FAO, 2020)

En Algérie, le blé est une culture fondamentale, non seulement pour sa contribution à l'alimentation de la population, mais aussi pour son impact économique significatif. Selon le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural de l'Algérie, le blé est l'une des principales cultures céréalières cultivées dans le pays, avec des efforts continus pour augmenter la production et garantir l'autosuffisance alimentaire (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural de l'Algérie, 2020). Après avoir enregistré une hausse dans les rendements agricoles durant la saison agricole 2021/2022 avec une production globale de 41 millions de quintaux (soit une hausse de 48% de plus par rapport à la précédente saison) parallèlement à une augmentation des quantités collectées qui ont atteint 27 millions de quintaux, le ministère de l'agriculture et du Développement Rural table en 2023 sur le renforcement des capacités de stockages (Le chiffre d'affaires, 2022).

Les maladies fongiques dans les silos de stockage du blé représentent une préoccupation majeure car elles entraînant des pertes économiques significatives pour les agriculteurs et les industries alimentaires et menace la sécurité alimentaire. Selon des études et des rapports, les maladies fongiques peuvent non seulement diminuer la valeur nutritionnelle du blé, mais aussi poser des risques pour la santé humaine et animale en cas de consommation de produits contaminés (FAO, 2020). Pour minimiser ces risques, il est crucial d'adopter des pratiques de gestion post-récolte rigoureuses, telles que le contrôle de l'humidité et de la ventilation des silos, ainsi que l'utilisation d'agents antifongiques sûrs et approuvés pour la protection des stocks de céréales.

## Introduction

---

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, qui se reconnaissent par la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique (**Harmi, 2012**). Les composés phénoliques sont précieux dans diverses industries dont l'agroalimentaire en raison de leurs propriétés antioxydantes, antimicrobienne, leur capacité à améliorer la qualité et la durée de conservation des aliments, ainsi que leur rôle dans la saveur et la couleur des produits alimentaires et leur valeur nutritionnelle.

Pendant les années quarante, dans les campagnes algériennes, le tubercule sauvage appelé « Talghouda » (*Bunium incrassatum*) représentait un dernier recours contre la famine, laissant aux jeunes générations peu de souvenirs de cette époque difficile (**Chââlal, 2009**). Aujourd'hui, cette plante est valorisée pour ses propriétés thérapeutiques ancestrales, grâce à sa capacité à produire une variété de composés secondaires aux activités biologiques diverses, suscitant ainsi un intérêt croissant pour l'évaluation de ses potentiels bienfaits (**Jacotot et Campillo, 2003**).

Notre étude vise à évaluer la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes de la plante *Bunium incrassatum* et à explorer leurs applications potentielles dans divers secteurs, en particulier l'industrie alimentaire. Nous avons choisi d'examiner des échantillons provenant de quatre régions différentes : Laghouat, Tiaret, Aflou et Gueltat. De plus, nous avons analysé le niveau de contamination de différents lots de blé et isolé plusieurs souches fongiques pour les identifier. Notre objectif était également d'étudier l'activité antifongique des extraits contre les champignons du genre *Fusarium* en utilisant la méthode de la « poisoned food ». Notre travail est organisé en deux parties distinctes :

- ∅ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique et comprend deux chapitres : Le premier chapitre aborde des généralités sur blé, e deuxième chapitre explore des généralités sur l'espèce *Bunium incrassatum* et ses utilisations dans des différents domaine.

## *Introduction*

---

∅ La deuxième partie est de nature expérimentale et décrit les démarches méthodologiques ainsi que les techniques utilisées. Elle englobe aussi les résultats obtenus et propose une discussion approfondie.

## **Synthèse bibliographique**

# Chapitre 1.

## **Généralité sur le blé**

## 1. Historique

Le blé est l'une des premières céréales cultivées par l'homme. On pense que son origine remonte au Croissant fertile, une région du Moyen-Orient comprenant des parties de l'actuel Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. Les premières preuves de culture du blé remontent à environ 10 000 ans avant notre ère. Les premières variétés de blé étaient des plantes sauvages appelées "émeus". Les premiers agriculteurs ont sélectionné et cultivé les variétés les plus adaptées à leurs besoins, favorisant ainsi la domestication du blé. Au fil du temps, plusieurs espèces de blé ont été domestiquées, donnant naissance à ce que nous connaissons aujourd'hui comme le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*). Avec le développement de l'agriculture, la culture du blé s'est répandue dans de nombreuses régions du monde, notamment en Europe, en Asie et en Afrique du Nord. Le blé est devenu l'une des cultures les plus importantes pour de nombreuses civilisations anciennes, telles que les Égyptiens, les Grecs et les Romains. Au cours de la révolution agricole, qui a débuté au 18<sup>e</sup> siècle en Europe, de nouvelles pratiques agricoles et techniques ont permis d'augmenter considérablement les rendements de blé. L'introduction de nouvelles variétés de blé, ainsi que l'utilisation de machines agricoles telles que la charrue et la moissonneuse-batteuse, ont révolutionné la production de blé à grande échelle (Mazoyer et Roudart, 2006).

## 2. Position systématique

Le blé est une céréale de la famille des Poacées (Graminées). Il appartient au genre *Triticum*. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) (Surget et Barron, 2005).

## 3. Structure des grains de blé :

Le grain de blé est un caryopse. Ce fruit sec indéhiscent est constitué d'une unique graine intimement soudée à l'enveloppe du fruit qui la contient. Sur l'épi, le grain est entouré d'enveloppes : les glumes et les glumelles. Elles n'adhèrent pas au grain et sont éliminées lors du battage. Au niveau morphologique, l'grain de blé est ovoïde et présente, sur la face ventrale, un sillon qui s'étend sur toute sa longueur.

## Chapitre I. Généralité sur le blé

À la base dorsale du grain, se trouve le germe, et à l'opposé, il est surmonté d'une brosse (Fig. 1). Le grain mesure de 5 à 7 mm de long, de 2,5 à 4 mm de large et de 2,5 à 3,5 mm d'épaisseur. Sa couleur varie du jaune pâle (blé dur ou blé tendre dit « blanc ») à l'ocre roux (ta plupart des blés tendres).

Un grain pèse entre 20 et 50 mg. De la surface externe vers le centre du grain, on distingue l'enveloppe du fruit ou péricarpe, puis l'enveloppe de la graine, ou testa, et enfin à l'intérieur de la graine, la bande hyaline, l'albumen et le germe. Chacun de ces tissus possède une structure et une composition particulières qu'il est intéressant de détailler (Surget et Barron, 2005).

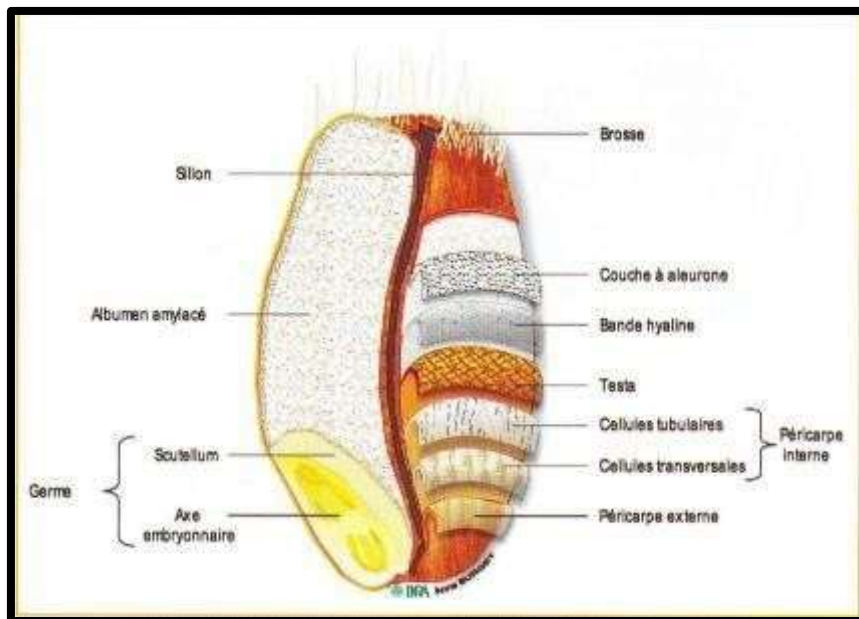


Figure 1. Grain du blé (Surget et Barron, 2005)

Un grain de blé est formé de trois régions :

- Albumen : constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersés au milieu d'une matrice protéique et dont les parois cellululosiques sont peu visibles) et de la couche à aleurone (80-85% du grain).
- Enveloppes de la graine et du fruit : formées de six tissus différents : épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe (13-17%).

- Germe (3%) : composé d'un embryon (lui-même formé de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum.

Comparativement à d'autres céréales, du maïs et du riz en particulier, le grain de blé possède un sillon résultant d'une invagination des téguments vers l'intérieur du grain, sur toute sa longueur et du côté du germe ; les faisceaux nourriciers de la graine au cours de son développement sont localisés au fond de ce sillon. Sa présence détermine la manière dont s'opère la séparation de l'albumen et des enveloppes pour extraire les farines ; il rend en effet impossible, comme en rizerie, l'élimination progressive des téguments par abrasion des parties périphériques.

L'extraction des farines nécessite de fragmenter les grains, puis d'isoler progressivement l'albumen à partir des zones les plus internes du grain, du centre vers la périphérie ; pour cette raison, les premières farines sont les plus purifiées. La longueur du grain (plus grande dimension) est comprise entre 5 et 8 mm, sa largeur entre 2 et 4 mm, son épaisseur entre 2,5 et 3,5 mm, sa section longitudinale entre 10 et 16 mm<sup>2</sup>, sa section transversale entre 4 et 7,5 mm<sup>2</sup>, son poids entre 20 et 50 mg et sa densité entre 1,3 et 1,4 (**Feillet, 2000**).

#### **4. Importance du blé**

Sur le marché mondial, l'Algérie continue d'être l'un des principaux importateurs de céréales, en particulier de blé dur et de blé tendre. Cette dépendance est principalement due à l'incapacité de la filière nationale à répondre aux besoins de consommation croissants de la population (**Ammar, 2014**).

Entre 2010 et 2015, l'Algérie a importé entre 6 et 7 millions de tonnes de blé par an. En 2015, environ 80 % des importations concernaient le blé tendre, tandis que le blé dur représentait seulement 20 % des importations. Cela s'explique par le fait que la production nationale est moins axée sur le blé tendre, malgré une augmentation des rendements grâce aux stratégies agricoles mises en place. La production nationale reste insuffisante pour satisfaire la demande croissante.

La France était le principal fournisseur de blé pour l'Algérie, représentant 54 % des importations, principalement de blé tendre. Par ailleurs, l'Algérie s'approvisionne en blé dur auprès du Canada, du Mexique et des États-Unis (**Hales et Rush, 2016**).

### 5. Le stockage du blé

Le stockage du blé est crucial pour maintenir sa qualité et prévenir les pertes post-récolte.

#### 5.1. Conditions de stockage optimales

Voici quelques pratiques essentielles pour le stockage du blé :

**Contrôle de l'humidité :** Le blé doit être séché à une teneur en humidité de 12-14% avant le stockage pour éviter la croissance de moisissures et les infestations d'insectes. Les installations de stockage doivent également surveiller l'humidité ambiante pour maintenir cette condition optimale. (Hellevang, 2023)

**Température de stockage :** Le blé doit être stocké à des températures fraîches pour ralentir le métabolisme des graines et empêcher le développement des insectes. Des températures inférieures à 15°C sont recommandées. (Hellevang, 2023)

**Aération et ventilation :** Une ventilation adéquate est nécessaire pour maintenir la température et l'humidité uniformes dans toute la masse de grain. Cela aide à prévenir la condensation et les points chauds qui peuvent favoriser la détérioration. (Magan et Aldred, 2023)

**Nettoyage des installations :** Avant de stocker du blé, il est crucial de nettoyer les silos et les entrepôts pour éliminer les résidus de récoltes précédentes, les poussières et les infestations d'insectes. (Magan et Aldred, 2023)

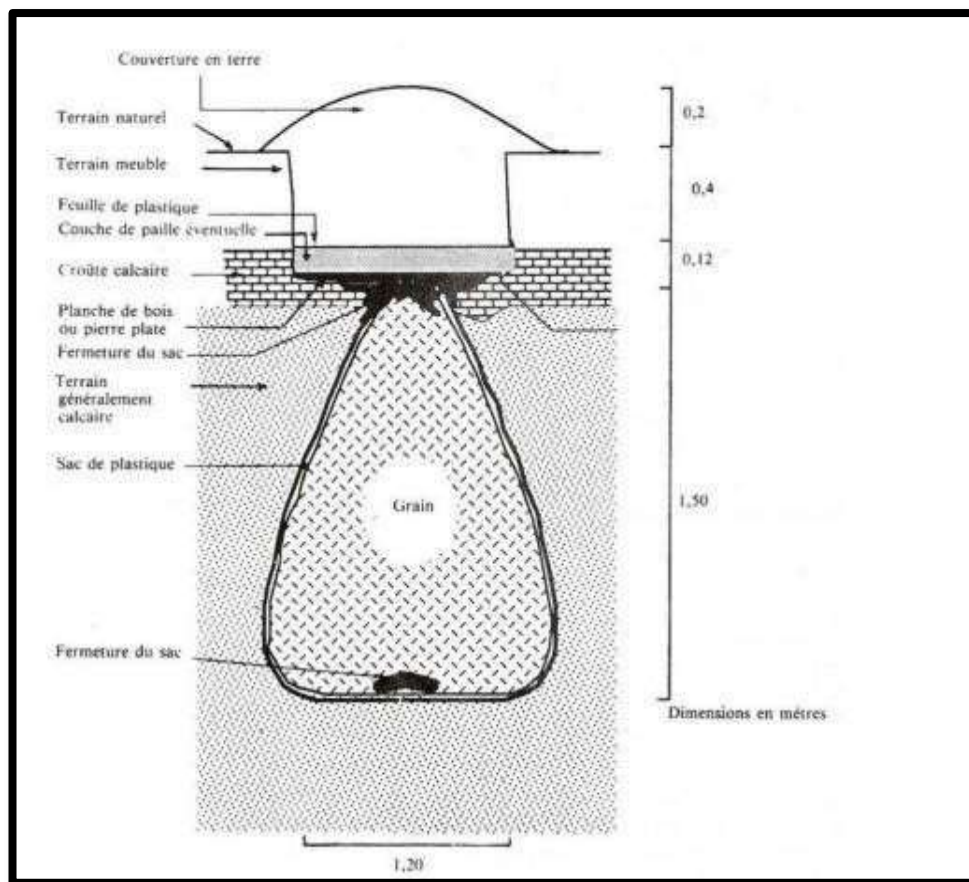
**Surveillance et gestion des infestations :** Une surveillance régulière et l'utilisation de traitements insecticides ou de fumigation peuvent être nécessaires pour gérer les infestations d'insectes dans les installations de stockage. (Magan et Aldred, 2023)

Ces pratiques sont essentielles pour garantir que le blé reste en bon état et conserve sa qualité nutritionnelle et marchande pendant toute la période de stockage.

### 5.2 Stockage du blé en Algérie

#### a. Stockage traditionnel du blé

Le stockage traditionnel du blé en Algérie est un aspect essentiel de la gestion post-récolte, particulièrement dans les régions rurales. Traditionnellement, le blé est stocké dans des silos souterrains appelés "matmoras" ou "guemoun". Ces structures sont creusées dans le sol et revêtues de matériaux locaux pour protéger le grain des insectes et des intempéries. Cette méthode de stockage est utilisée depuis des siècles et continue d'être pratiquée en raison de son efficacité dans des environnements arides (Lyddon, Chris 2022).



**Figure 2 : Vue en coupe d'un silo souterrain (matmoura) pour le stockage des céréales capacité 1.8 m<sup>3</sup> (Bartali, 1989)**

### **b. Stockage du blé en silos**

Aujourd'hui, les silos modernes permettent de stocker simultanément différents types de céréales, fonctionnant ainsi comme des espaces multi-produits (**Duron, 1999**). Ces structures, généralement cylindriques et construites en béton armé ou en acier inoxydable, offrent plusieurs avantages. Leur utilisation diminue la nécessité de main-d'œuvre, augmente la capacité de stockage et élimine le besoin de sacs coûteux (**Doumandji et al., 2003**).

En Algérie, le stockage des céréales est largement organisé à travers un réseau de silos et d'entrepôts stratégiquement répartis, gérés principalement par l'Office National Interprofessionnel des Céréales (ONICL). Ces installations jouent un rôle crucial dans la sécurité alimentaire du pays en assurant le stockage sécurisé des récoltes céréalières et en facilitant leur distribution à travers le territoire. Selon les données du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural de l'Algérie, cette infrastructure vise à maintenir la stabilité des prix des céréales sur le marché intérieur et à réduire les pertes post-récolte (**Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural de l'Algérie, 2020**). En outre, des efforts continus sont déployés pour moderniser ces installations afin d'améliorer leur efficacité et leur capacité à répondre aux besoins croissants de stockage dans un contexte agricole en évolution constante.

Le pays dispose d'un certain nombre de silos et d'entrepôts gérés principalement par l'Office National Interprofessionnel des Céréales (ONICL), une entité qui s'occupe de la collecte, du stockage et de la distribution des céréales en Algérie.

Les silos sont répartis stratégiquement dans diverses régions agricoles du pays, y compris dans les plaines céréalières de la Mitidja, dans les régions des Hauts Plateaux et même dans les zones sahariennes où les cultures de céréales sont pratiquées.

En plus des silos de stockage, l'Algérie dispose également d'infrastructures de transport telles que des ports et des réseaux ferroviaires pour faciliter l'acheminement des céréales depuis les zones de production vers les centres de consommation et les installations de stockage.

Le ministre de l'agriculture et du Développement rural d'Algérie, **Youcef Cherfa**, a récemment annoncé lors d'une séance à l'Assemblée populaire nationale (APN) le lancement prochain des travaux pour la construction de 350 centres de proximité de stockage des céréales à partir de **mars 2024**. Ces centres visent à renforcer les capacités de stockage du pays, passant de 3,4 millions de tonnes à 9 millions de tonnes. Chaque centre aura une capacité de stockage de 6.000 tonnes, nécessitant un investissement estimé à 25 milliards de dinars algériens par unité (**APS, 2024**). Ce projet s'inscrit dans le cadre d'un plan d'action plus large visant à améliorer la sécurité alimentaire nationale en augmentant les infrastructures de stockage agricole.



**Figure.3 Photo de silos pour le stockage et la conservation du blé (Le chiffre d'affaires, 2022)**

### **6. Facteurs d'altération du blé**

De la maturation dans le champ au stockage dans le silo, les grains de blé sont soumis à diverses altérations causées par différents agents, amplifiées principalement par trois facteurs : la durée d'entreposage, l'humidité et la température. Ces altérations peuvent être de types mécaniques (détérioration de l'enveloppe des grains ou bris des grains), biologiques (infestation par des insectes, rongeurs), biochimiques

(Brunissement), enzymatiques (dégradation de l'amidon, rancissement des lipides) ou microbiologiques (moisissures, mycotoxines) (**St-Pierre et al. 2015**).

### **6.1 Altération d'origine mécanique ou physique**

Les altérations d'origine mécanique résultent de chocs qui causent des cassures et favorisent d'autres formes d'altération. L'utilisation de radiations telles que les rayons gamma et les rayons ultraviolets (UV) peut entraîner des altérations radiochimiques telles que la pyrolyse, la redistribution de l'eau dans le grain et l'adhésion de l'amidon et des constituants protéiques (**Befikadu, 2019**).

#### **6.1.1. La durée d'entreposage**

Ce facteur est crucial car il détermine la durée des dégradations. Plus un grain humide attend avant d'être traité, plus il se dégrade. Par conséquent, il est impératif d'agir rapidement après la récolte pour mettre ce grain dans de bonnes conditions de stockage (**Rofia et al. 2018**).

#### **6.1.2. La température**

La température joue un rôle crucial dans la préservation des grains ; c'est le facteur le plus significatif qui influe sur la qualité du grain pendant le stockage. Elle influence à la fois la valeur intrinsèque des grains et la vitesse des réactions chimiques et enzymatiques, ainsi que la croissance des microorganismes. Pendant la conservation, une température plus élevée accélère les réactions biologiques des microorganismes (**Habbi et al. 2018**).

#### **6.1.3. Humidité**

Outre l'humidité provenant de l'environnement de stockage, il est à noter que les grains renferment eux-mêmes une certaine teneur en humidité, de l'ordre de quelques pourcentages. La combinaison de ces deux sources d'humidité peut devenir l'un des facteurs de détérioration les plus importants, favorisant le développement de moisissures et parfois même la germination pendant le stockage (**Cuz, et al. 2016**).

### 6.2. Altération d'origine biologique

Les facteurs biologiques qui contaminent les grains sont nombreux. Nous mentionnerons ici uniquement les principaux.

#### 6.2.1. Altération par les insectes

Certains insectes se nourrissent des grains. Lorsqu'un grain est mal conservé, il a tendance à se réchauffer naturellement, ce qui favorise initialement le développement des insectes. Cela se produit par le mécanisme de l'infestation : les insectes se nourrissent du grain et entraînent des élévations de température en raison de leurs activités métaboliques, ce qui accélère le processus de réchauffement (**Doukani, et al. 2015**).

Selon **Bettahar (2016)**, les principaux ravageurs parmi les espèces d'insectes sont les coléoptères, les lépidoptères et les acariens. Ces insectes nuisibles sont généralement classés en deux groupes : le premier groupe, constitué des ravageurs primaires, comprend les insectes capables d'endommager les grains sains ; le deuxième groupe, constitué des ravageurs secondaires, ne peut accéder au grain que lorsqu'il est déjà endommagé ou perforé, soit en raison du processus de stockage, soit à la suite d'une attaque des ravageurs primaires, leur offrant ainsi un point d'entrée. Leur présence conjointe avec des moisissures entraîne une augmentation significative de la température du grain, créant ainsi des zones chaudes qui favorisent la détérioration des semences.

#### 6.2.2 Altération par les rongeurs

Les rongeurs (de l'ordre des rongeurs, herbivores ou omnivores) figurent parmi les principaux ravageurs des céréales et des grains stockés. En plus de dégrader les grains, ils propagent de nombreuses maladies. Grâce à leur capacité d'adaptation exceptionnelle et à leur reproduction rapide, les rongeurs causent des dommages qui dépassent souvent ceux causés par d'autres ravageurs (**König, 2016**).

Les rongeurs figurent parmi les ravageurs les plus répandus. Dans plusieurs pays, ils causent autant, voire davantage de dégâts que les insectes nuisibles (**König, 2016**).

Les pertes réelles causées par les rongeurs dépassent largement la quantité de produits consommés par ces animaux, car ils contaminent le blé stocké avec leur urine, leurs excréments, leurs poils et des agents pathogènes. Étant donné qu'il est difficile, voire impossible, de nettoyer la contamination causée par les rongeurs dans les grains, les lots infestés sont souvent déclarés impropres à la consommation humaine ou classés comme pertes totales (**Bettahar, 2016**).

Environ 50 maladies transmissibles à l'homme sont associées aux rongeurs, parmi lesquelles la typhoïde, la paratyphoïde, la trichinose, la gale, la peste et les fièvres hémorragiques comme le virus Ebola (**Jack, 2016**).

Les espèces les plus courantes à travers le monde sont :

- Le rat noir ou rat domestique (*Rattus rattus*), figure 2
- Le surmulot (*Rattus norvegicus*),
- La souris domestique (*Mus musculus*).



**Figure 4.** Une image représentant un rat domestique *Rattus rattus* sur un sac de céréales en stockage (**Christiane, 2017**).

### 6.3 Altérations d'origine enzymatiques

Le blé contient naturellement des enzymes, telles que les enzymes amylolytiques et protéolytiques, qui peuvent devenir actives lorsque les conditions sont favorables (humidité, chaleur...). Ces enzymes peuvent dégrader les composants du blé, tels que l'amidon et les protéines. Ces réactions enzymatiques peuvent entraîner une altération de la texture, une perte de valeur nutritionnelle et une augmentation de la teneur en acides gras libres, ce qui peut entraîner un goût rance ou une odeur désagréable.

Le grain de blé est constitué d'environ 60 à 70 % de glucides, comprenant à la fois des saccharides fonctionnels et des saccharides de stockage, principalement sous forme de polysaccharides tels que l'amidon et la cellulose. Ces polysaccharides ne sont pas directement assimilables par les microorganismes et nécessitent l'intervention d'enzymes intracellulaires telles que les amylases et les cellulases (**Pitet, 2018**).

Les levures et les bactéries fermentatives utilisent leurs activités enzymatiques, en plus des enzymes endogènes disponibles, pour provoquer plusieurs modifications dans les matières premières céréalières fermentées. Les variations de pH induites par la fermentation peuvent catalyser l'action de certaines enzymes telles que les protéases céréalières, qui dégradent les prolamines endogènes et augmentent l'hydrolyse des gliadines, gluténines, glutamines et globulines (**Kermiche, 2016**).

Les diverses activités protéolytiques pendant la fermentation hydrolysent les protéines pour produire des acides aminés libres, qui servent de précurseurs de saveur. De plus, la fermentation bactérienne augmente les niveaux d'acides aminés libres, tandis que les levures consomment ces acides aminés libres pour leur propre métabolisme (**Amourche, 2016**). Les genres protéolytiques les plus connues incluent les *Bacillus*, les *Proteus*, les *Streptomyces*, etc. (**Tahir, 2017**).

Les lipides présents dans les grains, en particulier les triglycérides, sont particulièrement sensibles à la dégradation par les microorganismes. Les triglycérides sont hydrolysés en acides gras et en glycérol grâce à des lipases ou à des estérases moins spécifiques, souvent exocellulaires. Ces lipases se trouvent chez divers microorganismes tels que les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Geotrichum*...), les levures (*Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis*...) et les bactéries (*Serratia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Chromobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*...) (**Haichour, 2017**).

Les acides gras sont dégradés par les microorganismes aérobies et anaérobies facultatifs (*Pseudomonas*, *Entérobactéries*, *levures*, *moisissures*...) via la  $\beta$ -oxydation. L'évolution de l'acidité grasse est l'une des manifestations les plus sensibles des modifications biochimiques subies par le blé au cours du stockage (**Kermiche, 2016**).

### 6.4. Altération d'origine microbiologique

Les céréales non transformées ne sont pas stériles ; elles hébergent une diversité de microorganismes adaptés, appelés germes spécifiques. Ces derniers, dans des conditions propices à leur croissance, deviennent les premiers ravageurs des céréales pendant le stockage. Les céréales sont altérées dans de nombreux cas par diverses moisissures, levures et bactéries (**Amourche, 2016**).

#### a. Les bactéries

La contamination du blé par les bactéries provient principalement des microflores du sol, comprenant des bactéries appartenant à la famille des Pseudomonadaceae (*Pseudomonas*), Xanthomonadaceae (*Xanthomonas*), Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Bacillaceae, etc. Les grains ne fournissent pas un environnement propice aux germes pathogènes ou toxigènes tels que *Salmonella*, *Clostridium* ou *Staphylococcus* (**Berkache, et al. 2018**). À la récolte, les produits céréaliers sont généralement peu contaminés par les Streptomycetaceae, des microorganismes bien connus pour leur capacité à produire des antibiotiques. Les principaux représentants de cette famille sur les grains semblent être *Streptomyces albus* (**Cuz, et al. 2016**).

#### b. Les moisissures

Il est important de noter que les végétaux sont souvent contaminés par les moisissures pendant la culture, et que la croissance des champignons ainsi que la production de toxines se poursuivent après la récolte (**Cuz, et al. 2016**).

Il existe de nombreuses espèces de moisissures, et les spécialistes font généralement la distinction entre la flore du champ cultivé, la flore intermédiaire et la flore de stockage, parmi lesquelles les espèces les plus caractéristiques sont *Aspergillus sp.* Et *Penicillium sp.* (**Belmehdi, et al. 2019**).

Les espèces de moisissures aérotolérantes commencent à se développer dès que l'humidité relative de l'air dépasse 65 %, mais la plupart préfèrent une humidité supérieure à 85 %. Enfin, les moisissures sont généralement considérées comme aérobies, bien que certaines espèces puissent se contenter de traces d'oxygène et que d'autres résistent à l'anaérobiose. Par leur respiration, elles sont les principales

responsables de l'échauffement des stocks de grains insuffisamment séchés (**Meghazi, 2015**).

La flore de stockage est principalement composée d'espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, parmi lesquels les *Penicillium* et les *Aspergillus* sont dominants.

Les moisissures retrouvées dans le blé stocké :

### **b.1 Le genre *Aspergillus***

Ce genre est souvent associé aux *Penicillium*, mais il se distingue de ce dernier par l'aspect des conidiophores qui sont terminés par une tête renflée. *Aspergillus* signifie "aspersoir" en raison de la forme de ses têtes aspergillaires. Ce sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, faisant partie de la famille des *Aspergillaceae* et de la classe des Ascomycètes (**Rocio, et al. 2020**).

Les *Aspergillus* sont des contaminants très répandus, regroupant entre 180 et 250 espèces selon les sources. Parmi celles-ci, seules *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus* et *A. niger* sont considérées comme thermotolérantes. Lorsque les grains sont récoltés dans des conditions humides, insuffisamment séchés, ou lorsqu'ils absorbent de l'humidité pendant le stockage, les *Aspergillus* peuvent se développer rapidement et passer d'un état saprophyte à parasitaire, entraînant ainsi une diminution significative de la capacité de germination des graines (**Belmehti, et al. 2019**).

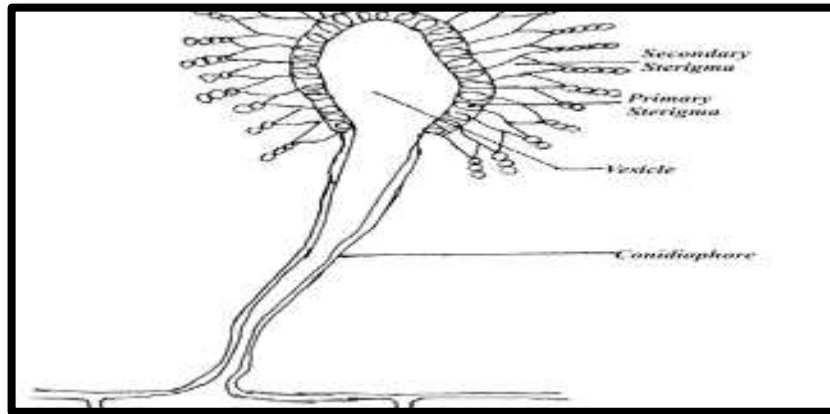


Figure 5. : Image microscopique d'Aspergillus-flavus (Ogunleye, et al. 2015)

### b.2 Le genre *Penicillium*

Parmi tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus répandu. Il compte plus de 200 espèces présentes partout, de l'équateur aux pôles. Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore, qui est divisé en articles rappelant la forme d'un pinceau.

À la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme visible et se dégrader pendant la conservation. Comme c'est le cas pour les Aspergillus, les spores asexuées, ou conidies, sont produites par bourgeonnement (Cuz, et al. 2016).

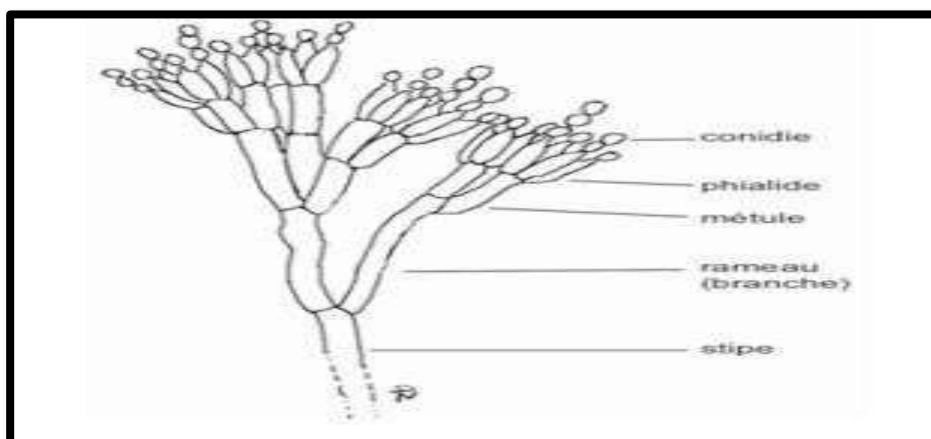
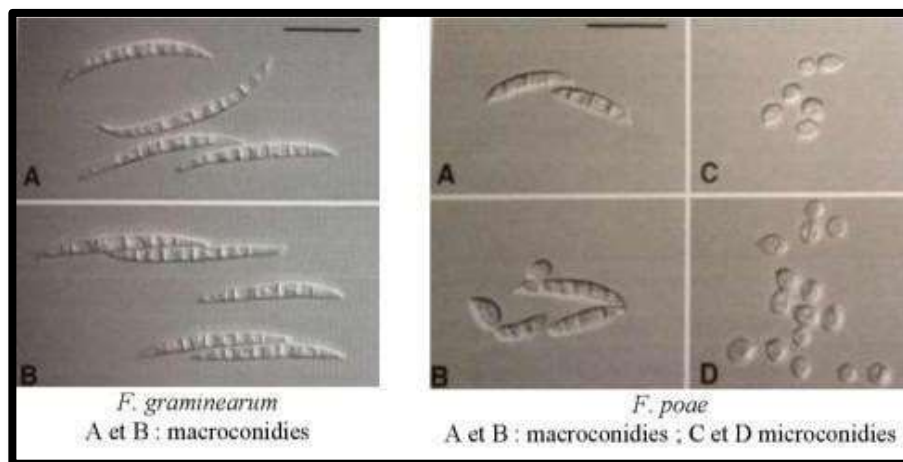


Figure 6. Image descriptive de *Penicillium-terverticille* (Ogunleye, et al. 2015)

### b.3 Le genre *Fusarium*

Le nom *Fusarium* dérive de "fusus", qui signifie fuseau, en référence à la forme fusiforme et cloisonnée de ses macroconidies. Ce sont des champignons cosmopolites, avec près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivant en tant que saprophytes.



**Figure 7. Les principales caractéristiques morphologiques des deux espèces de *Fusarium* (Sophie, 2015)**

Certains *Fusarium* sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines qui contaminent les denrées alimentaires, provoquant ainsi des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Sophie, 2015).

Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé. Ces champignons ont besoin d'une humidité élevée pour se développer (Jiménez-Díaz, et al. 2015).

### c. Les mycotoxines

#### C.1. Nature et origine des mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques, de faible poids moléculaire (compris entre 200 et 10 000 daltons), produits par certaines moisissures qui se développent sur divers produits agricoles dans des conditions environnementales spécifiques (Krska, 2009).

À ce jour, on connaît entre 300 et 400 mycotoxines (**Pamel et al., 2010**). Ces petites molécules sont peu solubles dans l'eau, peu volatil et difficile à métaboliser par les organismes vivants. De plus, elles présentent une grande stabilité face à l'acidité et à la chaleur (**Ruppel et al., 2004**).

Chimiquement, les mycotoxines ont des origines variées : certaines sont issues des polycétoacides, comme les aflatoxines, l'ochratoxine, la patuline et la stérigmatocystine ; d'autres proviennent des acides aminés, comme les alcaloïdes de l'ergot, l'acide aspergillique et l'acide cyclopiazonique ; enfin, certaines sont des dérivés terpéniques, telles que le désoxynivalénol, le diacétoxyscirpénol et la fusariose (**Leclerc et al., 2005**).

### C.2. Effets des mycotoxines

Les mycotoxines représentent une menace imminente qui lance un signal d'alarme en raison des importantes pertes économiques qu'elles causent, affectant à la fois la santé humaine, la productivité animale et les échanges commerciaux à l'échelle nationale et internationale. La **FAO** estime que plus de 25 % des récoltes mondiales sont significativement contaminées par des mycotoxines (**Krska, 2009**).

La consommation d'aliments contaminés par des mycotoxines peut provoquer des toxicités aiguës ou chroniques, appelées mycotoxicoses. Bien que les intoxications aiguës soient rares, notamment chez l'homme, en raison des faibles quantités de toxines généralement ingérées avec les aliments contaminés, les intoxications chroniques sont plus préoccupantes. Ces dernières sont dues à l'accumulation progressive des toxines dans des organes cibles, comme le foie ou les reins (**Leclerc et al., 2005**). En outre, les mycotoxines peuvent avoir des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs (voir Tab 01).

De plus, certaines mycotoxines peuvent compromettre les réactions immunitaires, diminuant ainsi la résistance aux infections. Cet impact est désormais reconnu comme l'un des plus significatifs, en particulier dans les pays en développement (**Pamel et al., 2010**).

**Tableau 1:** Les principales mycotoxines et leurs effets (**Brochard et al., 2009**).

<b>Mycotoxines</b>	<b>Effets avérés ou suspectés</b>
<b>Aflatoxines</b>	Hépatotoxique- Mutagène- Cancérogène- Immunotoxique
<b>Citrinine</b>	Néphrotoxique
<b>Fumonisine B1</b>	Neurotoxique- Hépatotoxique- Immunotoxique- Cancérogène
<b>Ochratoxines</b>	Néphrotoxique- Cancérogène- Mutagène
<b>Patuline</b>	Neurotoxique- Mutagène (in vitro)
<b>Pénitrème A</b>	Neurotoxique
<b>Stérigmatocystine</b>	Cancérogène- Hépatotoxique
<b>Trichothécènes</b>	Cancérogène- Hépatotoxique- Immunotoxique- Hématotoxique
<b>Zéaralénone</b>	Ostrogénique- Effet sur la fertilité et la reproduction

### 7. Procédés de traitement des grains

La lutte contre les maladies cryptogamiques du blé vise à protéger les plantes saines plutôt qu'à guérir les plantes malades, afin d'accroître la quantité et d'améliorer la qualité de la production agricole (**Benmehidi et Boukaabache, 2018**). Les méthodes de lutte utilisées en agriculture varient considérablement selon la maladie, en fonction du pathogène, de la plante hôte et de leurs interactions respectives avec l'environnement (**Nasraoui, 2008**).

#### 7.1 La lutte chimique

Avec l'apparition des pesticides de synthèse il y a environ 50 ans, certains ont cru que les ennemis des cultures seraient vaincus et éliminés. De toute évidence, cela ne s'est pas réalisé. Cependant, l'augmentation de la quantité et de la qualité des denrées agricoles produites est indéniablement liée à l'utilisation des pesticides, et les agricultures qui y ont accès sont rarement touchées par des infections dévastatrices (**Yezli, 2011**).

Les principales matières actives utilisées seules ou en association sont :

- **Epoxiconazole** : une matière active appartenant au groupe chimique des triazoles.
- **Spiroxamine** : un inhibiteur de la biosynthèse des stéroïdes avec un effet fongicide et une activité systémique (**Santé Canada, 2015**).
- **Tébuconazole** : un composé chimique de la famille des triazoles, utilisé pour ses propriétés antifongiques comme substance active dans les produits phytosanitaires et biocides (**Fouille, 2011**).
- **Triadimenol** : un fongicide systémique avec des actions protectrice, curative et éradicatrice. Il est absorbé par les racines et les feuilles, se transloquant rapidement dans les jeunes tissus en croissance, mais moins dans les tissus plus anciens et lignifiés.
- **Propiconazole** : développé en 1979 par Janssen Pharmaceutica, appartient à la famille des triazoles.
- **Cyproconazole** : également appartenant à la famille des triazoles (**Fouille, 2011**).

### 7.2 La lutte biologique

La lutte biologique se définit comme l'introduction d'un ennemi naturel pour réduire les dommages causés par un ravageur ou un pathogène spécifique. Les ennemis naturels, tout comme les ravageurs et pathogènes, peuvent être de différentes natures : plantes, insectes, nématodes, champignons, bactéries, virus, etc.

Un biopesticide est constitué d'un organisme vivant (plante, nématode, bactérie, champignon ou virus) ou d'un produit dérivé de cet organisme, utilisé pour supprimer ou réprimer un ravageur ou un pathogène. De nombreux biopesticides ont pour principes actifs des microorganismes antagonistes. Ces microorganismes peuvent exercer une activité antagoniste par divers mécanismes, incluant : la compétition, les interactions directes cellule à cellule, l'antibiose, la dégradation des signaux de quorum sensing (QS), et les actions sur la résistance de l'hôte (**Bojanowski, 2011**).

### 7.3 La lutte physique

Divers agents physiques peuvent être utilisés pour empêcher la persistance des agents phytopathogènes dans l'environnement (**Nasraoui, 2008**). La lutte physique consiste à créer des conditions climatiques défavorables en utilisant des agents tels que la température (élevée ou basse), l'air sec, la lumière à longueurs d'onde défavorables et les radiations. Ces agents peuvent être employés pour contrôler les maladies des plantes (**Orlici et Benkara, 2018**).

# Chapitre 2.

**Généralité sur l'espèce**

*Bunium incrassatum*

*Bunium incrassatum* est une plante médicinale de la famille des ombellifères (*Apiaceae*), est Très fréquente dans l'est de l'Algérie et connu par le nom Talghouda, avec une valeur économique élevée. (**Boukezata, 2014**).

Elle est aussi présente dans toutes les régions du tell en Algérie. Elle évoque pour certains une source alimentaire remarquable mais pour d'autre, un symbole de misère qui rappelle la famine des années de disette en particulier durant la deuxième guerre mondiale et la période de révolution nationale. De nos jours, elle intéresse certains cueilleurs herboristes pour son usage thérapeutique (**Benkhalifa, 2018**).

### ***1. Taxonomie et systématique *Bunium incrassatum****

Fait partie de la famille des *Apiaceae* ou ombellifères qui comporte 56 genres et 130 espèces dans la flore algérienne (**Bouderdara, 2013**). Les plantes de la famille des *Apiaceae* sont principalement des annuelles herbacées tempérées (fenouil, coriandre, coriandre, cumin, aneth, fenouil doux), des bisannuelles (carotte, persil, panais, céleri) ou des vivaces (angélique, livèche, fenouil amer). Les ombellifères (*Umbelliferae*) sont une grande famille avec plus de 3 000 espèces cultivées dans le monde à des fins alimentaires, végétales, aromatiques, épicées ou médicinales. (**Aćimović, 2017**).

Les espèces de ce genre sont des herbes utilisées pour leurs vertus médicinales et alimentaires grâce à leurs grains et leurs huiles essentielles (**Lefahal, 2014**).

Le genre *Bunium* est représenté en Algérie par 7 espèces (fig.8) la classification l'espèce qui fait l'objet de l'étude est représenté dans le (tab 2) :

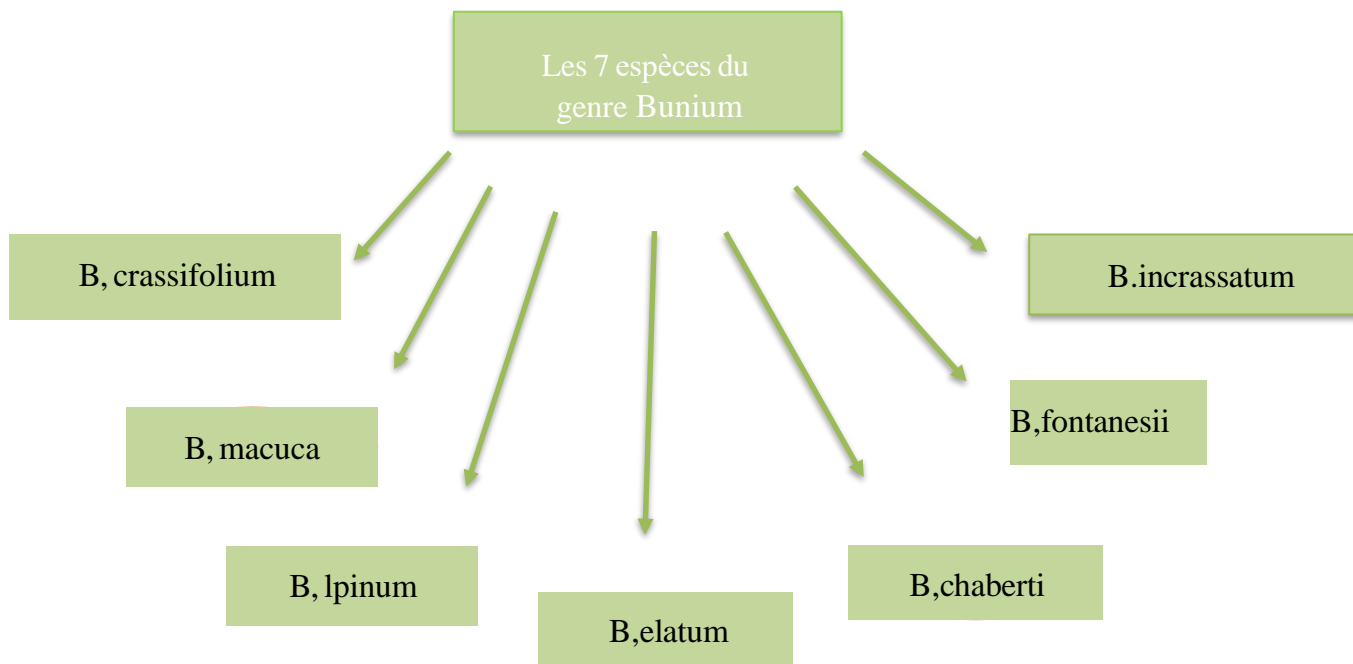


Figure 8. Les sept espèces du genre *Bunium*

Tableau 2. Classification de la plante *Bunium incrassatum* (Lefahal, 2014)

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous règne</b>	tracheobionta
<b>division</b>	Magnoliophyta
<b>classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Dilleniidae
<b>ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Bunium</i>
<b>Espece</b>	<i>Bunium incrassatum</i>

## 2. Description botanique

Plante vivace, herbacée à racine renflée en tubercule arrondie peu odorante. Tiges grêles de 10-50 cm de hauteur, robustes, feuilles à divisions linéaires, (Fig.9) (**Ben Ziane et Yousfi, 2001**).



**Figure 9. Description morphologique de *B. incrassatum* (Ben Ziane et Yousfi, 2001).**

Ayant des rayons des ombelles et des ombellules restantes grêles, de 5 à 7 cm de large ; les fruits sont rétrécis au sommet à méricarpe contigus et sont 4 à 5 fois plus longs que larges ; les tiges sont grêles de 10 à 50 cm hauteur et les feuilles sont bipennatiséquées, à segments linéaires ou linéaires lancéolés (**Quezel et Santa, 1963**).

Ce caractérisées par :

- Une racine tuberculeuse grosse comme une noix, arrondie, noirâtre en dehors, très blanc en dedans, profondément enfoui dans la terre.
- Une tige dressée, raide, sillonnée-anguleuse au sommet, striée et à rameaux dressés.
- Des feuilles 2 à 3 ailées, à lanières linéaires, et partagés en découpures étroites et linéaire.

- Ombelles à 7-14 rayons inégaux, les fructifères rigides, épais, divariqués-ascendants.
- Calice à dents courtes et raides
- Fruit linéaire-cylindrique, à méricarpes non contigus, à côtes carénées, aiguës.
- Des fleurs blanches (la floraison : est en Mai-juin et juillet).

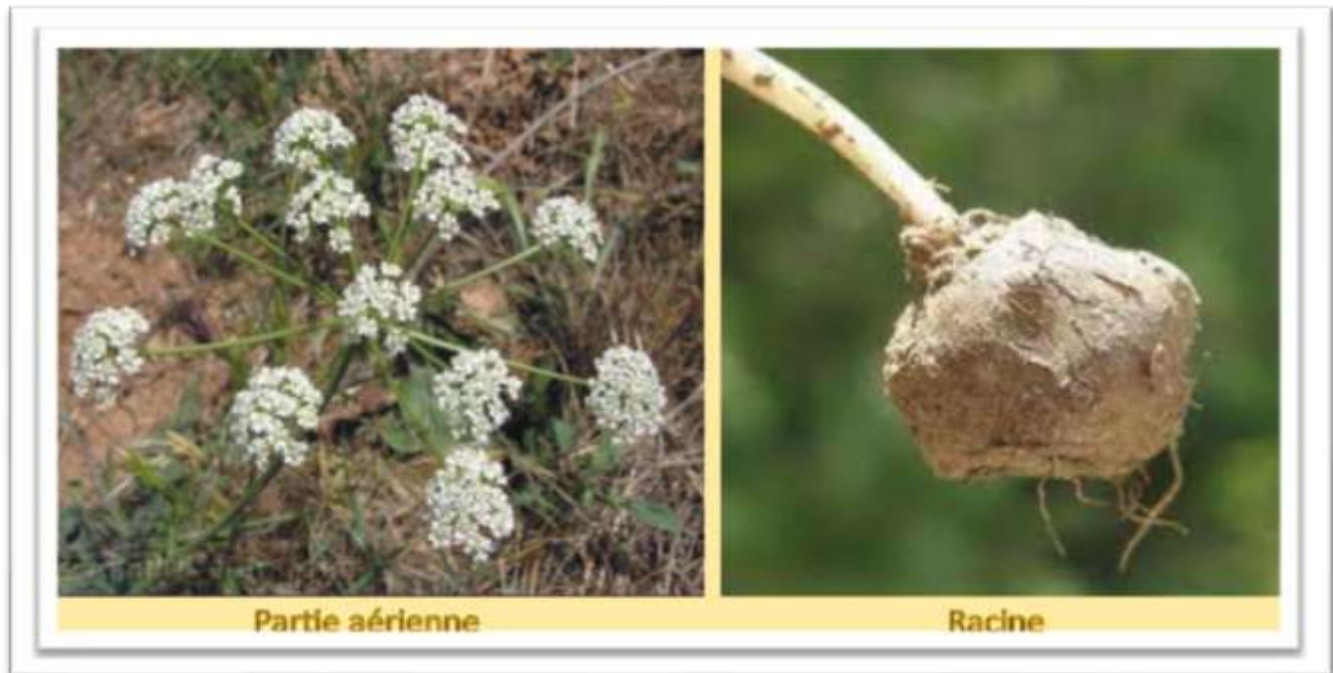


Figure 10. Les fleurs et les tubercules de *B.incrassatum* (Chentouh, et al, 2018).

### 3. Répartition géographique

Le genre *Bunium* compte environ 50 à 100 espèces dans le monde, fréquemment distribuées en : Algérie, Italie, Pakistan, Iran et Afrique du Sud. (Lefahal et al., 2017) et en Afrique du nord (Degtjareva et al., 2009). En Algérie, cette plante est très rependue dans l'est surtout dans la région d'Oum El Bouaghi (Chentouh et al., 2018) aussi dans toutes les régions de tell (Benkhalifa et Toumi, 2019).



Figure 11. Distribution de *Bunium incrassatum* dans le nord-africain.

#### 4. Composition phytochimique de *B. incrassatum*

Des études phytochimiques sur la composition nutritionnelle de la plante médicinale *B. incrassatum* ont montré que La poudre de racine de *B. incrassatum* contient des éléments nutritionnels comme des lipides, des protéines, de l'amidon et ses dérivés, des minéraux dont le plus connu est le calcium, et des polyphénols, notamment de flavonoïdes (quercétine), des alcaloïdes et un taux élevé de coumarines (Aiouaz&Bitam, 2022).

Ses racines poussent à l'état sauvage, donnent un tubercule riche en amidon, consommé à l'état cru ou sécher puis moude pour en obtenir une farine (El kolli et al., 2017).

Tableau 3. Composition de la poudre de racine de *B. incrassatum*

Eau	15,66
Cendre	5,5
Matière azotées	7
Matière grasse	1,34
Amidon	63,2
Cellulose	6,4

## 5. Utilisation de *Bunium incrassatum*

### 5.1 Usage médicinale

Dans la région de Tlemcen, la partie racinaire de la plante utilisée contre le rhumatisme, la flatulence et les tumeurs (**Bouziane, 2017**). Elles traitent merveilleusement le goitre et la thyroïde (**Boumediou et Addoun, 2017**). *B. incrassatum* stimule le système immunitaire et joue le rôle de relaxant nerveux, pour traiter certaines maladies comme la cystite, la pyélonéphrite, les vers intestinaux et les plaies. (**Taïbi et al., 2021**).

D'autre part, les tubercules transformés en poudre sont utilisés comme anti-diarrhéique, astringent ou contre les hémorroïdes inflammatoires. Selon les guérisseurs traditionnels, cette plante est également utilisée dans le but d'augmenter le poids, la sécrétion de lait de certains animaux de ferme (**Jassbi et al., 2005**).

### 5.2. Usage alimentaire

*Bunium incrassatum* était une source importante de nourriture pour les Algériens pendant la période coloniale et les famines. Le tubercule est moulu puis utilisé comme farine dans la préparation du pain et du couscous, ou comme légume dans d'autres plats. Cette plante est associée au maintien d'un état de santé équilibré pendant la guerre (**Aiouaz&Bitam, 2022**). Dans la région d'Est Les racines de cette plante sont consommées comme des pommes de terre dans l'alimentation (kouskous) (**Lefahal, 2014**).

Dans la région de Ghardaïa, ils mélangent *Talghouda* de deux ou plusieurs ingrédients d'origines différentes comme l'huile d'olive, le miel et le lait de chèvre (**Gagi et Toubal, 2018**) (**Taïbi et al., 2021**).

### 5.3. Activités biologiques

L'huile essentielle des espèces de *Bunium* possède des activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydantes. Cette plante (ses parties aériennes) et ses composés principaux ont été utilisés comme source d'antioxydants naturels pour la prévention de la dégradation des principes actifs en cosmétique et comme agent de protection solaire dans les cosmétiques (**Lefahal et al., 2022**). Cette plante est utilisée pour soigner les plaies (**Aiouaz et Bitam, 20**)

# **Etude expérimentale**

***Méthodologie de  
travail***



## I. Méthodologie de travail

Dans le cadre de ce mémoire, notre étude s'est focalisée sur l'analyse et la valorisation des composés phénoliques présents dans les racines de la plante alimentaire et médicinale *Bunium incrassatum*, appelée communément « Talghouda ». Nous avons procédé à l'extraction solide/liquide en utilisant un montage à reflux puis l'extraction liquide/liquide a été réalisée grâce à l'ampoule à décanter. Par la suite nous avons fait le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes. Après analyse du taux de contamination fongique des lots de blé dur (semences et durant le stockage en silos), nous avons procédé à l'isolement et l'identification des souches de moisissures. En complément de notre analyse chimique et microbiologique, nous avons également testé le pouvoir antifongique des extraits de *Bunium incrassatum* contre les champignons du genre *Fusarium* avec la méthode « poisoned food technique ». Les méthodes sélectionnées pour cette étude sont fiables et couramment utilisées dans l'analyse de ces composés.

### I.1. lieux de réalisation du travail

Le travail expérimental, subdivisé en plusieurs étapes a été réalisé en 4 différents lieux :

- ✓ L'échantillonnage et l'acquisition des racines de « Talghouda » a été réalisé dans plusieurs commerces de différentes régions.
- ✓ L'extraction des composés phénoliques a été effectuée au laboratoire de biochimie du département d'agronomie de l'université Ammar Telidji Laghouat.
- ✓ Les dosages des composés phénoliques et des flavonoïdes, ont été effectués au laboratoire de recherche des sciences fondamentales à l'université de Laghouat.
- ✓ L'analyse de la contamination du blé et le test de l'activité microbiennes ont été réalisés au laboratoire de microbiologie du département d'agronomie de l'université Ammar Telidji Laghouat.

## 1.2. Schéma de l'étude expérimentale

Les étapes de cette étude expérimentale sont résumées dans la figure suivante :

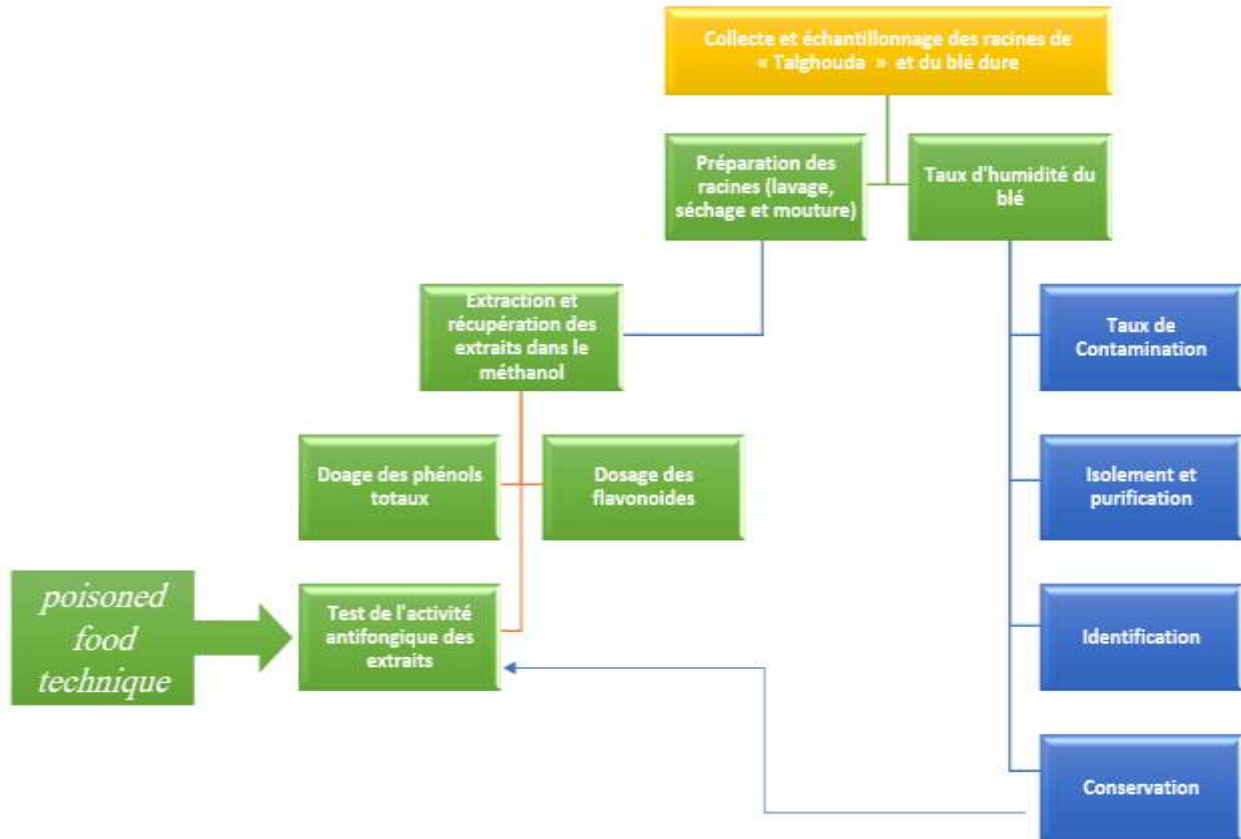


Figure 12. Schéma de l'étude expérimentale.

# *Matériel et méthode*

### I.3. Matériel biologique

Le matériel végétal de l'étude est décrit dans le (tab 4). Nos échantillons de « Talghouda » ont été collecté de manière aléatoire de plusieurs commerces en Algérie. Avant d'être utilisés dans notre étude, les racines de talghouda ont été soigneusement nettoyé, séché et broyé à l'aide d'un mixeur. Nous avons choisi de comparer la composition des racines de *Bunium incrassatum* de quatre régions différents (les plus présentes sur le marché algérien).

**Tableau 4. Description du matériel végétal de l'étude**

<i>Origine</i>	<i>Date de récolte</i>	<i>Couleur</i>	<i>Photo</i>
<i>Aflou</i>	2023	<i>Jaune claire</i>	
<i>Laghouat</i>	2023	<i>Beige claire</i>	
<i>Tiaret</i>	2023	<i>Beige jaunâtre</i>	
<i>Gueltat</i>	2023	<i>Beige claire</i>	

Huit échantillons de semences et de blé, produites localement, ont été collectés et analysés du point de vue teneur en eau, et mycoflore. Le tableau ci-dessous nous renseignent sur les différents échantillons.

**Tableau 5. Liste des lots de céréales analysés**

Code	Espèce	Nom de la variété		Région géographique	Récolte
Bd 1	Blé dur	Siméto	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 2		Oued el bared	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 3		Vitron	Blé de consommation	C.C.L.S (Laghouat)	2023
Bd 4		Mansoura	Blé de consommation	Laghouat	2023
Bd 5		Siméto	Semence	Laghouat	2023
Bd 6		Oued el bared	Semence	Laghouat	2023
Bd 7		Vitron	Semence	C.C.L.S (Laghouat)	2023
Bd 8		Mansoura	Semence	Laghouat	2023



Figure 13. Lots de blés collectés.

### **I.1.2. Principaux outils et appareils utilisés (voir annexe)**

## **II. Méthodes**

### **II.1. Extraction des phénols totaux**

Nous avons utilisé la méthode d'extraction de **Hamini et Yousfi (2015)** modifiée.

#### **II.1.1. Extraction solide/liquide**

Pour cela, un échantillon de 30 g a été combiné avec 100 ml d'une solution éthanol-eau distillée dans un rapport de 80/20 (v/v). L'extraction a été réalisée par reflux en utilisant un montage approprié (Fig. 14) pendant une période de 6 heures. Après cette étape, le contenu des ballons a été filtré pour obtenir uniquement la phase aqueuse, tandis que l'éthanol a été récupéré à l'aide d'un évaporateur rotatif (Fig. 15).



**Figure 14. Extraction des échantillons avec le montage à reflux**



**Figure 15. Évaporation de l'échantillon avec l'évaporateur rotatif**

### **II.1.2. Extraction liquide/liquide**

Nous avons mis en œuvre une méthode d'extraction liquide-liquide. Tout d'abord, nous avons placé l'échantillon dans une Ampoule à décanter, en prenant soin d'effectuer cette opération sous une hotte. Par la suite, nous avons ajouté 30 ml d'éther de pétrole et procédé à une agitation vigoureuse. Cette étape nous a permis d'obtenir deux phases distinctes, que nous avons soigneusement séparées. Cette procédure d'extraction a été répétée à trois reprises afin d'optimiser le processus. Dans la deuxième étape, nous avons introduit 20 ml d'acétate d'éthyle et effectué un mélange approfondi pour assurer une bonne répartition des composants. Par la suite, nous avons procédé à la séparation des deux phases obtenues. Comme précédemment, cette étape a été répétée trois fois pour maximiser l'extraction. Pour la troisième et dernière étape, nous avons ajouté 2 cuillères à café de sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer toute trace d'eau présente dans le mélange. Après avoir filtré le mélange, nous l'avons transféré dans des flacons vides et stériles, en garantissant ainsi la préservation de l'échantillon extrait (Fig.16, 17). Après avoir réalisé l'extraction liquide-liquide, nous avons procédé à la concentration de l'extrait d'acétate d'éthyle par évaporation sous une pression réduite de 40C.

Ensuite, nous avons récupéré la fraction obtenue dans 10 ml de méthanol.



**Figure 16. Les étapes de l'extraction liquide/liquide**

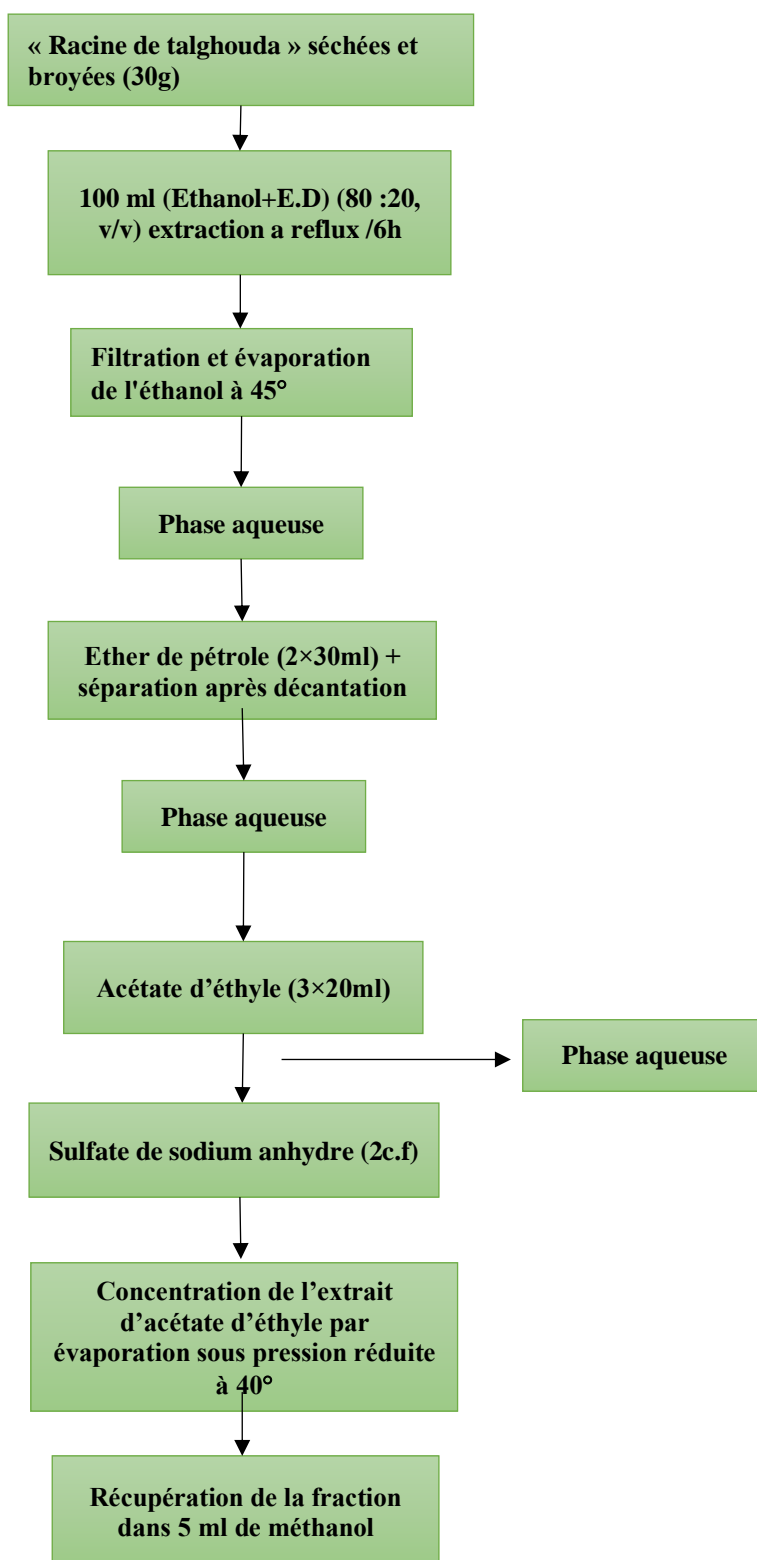


Figure17. Protocole de préparation des extraits de *Bunium incrassatum*

### **II.1. 3. Rendement de l'extraction**

Le rendement (R%) de l'extraction représente le pourcentage de la masse de la fraction récupéré après extraction (Mr) par rapport à la masse sèche de *B.incrassatum* utilisée (MS).

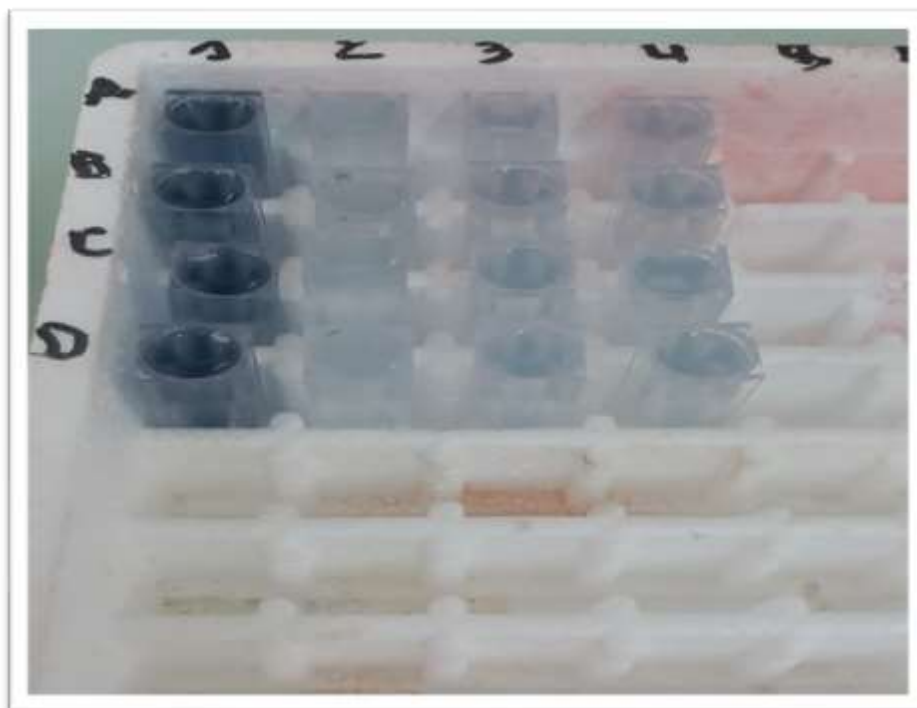
$$R\% = Mr / MS$$

### **II.2. Dosage des phénols totaux**

La quantification des phénols totaux sera effectuée selon la méthode adaptée par Singleton et Ross (**Lamaison,1990**). Cette méthode utilise le réactif de Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40). Lorsque les phénols sont oxydés, ce réactif est réduit en un mélange d'oxydes bleus (fig.18) de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). La couleur bleue formée est proportionnelle à la concentration de phénols totaux présents dans l'échantillon.

Pour réaliser le dosage (avec 4 répétitions), 100 µl de l'extrait est mélangé avec 500 µl du réactif Folin-Ciocalteu (10%) et 2 ml de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2%) dans un tube à essai. Ces deux composants sont solubles dans l'échantillon. Après agitation, l'échantillon est incubé dans l'obscurité pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance à 760 nm est mesurée en utilisant un blanc de référence (solution contenant seulement le milieu et les réactifs, sans l'extrait).

Afin de tracer une courbe d'étalonnage, nous avons préparé une série de neuf concentrations d'acide gallique à partir d'une solution mère ayant une concentration de 0,8 g/l. La concentration en phénols totaux dans l'échantillon sera déterminée en se référant à cette courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure18. Dosage des phénols totaux**

### **II.3. Dosage des flavonoïdes**

La méthode utilisée pour estimer les taux de flavonoïdes est basée sur la méthode décrite par (Bahorun,1997). Cette méthode repose sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes, ce qui donne une coloration jaunâtre caractéristique.

Pour effectuer le dosage (avec 4 répétitions), vous devez prendre 1 ml de l'extrait et le mélanger avec 1 ml de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (soluble dans le méthanol) à une concentration de 2% dans un tube à essai. Après agitation, l'échantillon est incubé à l'obscurité pendant 20 minutes, puis l'absorbance est mesurée à 409 nm en utilisant un blanc de référence (méthanol + réactifs, sans l'extrait).

Afin d'élaborer une courbe d'étalonnage, une série de neuf concentrations de quercétine (soluble dans le méthanol) allant de 0,003 à 0,025 mg/ml a été préparée à partir d'une solution mère de concentration 0,1 g/l. La concentration en flavonoïdes dans

L'échantillon sera déterminé en se référant à cette courbe d'étalonnage établie à partir de la quercétine utilisée comme standard.

## **II.4. Analyse de la contamination des semences**

### **II. 4. 1. Méthode d'analyse de l'humidité des grains**

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation d'un échantillon de 10g (du grain de blé) dans une étuve isotherme à une température de  $110^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  à pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de mesure.

$$H\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

**M1** : La masse initiale en g « (matière fraîche +capsule) avant dessiccation ».

**M2** : La masse finale en g « (matière sèche +capsule) après dessiccation ».

**P** : La masse de la prise d'essai.

### **II. 4. 2. Méthode d'isolement des souches fongiques**

#### **a. Échantillonnage et prise d'essai**

L'échantillon : Le prélèvement de grains de céréales pour analyse devra s'effectuer de façon à être représentatif du lot global dont il est issu (parcelle, parcelle élémentaire, silo, etc.).

La prise d'essai : L'analyse d'un échantillon de grains reçu au laboratoire s'effectuera sur un sous échantillonnage représentatif. Ces grains analysés seront prélevés aléatoirement.

#### **b. Désinfection des semences**

Les manipulations décrites sont à réaliser de préférence en atmosphère stérile (hotte à flux laminaire, Poste de Sécurité Microbiologique, etc.).

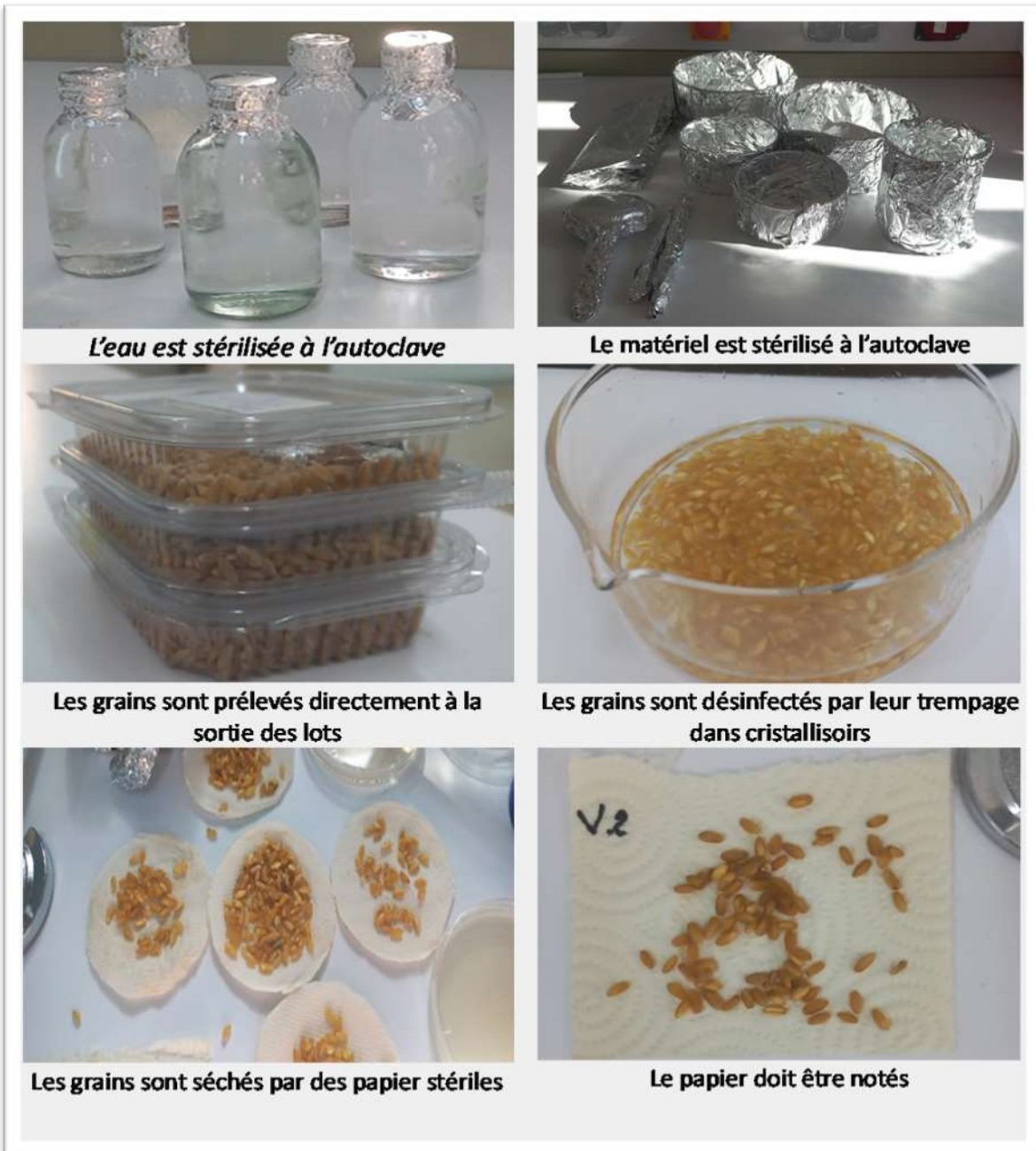
Après leur désinfection de surface : Au minimum, 100 grains seront analysés pour la détection et l'identification des différentes espèces de *Fusarium spp.*

L'objectif de la désinfection de surface des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongique ou bactérienne. Pour l'analyse de céréales à petits grains : 50 ml de grains sont stérilisés en surface.

Les grains sont placés dans un panier tamis à maille de 05-1 mm (type "moustiquaire") et suivent le cycle de désinfection suivant (**Champion, 1996**)

- 10 min dans un bécher contenant 300 ml d'une solution d'hypochlorite de Sodium à 1.5°Cl additionnée d'un agent mouillant Tween 20 (0.01% V/V).
- 1min dans un bécher contenant 300 ml d'eau stérile (opération effectuée 3 fois de suite).
- Le panier contenant les grains est ensuite égoutté et les grains sont placés à sécher sur du papier filtre stérile (compter 15 min minimum sous la hotte à flux laminaire).

**Note :** durant chacune des trois phases, le panier est agité vigoureusement afin de remettre en suspension les grains et d'assurer ainsi une désinfection et un rinçage plus efficace.



**Figure 19. Illustration de la méthode de désinfection des grains utilisées**

### c. La méthode du Geves

Après désinfection les grains sont placés à l'aide d'une pince stérile dans des boîtes de Pétri de 90 mm coulées avec le milieu PDA (voir annexe 1) à raison de dix grains par boîte, (Champion, 1997). Les boîtes sont ensuite incubées à température ambiante dans une étuve.

La teneur en glucide et en infusât de pomme de terre de ce milieu favorise la croissance des levures et moisissures alors que le pH bas inhibe en même temps la croissance de la flore secondaire. Les signes morphologiques typiques caractéristiques des champignons, en particulier les organes de reproduction, se voient bien sur ce milieu.



**Figure 20. Illustration de la méthode Geves**

#### **d. Méthode de purification des souches fongiques**

Consiste à faire plusieurs repiquages successifs de notre souche isolée sur milieu DCPA (**annexe 1**) jusqu'à l'obtention de l'isolat pure. Les cultures apparaissent donc généralement blanches à rose très pâle.

Le milieu étant semi sélectif, seuls les champignons du genre *Fusarium* vont se développer de manière conséquente sur le milieu (vitesse de croissance radiale >2 mm / jour et mycélium aérien abondant).

Les autres genres de champignons peuvent croître mais vont présenter une vitesse de croissance radiale relativement faible (<2 mm / jour) et un mycélium aérien très peu abondant voire inexistant.

De plus, il a été montré que ce milieu était significativement plus efficace que le milieu PDA pour la détection des *Fusarium* spp. Il est toutefois à noter que pour certaines espèces (*F. culmorum*, *F. proliferatum*, *F. moniliforme* et *F. subglutinans*), l'extrême abondance de leur sporulation (*sporodochia* évoluant en pionnotes) déprime le mycélium aérien jusqu'à rendre l'aspect de la culture ras et gras. Néanmoins, la vitesse de croissance radiale de ces espèces sur le milieu DCPA dépasse très largement 2 mm/jour.

#### **e. Méthode d'identification et de caractérisation**

La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium sp.* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci-dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de **Leslie et al. (2006)**.

#### **Appréciation de critères macroscopiques de l'isolat sur milieu PDA**

On repique des explants de 5 mm de l'isolat dans des boîtes de Pétri de 90 mm coulées avec du milieu PDA. On incube à température ambiante dans une étuve. Après une semaine on mesure le diamètre et on note les différents caractères :

- Vitesse de croissance,
- Aspect du mycélium aérien,
- Couleur de l'envers de la colonie,
- Odeur,
- Couleur des sporodochia.

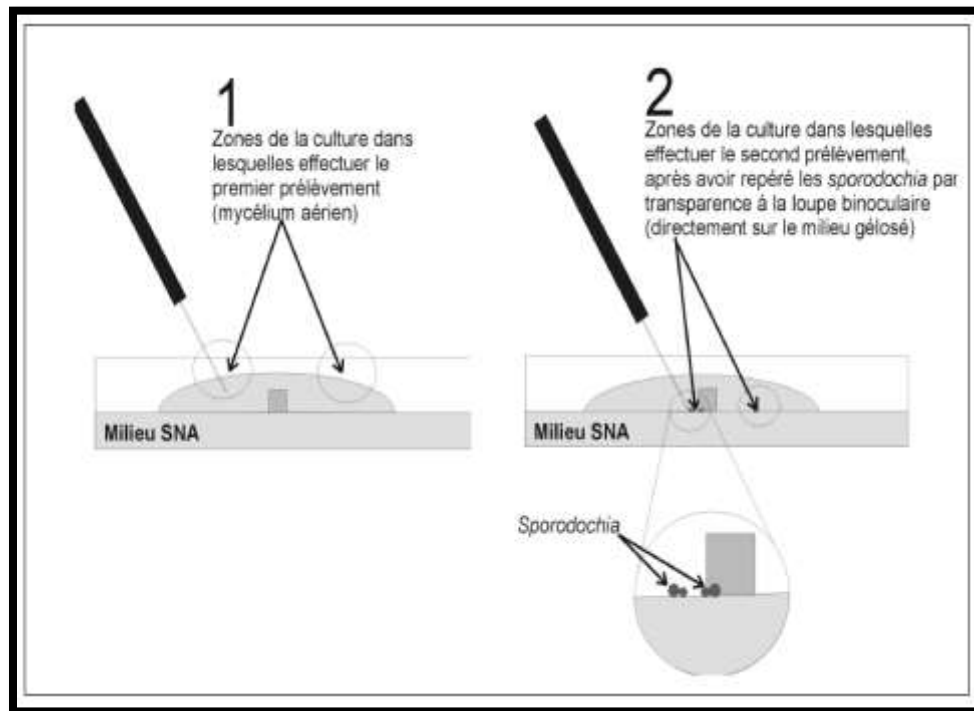
#### **Appréciation de critères microscopiques de l'isolat**

Pour l'observation des critères microscopiques de la culture de *Fusarium sp.* sur le milieu SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar, **voir annexe 1**), c'est un milieu pauvre en éléments nutritifs qui provoque la sporulation et la production de macroconidies. Parfois, à l'issue des 10 jours d'incubation, aucun sporodochium n'est visible, il convient alors de parafilmer la boîte et de la placer pendant 3h pendant 10 jours sous exposition aux UV proches. Les sporodochia récoltées seront transférées dans une goutte de colorant (bleu coton ou acide fuchsine) puis monté entre lame et lamelle pour observation au microscope. Ce prélèvement permet d'observer les macroconidies produites en sporodochium (LNPV, 2002).



**Figure21. *Fusarium* sur SNA ; Exposition au UV proches**

Pour l'observation des critères microscopiques de la culture de *Fusarium sp.* Sur le milieu SNA, deux prélèvements sont effectués systématiquement (Fig.22). Les boîtes de cultures de *Fusarium spp* sur SNA sont placées sur le plateau d'une loupe binoculaire et éclairée par dessous (diascopie) à forte puissance



**Figure 22. Protocole de prélèvements à réaliser pour l'observation de critères microscopiques de *Fusarium sp.* Cultivé sur milieu SNA (LPPV, 2001).**

**-Le premier prélèvement consiste à récolter du mycélium aérien**

En plusieurs endroits de la culture à l'aide d'une fine pointe stérile. Le mycélium récolté est transféré dans une goutte de colorant : bleu coton ou acide fuchsine puis monté entre lame et lamelle pour observation au microscope. Ces prélèvements permettent d'observer les micro-conidies produites dans le mycélium aérien.

**-Le second prélèvement consiste à recueillir des sporodochia**

Repérées à la loupe binoculaire à l'aide d'une fine pointe stérile. *Sporodochium* (pluriel sporodochia) est un stroma fertile pistilliforme, superficiel ou largement rompant.

Dans le cas des champignons du genre *Fusarium*, ces structures ressemblent à de petits amas gélatineux à la surface de la gélose, dans lesquels sont produites des macroconidies de taille et de forme relativement homogène et typique de l'espèce.

Dans la majorité des cas, les sporodochia se situent à proximité du cube de gélose qui a servi au transfert de la culture. Toutefois, chez certaines espèces, il convient d'examiner l'intégralité de la surface de la culture afin de les repérer car elles peuvent être dispersées sur la culture.

En règle générale, les sporodochia apparaissent comme de petits amas gélatineux et colorés posés directement sur le milieu gélosé. Parfois, à l'issue des 10 jours d'incubation, aucun *sporodochium* n'est visible, il convient alors de parafilmer la boîte et de la placer pendant 48h sous exposition aux UV proches. Si après cette exposition aucun sporodochium n'est visible il ne sera pas possible d'identifier l'espèce du *Fusarium sp.* étudiée. Les sporodochia récoltées seront transférées dans une goutte de colorant (bleu coton ou acide fuchsine) puis monté entre lame et lamelle pour observation au microscope. Ce prélèvement permet d'observer les macroconidies produites en sporodochium.

**f. Méthode de conservation**

Les champignons, une fois purifiés, sont conservés en tubes sur des milieux courants tels que le milieu PDA, ou les milieux à l'extrait de malt (**voir annexe 1**), (**Botton et al., 1990**). Il est prudent d'utiliser un système rationnel d'étiquetage de façon à ce que chaque isolat, tout en étant désigné par un minimum de signes, puisse être identifié sans ambiguïté (**Davet et al., 1997**).

Toutes les géloses inclinées ont été incubées à température ambiante pendant 7 jours et conservé à  $4 \pm 1$  ° C, (Bensmira, 2006). Les souches doivent être repiquées tous les 8 à 10 mois, (Botton *et al.*, 1990).



Figure 23. Méthode de conservation des champignons sur milieu PDA incliné

#### g. Calculs

**Taux de contamination fongique :** Nombre de grains contaminés dans un même lot/Nombre totale de grains x 100

**La fréquence :** nous renseigne sur le nombre de fois que le champignon est présent dans les lots de semences analysés. Elle est calculée par le rapport.

Nombre de lots présentant le champignon / Nombre total de lots analysée.
--

**L'abondance :** est déterminée par le nombre total des individus de chaque espèce dans l'échantillon total, (Boumar, 2009).

## II.5. Test de l'activité antimicrobienne des extraits

Nous avons choisi la méthode de l'aliment empoisonné (*Poisoned food method*) (Sanchez Armengol, 2021) afin d'évaluer l'activité antifongique des extraits de *B.incrassatum* contre deux souches *Fusarium* obtenus dans l'étude.

### ❖ Préparation des milieux de culture (voir annexe 1)

### ❖ Stérilisation du matériel

- On stérilise à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes : L'eau distillée et les tubes à essai utilisés dans la préparation de la solution., les tubes à hémolyse pour la préparation des solutions et les embouts à micropipettes.
- On stérilise au four pasteur à 121° C pendant 15 minutes : la pince ainsi que les pipettes Pasteur après enrobage dans du papier aluminium

### ❖ Préparation des dilutions des extraits à tester

Les extraits organiques ont été dissous dans (DMSO). Le test a été effectué pour la concentration **C=0,16mg/ml** pour tous les extraits pour des raisons pratiques.

### ❖ Exécution de la méthode

Le milieu PDA a été préparé et mis dans les tubes à essai a raison de 9 ml /tube. Après autoclavage, l'extrait de plante a été ajouté à température de surfusion. Le mélange homogénéisé est versé dans une boîte de Pétri puis laissé sur la paillasse pour se solidifier.

Des disques fongiques de 6 mm de diamètre issu d'une culture pure âgée de 8 jours ont été placés au centre de la boîte de Petri. Boîte contenant du milieu dans des conditions aseptiques, incubée à 27 °C ± 1 °C pendant 7 jours (trois répétitions par traitement). La croissance fongique a été observée et enregistrée grâce à un pied à coulisse (diamètre de la colonie) après une semaine d'incubation. Le pourcentage d'inhibition a été calculé après comparaison avec le contrôle.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{100 (\text{Control} - \text{Treatment})}{\text{Control}}$$

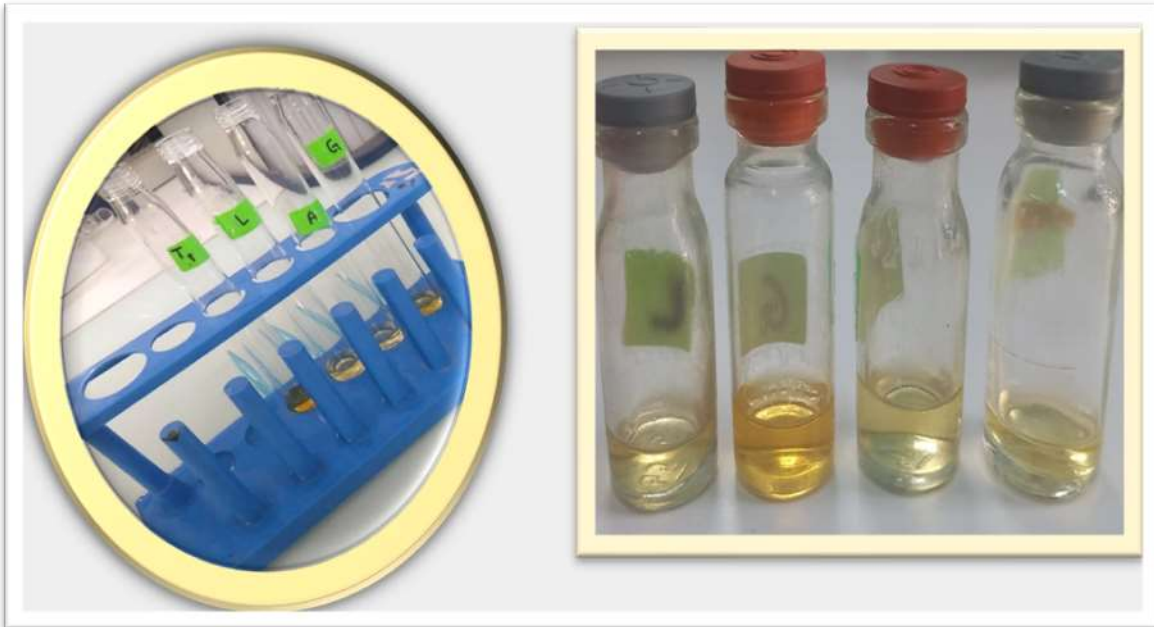


Figure 24. Les dilutions des extraits de *Bunium incrassatum*



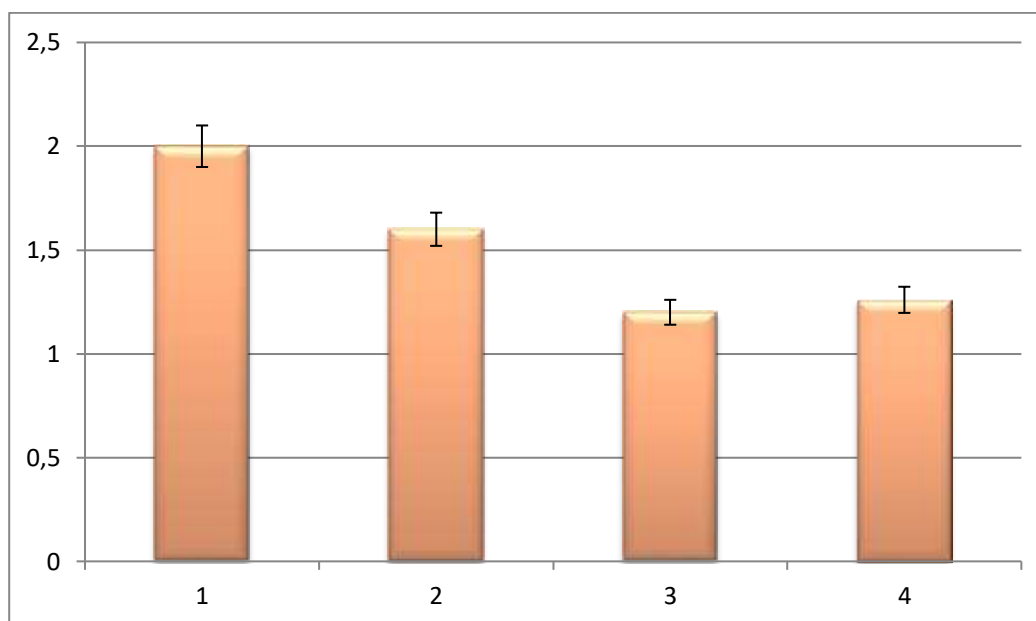
Figure 25. Préparation pour l'étude de l'activité antifongique

### **III. Statistiques**

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes  $\pm$  erreur standard de la moyenne (SEM). La signification statistique a été déterminée en utilisant un seuil de  $p < 0,05$ . Les données présentées dans le texte, les tableaux et les figures représentent les valeurs moyennes de trois répétitions indépendantes ( $n = 4$ ). Les corrélations linéaires entre les variables ont été évaluées à l'aide des coefficients de corrélation de Pearson ( $p < 0,05$ ). Des analyses de corrélation ont été effectuées à l'aide des fonctions de corrélation et de régression du programme XLSTAT version 2014. Nous avons utilisé pour les graphes l'Excel (Microsoft® Office 2010 Proofing Tool).

## 1. Taux d'extraction

La figure 26 représente la comparaison des pourcentages de rendements d'extraction calculés par rapport à la masse sèche du résidu récupéré des 4 extraits de *B.incrassatum*.



**Figure26. Histogramme représentant les taux d'extraction des 4 échantillons de *Bunium incrassatum* (Talgouda) en % de la masse du résidu**

- 1-extrait de Tiaret
- 2-extrait de Laghouat
- 3-extrait de Aflou
- 4- extrait de Gueltat

Le pourcentage d'extraction de talghouda du 1<sup>er</sup> extrait était de 2% de la masse sèche, tandis que le 2<sup>ème</sup> extrait avait un taux de récupération de 1.55% ,le 3<sup>ème</sup> extrait 1.05% , quant au 4<sup>ème</sup> extrait , son taux d'extraction était 1.1 % , de la masse sèche, il existe une différence entre les taux de récupération des quatre extraits

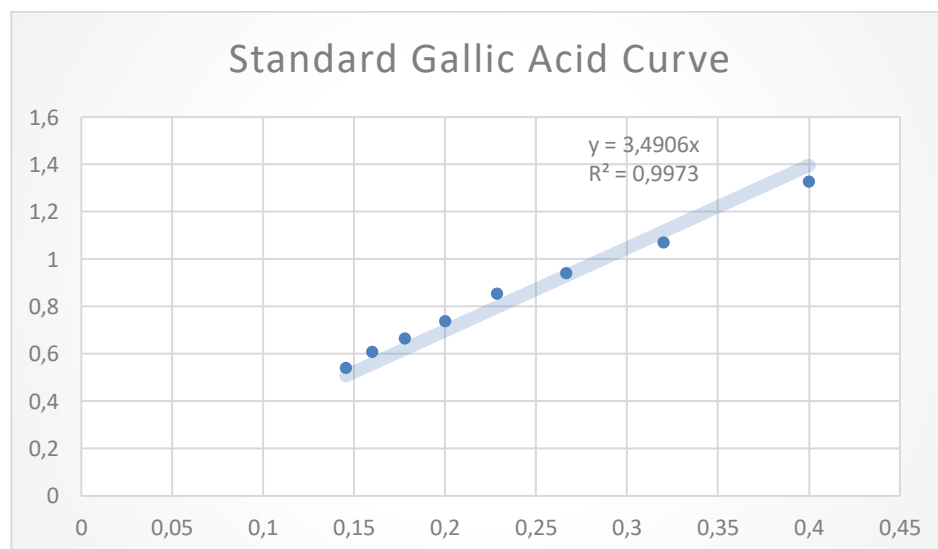
Le taux de récupération de l'extrait dépend de divers facteurs, l'espèce, le génotype et l'origine géographique de la plante, l'organe, les conditions et la durée de stockage, ainsi que la période de récolte. Ces éléments peuvent influencer le rendement global de l'extraction des différentes substances de la plante (**Haddouchi, 2016**).

Le rendement d'extraction dépend aussi du processus et les conditions d'extraction et est déterminé par la solubilité des composés dans le solvant utilisé durant le processus d'extraction. On peut observer que l'extraction des composés bioactifs à température ambiante et sous agitation continue permet de récupérer les composés les plus bioactifs tout en évitant leur dégradation. Cependant, il ne permet pas de récupérer le maximum de composés chimiques bioactifs, réduisant ainsi le rendement de leur extraction en laboratoire. Ainsi, les conditions de température et d'agitation lors de l'extraction jouent un rôle important dans le rendement et la préservation des propriétés bioactives des composés extraits (**Lahmar, 2017**).

### 2. Teneurs en phénols totaux

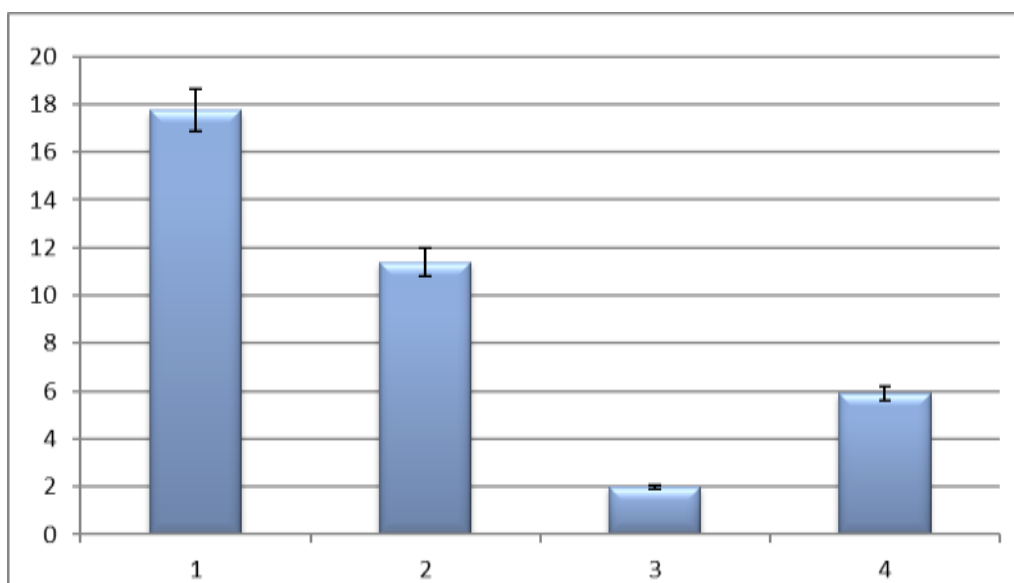
L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui donne une coloration bleue, Le réactif Folin-Ciocalteu est utilisé pour obtenir une estimation approximative de la quantité de composés phénoliques présents dans un extrait (**Husseina, 2010**), L'intensité de la couleur bleue est proportionnelle aux taux de phénols totaux présents dans le milieu.

La figure 27 représente la courbe d'étalonnage de l'acide gallique qui a été réalisée afin de calculer les concentrations des extraits en composés phénoliques.



**Figure 27. Courbe d'étalonnage d'acide gallique**

La figure 28 représente une comparaison des teneurs en composés phénoliques des 4 échantillons de *Bunium incrassatum* (Talgouda) calculé en d'équivalent d'acide gallique pour 100g de matière sèche,



**Figure 28. Histogrammes représentant les teneurs en composés phénoliques des 4 échantillons de *Bunium incrassatum* (Talgouda) en mg EGA/100g de MS**

Les résultats ont révélé une différence significative entre les 4 échantillons. Les résultats indiquent clairement que l'extrait **1** et **2** présente une teneur plus élevée en composés phénoliques que les extraits **3** et **4**

La teneur en phénols totaux de *Bunium incrassatum* (Talgouda) sont relativement importante arrivant jusqu'à 17.73±0,1 (mg EAG/100 g MS) même si elle n'atteint que 5.9±0,2 (mg EAG/100 g MS) pour l'extrait 3. Cette disparité peut être expliquée par plusieurs causes possibles dont le génotype et les conditions de culture et de stockage.

Selon l'étude de **Amraoui et al., (2023)** portant sur le dosage des composés phénoliques de *Bunium incrassatum* (Talgouda), les résultats obtenus dans notre étude sont nettement supérieurs à ceux présents dans cette étude 1.07±0.078 (mg EAG/100 g MS).

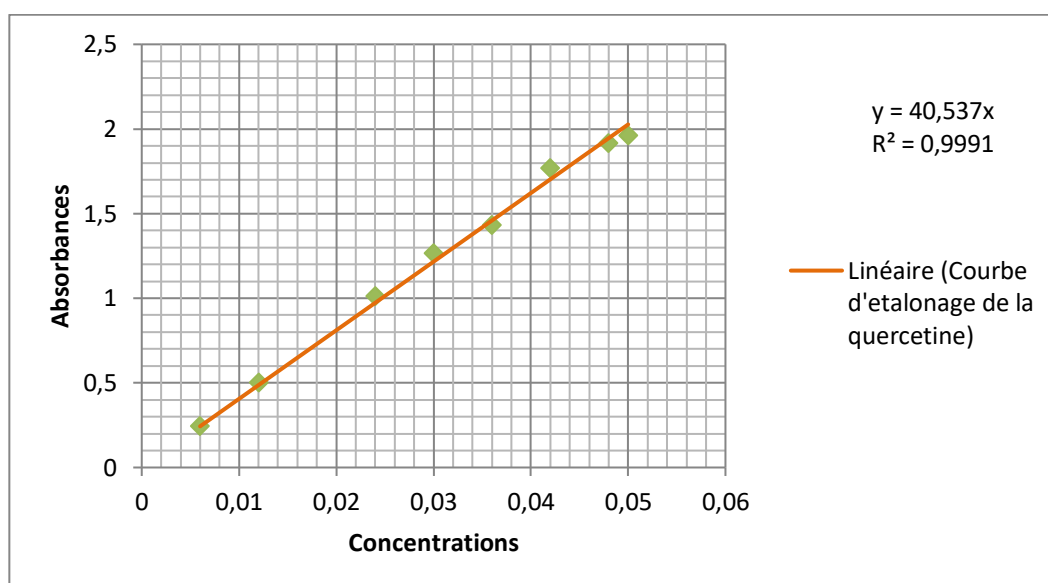
L'extraction des composés phénoliques représente une étape cruciale dans les recherches portant sur ces substances bioactives. Ce processus complexe est influencé par un ensemble de paramètres qui doivent être soigneusement pris en compte. Parmi ces paramètres, la nature

chimique des composés phénoliques joue un rôle déterminant. En effet, la diversité des structures chimiques des phénols peut entraîner des variations dans leur solubilité et leur extractibilité, nécessitant ainsi l'utilisation de méthodes d'extraction adaptées. De plus, des facteurs tels que la taille des particules de l'échantillon et la durée de l'extraction sont également essentiels. Une plus grande surface de contact entre l'échantillon et le solvant favorise l'extraction des composés phénoliques, tandis qu'une durée d'extraction appropriée permet une diffusion optimale de ces substances dans le solvant. Par ailleurs, la maturation des fruits constitue un élément clé à prendre en compte. En effet, la composition et la concentration en composés phénoliques peuvent varier selon le stade de maturité des fruits. Certains composés peuvent s'accumuler davantage à mesure que les fruits mûrissent, tandis que d'autres peuvent diminuer. Ainsi, il est primordial de sélectionner le stade de maturité adéquat pour obtenir des résultats significatifs. En résumé, l'extraction des composés phénoliques représente un processus multidimensionnel nécessitant une approche méthodologique rigoureuse afin d'assurer l'obtention de résultats fiables et représentatifs (Telli, 2010).

La solubilité des composés phénoliques dans les plantes est déterminée par leur composition chimique, allant des composés simples aux composés hautement polymérisés tels que les acides, les composés phénoliques, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tanins. Ces composés peuvent être présents à des concentrations variables dans les matières végétales. La diversité structurale de ces composés entraîne une large gamme de paramètres physico-chimiques qui influencent l'extraction des polyphénols (Mahmoudi, 2013).

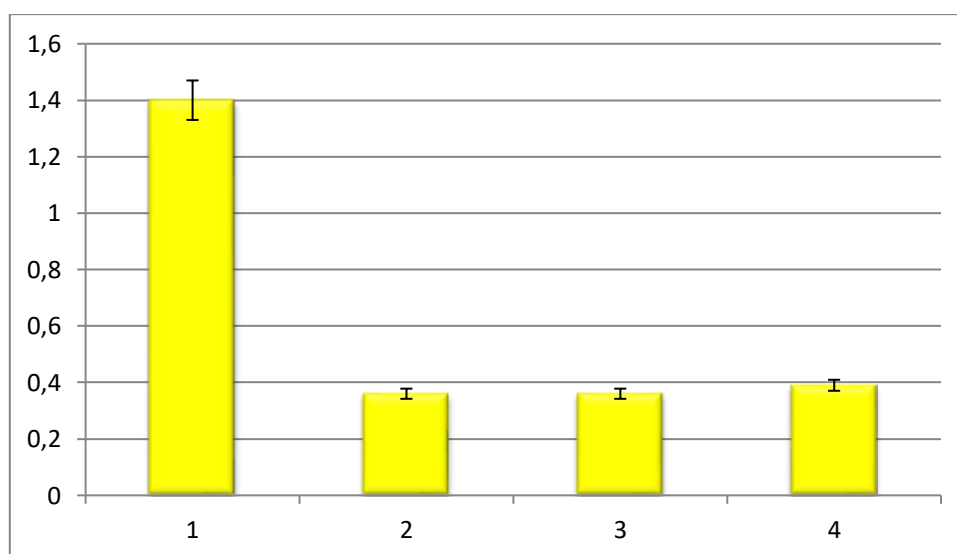
### 3. Teneurs en flavonoïdes

La figure 29 représente la courbe d'étalonnage de la Quercétine qui a été réalisée afin de calculer les concentrations des extraits en flavonoïdes.



**Figure 29. Courbe d'étalonnage de la Quercétine**

La figure 30 présente une comparaison des teneurs en flavonoïdes de *B.incrassatum* provenant de 4 extraits différents, calculé en mg équivalent quercétine par 100g de matière sèche.



**Figure 30. Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes des 4 échantillons de *Bunium incrassatum* en mg EQ/100g de MS.**

Les résultats obtenus mettent en évidence une différence significative des teneurs en flavonoïdes entre les extraits. Ces teneurs sont relativement importantes considérant le fait que les

flavonoïdes sont toujours minoritaires parmi les composés phénoliques mais sont actifs à de faibles teneurs.

L'extrait 1 présente la teneur la plus importante allant jusqu'à  $1.4 \pm 0,1$  mg EQ/100g, tandis que l'extrait 2 ne dépasse pas  $0.36 \pm 0,1$  mg EQ/100g. Cette disparité peut être expliquée par plusieurs causes possibles dont le génotype et les conditions de culture et de stockage.

En comparant avec l'étude de (**Amraoui, et al.,2023**) portant sur le dosage des flavonoïdes de *B. incrassatum*, les résultats obtenus dans notre étude sont nettement supérieurs à ceux présents dans cette étude.

Selon les travaux de **Bourgou, (2016)**, la méthode d'extraction des composés phénoliques et flavonoïdes peut avoir un impact sur le rendement et la concentration obtenus. En raison de la complexité de la structure des flavonoïdes, il n'existe pas de méthode d'extraction universelle adaptée à toutes les plantes. Divers solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétate d'éthyle ont été employés pour extraire les flavonoïdes. Toutefois, l'utilisation de ces solvants nécessite fréquemment des procédures de traitement complexes et des conditions de température élevées.

Il a également été souligné que les conditions de stockage jouent un rôle crucial dans la préservation de la qualité des flavonoïdes. En effet, ces composés sont instables et sujets à des altérations lors du stockage. Diverses voies de dégradation des flavonoïdes sont influencées par des facteurs tels que l'oxygène, la lumière et la température. Les conditions de stockage, incluant la température, la durée et les techniques utilisées, impactent la synthèse, la rétention et la décomposition des flavonoïdes. Le taux de dégradation peut varier en fonction de la complexité du traitement appliqué. Ces processus peuvent altérer les structures des flavonoïdes et, par conséquent, leurs activités anti oxydantes (**Liu, 2022**)

#### 4. Taux de contamination de la semence

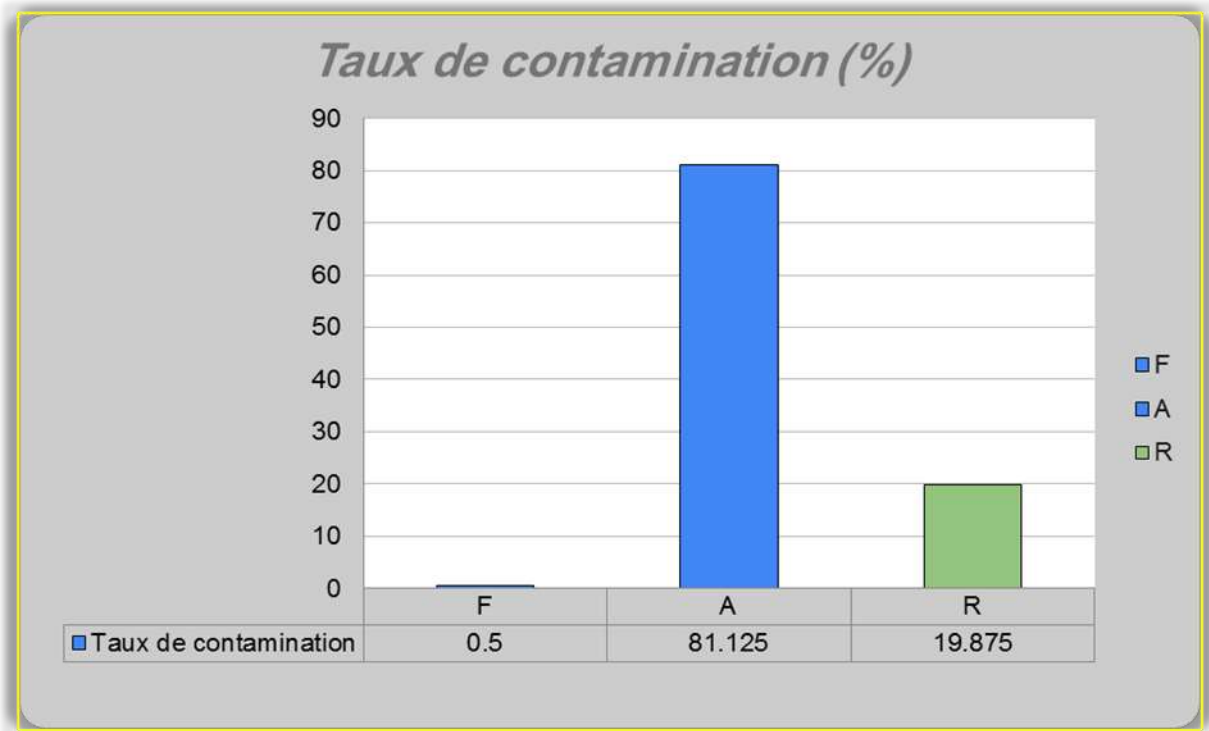
La flore fongique trouvée dans les différents lots de semence et graines analysés est comparable à celle identifiée dans la semence depuis des années par plusieurs chercheurs notamment **Sauer (1993)** avec des espèces des genres *Alternariat*, *Penicillium*, *Aspergillus*,..., etc.

On remarque une contamination de plus de 81% de la semence par les différentes espèces fongiques (**fig. 31**) Les contaminations par le *Fusarium* ne représentent que 0.5% de la contamination totale.

Bien que numériquement limités et avec une fréquence assez faible dans les différents lots examinés (Tab.6), certaines espèces de *Fusarium* tels que *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* sont des pathogènes majeurs de première importance pour les cultures céréalières, agents responsables de la fusariose et qui ont provoqué des pertes sérieuses en Amérique du Nord à la fin des années 1990 (**Mc Mullen et al. 1997**). Le fait que les *Fusariums* font partie des champignons de champs, suppose que les semences analysées étaient contaminées au champ, avant le stockage. Toutefois la colonisation peut s'effectuer à la récolte et cause des pertes économiques importantes.

**Tableau 6. Taux de contamination de la semence par le *Fusarium*** (Nombre de contaminants)

	<i>Fusarium</i>	Autre Contaminant	Total des contaminants	Flore dominante
<b>Bd 1</b>	1	88	89	<i>Penicillium</i>
<b>Bd2</b>	1	85	86	<i>Aspergillus</i>
<b>Bd3</b>	0	90	91	<i>Alternaria</i>
<b>Bd4</b>	0	67	68	<i>Rhizopus</i>
<b>Bd 5</b>	2	80	81	<i>Alternaria</i>
<b>Bd 6</b>	0	91	92	<i>Penicillium</i>
<b>Bd 7</b>	0	65	66	<i>Aspergillus</i>
<b>Bd 8</b>	0	75	76	<i>Rhizopus</i>
<b>Fréquence du genre <i>Fusarium</i></b>	<b>0,375</b>			
<b>Abondance du genre <i>Fusarium</i></b>	<b>0,5</b>			



**F** : Grain contaminé par le *Fusarium*,  
**A** : Grain contaminé par des contaminants autre que le *Fusarium*.  
**R** : Grain non contaminé.

**Figure 31. Taux de contaminations de l'ensemble des lots de semences en pourcentage**

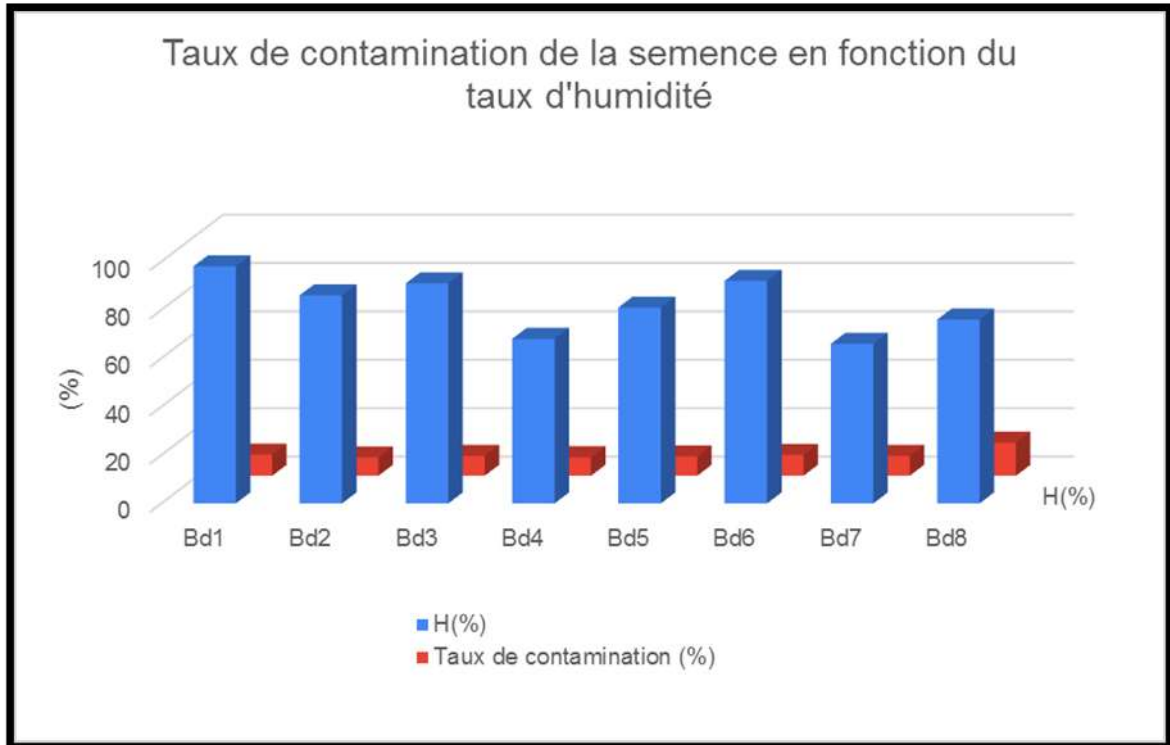
#### 4.1 Taux d'humidité

Le résultat du calcul des taux d'humidité est présenté dans le tableau 7. On remarque que les taux d'humidité de Bd8, Bd6 et Bd1 sont les plus importants avec respectivement 13.7, 8.6 et 8.75 %. Les taux d'humidité de Bd7, Bd5 et Bd3 n'atteignent pas les 9%. Bd4 et Bd2 présentent le taux le moins élevé avec seulement 7%.

**Tableau 7. Taux d'humidité des différents lots de semences en pourcentage de la masse**

Code	Taux d'humidité (%)
<b>Bd1</b>	8,75
<b>Bd2</b>	7,6
<b>Bd3</b>	8,27
<b>Bd4</b>	7,66
<b>Bd5</b>	8
<b>Bd6</b>	8,6
<b>Bd7</b>	8,2
<b>Bd8</b>	13,7

La contamination fongique d'un lot donné est fortement influencée par l'état sanitaire initial du grain récolté et surtout par son taux d'humidité (Fig. 32). Avec un coefficient de corrélation d'environ 0,8 on peut dire que la contamination fongique est en fonction de l'humidité du grain.



**Figure 32. Taux de contamination de la semence en fonction du taux d'humidité du grain de blé**

Généralement comprise entre 11.0% et 14.0%, elle est également importante dans le commerce puisqu'elle peut conditionner le prix de la marchandise par un système de bonification/réfaction. En pratique, on ne s'inquiétera que si elle dépasse 16% car le blé devient susceptible d'évoluer spontanément (échauffement et germination). La teneur en eau du blé ne doit pas cependant dépasser 14,5% selon le **Codex Alimentaire (1994)**.

Le taux de la contamination par le *Fusarium* est lui aussi fonction de l'augmentation de l'humidité du grain avec un coefficient de corrélation plus de 0,6. Rappelant que les espèces de *Fusarium* sont très hygrophiles et exigent pour leur développement un minimum d'eau libre ( $A_w$ ), soit entre 0,86 et 0,91.

Cette étude a montré que les conditions climatiques jouent un rôle important dans la prolifération des agents pathogènes au champ d'une part. Cela est dû à des conditions climatiques chaudes et humides favorables à l'extension des maladies additionnées à la non maîtrise de la gestion des problèmes phytosanitaire comme l'affirme **Seyoud**, phytopathologiste dans **Le Maghreb, (2010)**. D'autre part cela peut aussi souligner les problèmes liés aux techniques de stockage archaïques pratiqués. Selon **Zitoune**, expert- consultant international (2010), les agriculteurs doivent connaître le processus d'altération des grains et maîtriser les techniques de conservation pour se prémunir contre les risques liés au stockage des grains.

### 5. Résultat de l'isolement

Grâce aux différentes méthodes d'isolement nous avons obtenu une gamme d'isolats provenant de la région de Laghouat qui sont représentés dans le tableau 8 :

Isolats	Code attribué	Origine	Source d'isolement
Iso 1	<b>PS1-0524</b>	Siméto	Consommation
Iso 2	<b>ASS1-0524</b>	Oued el Bared	Consommation
Iso 3	<b>ALS1-0524</b>	Vitron	Consommation
Iso 4	<b>RS1-0524</b>	Mansoura	Consommation
Iso 5	<b>FS1-0524</b>	Siméto	Semence
Iso 6	<b>FS2-0524</b>	Oued el Bared	Semence
Iso 7	<b>FS3-0524</b>	Vitron	Semence
Iso 8	<b>FS4-0524</b>	Mansoura	Semence

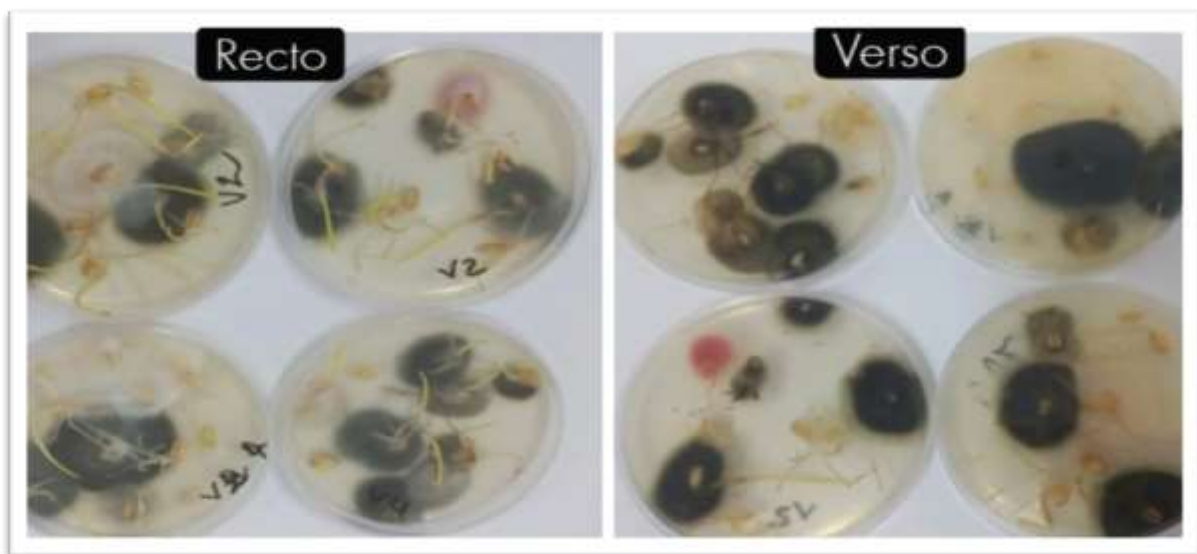
L'expérimentation de différentes techniques d'isolement nous a donné une idée sur les avantages et inconvénients de chacune :

- **La technique PDA** favorise la sporulation du mycélium de certains *Fusarium* mais pas le développement de *sporodochies* contenant les macroconidies caractéristiques de l'espèce car plusieurs repiquages sont souvent nécessaires, étant un milieu riche et non sélectif, il favorise le développement d'un large spectre de moisissures envahissantes. Toutefois l'aspect cultural peut bien mieux être apprécié sur ce milieu (Fig. 33) ;
- **La technique DCPA** semble être la meilleure. La sélectivité du milieu permet une mise en incubation de 12 jours et l'obtention de sporodochie sans la gêne que représentent les autres

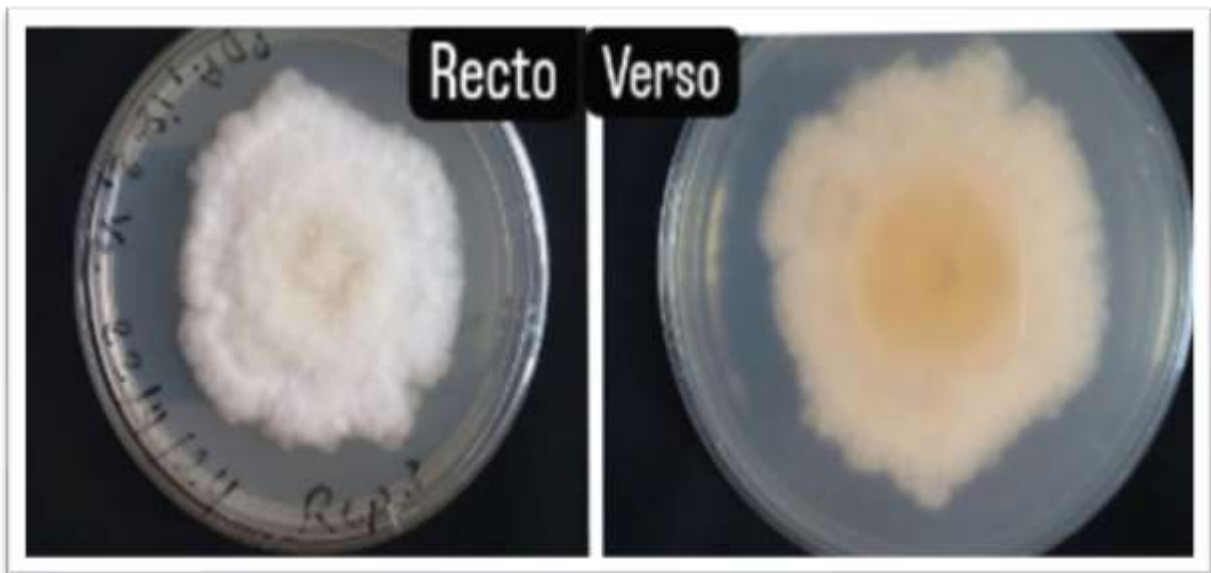
## Résultats et discussion

contaminants. Cette méthode présentée est employée pour les analyses officielles, notamment dans le cadre des expérimentations nationales et les mises au point de méthodes de lutte, (LNPV, 2001). Tous les isolats développent un mycélium blanchâtre sur le milieu DCPA car ce milieu ne permet aucune pigmentation (Fig.34). La vitesse de croissance est identique à celle qu'on peut observer sur milieu PDA. Cela dit un repiquage sur milieu PDA est nécessaire pour l'appréciation de l'aspect cultural car ce milieu ne permet presque aucune pigmentation du thalle (Fig. 34).

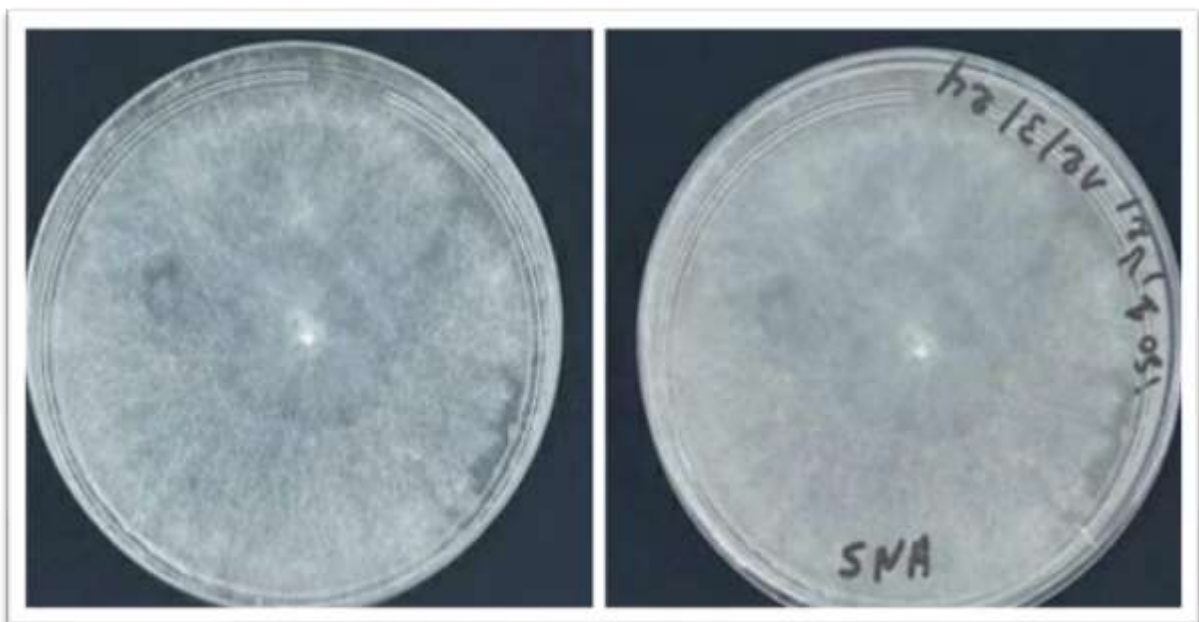
○ **La technique SNA** : La détermination morphologique de l'espèce d'un isolat de *Fusarium* repose sur l'observation de nombreuses caractéristiques anamorphiques sur des milieux de culture bien définis. Lorsque toutes les informations présentées ci- dessous sont recueillies, l'identification pourra être réalisée en utilisant les clés de références de Nelson et al. (1983). Pour l'observation des critères microscopiques de la culture de *Fusarium sp.* Sur le milieu SNA, deux prélèvements sont effectués systématiquement Dans des boîtes Parfois, à l'issue des 10 jours d'incubation, aucun sporodochium n'est visible, il convient alors de para filmer la boîte et de la placer pendant 48 h 3h 10 jours sous exposition aux UV proches. Les sporodochia récoltés seront transférées dans une goutte de colorant (bleu coton ou acide fuchsine) puis monté entre lame et lamelle pour observation au microscope. Ce prélèvement permet d'observer les macroconidies produites en sporodochium de cultures de *Fusarium spp* sur SNA (Fig.35).



**Figure 33. Résultat de la méthode PDA : Isolement des moisissures à partir de grains de blé après 7 jours de culture à 25° C**



**Figure 34. Résultat de la purification par repiquage successif sur milieu DCPA après 7 jours de culture a 25° C**



**Figure 35. Résultat de la méthode SNA : repiquage successif sur milieu SNA après 7 jours de culture a 25° C**

### 6. Résultat de l'identification des différentes souches

Parmi les isolats obtenus, il existe une grande diversité mais les espèces dominantes du point de vue fréquence sont *Rhizopus*, *Altrmaria*, *Penicillium* et *Aspergillus*.

#### 6.1. Identification des moisissures les plus fréquentes

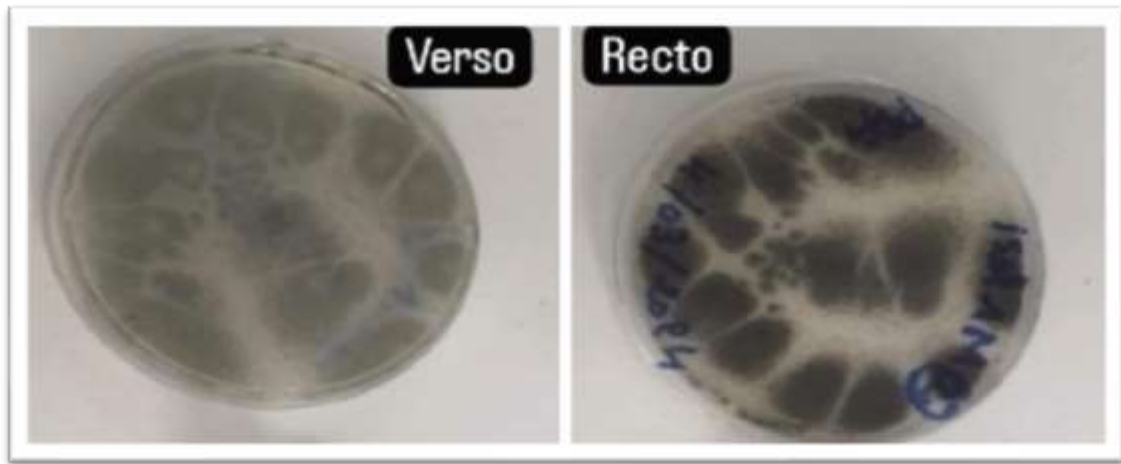
La gélose glucosée à la pomme de terre (PDA : Potato Dextrose Agar ou milieu gélosé à base de pomme de terre), largement utilisée dans le passé dans des études de micromorphologie, est utile seulement pour étudier les caractères cultureux et ne devrait pas servir pour des études de micromorphologie ou pour de la conservation de souches, (Junot, 2005).

##### Identification de l'isolat 1 :

D'après l'aspect culturale (Fig.36) les caractéristiques microscopique (Fig.37), nous avons identifié l'isolat 1 comme étant du genre *Penicillium* et de l'espèce *Penicillium digitatum*.

Macroscopiquement, on observe des colonies circulaires ou étalées, vertes à vert jaunâtre, avec une texture veloutée ou duveteuse.

Sur un plan microscopique, *Penicillium digitatum* présente des caractéristiques distinctives. Ses hyphes, les filaments multicellulaires qui composent le corps du champignon, sont septés et ramifiés, formant une structure caractéristique ressemblant à une brosse ou à un pinceau. Les conidiophores, des structures spécialisées responsables de la production de spores, émergent des hyphes et portent des phialides à leur extrémité. Les phialides sont les cellules où se forment les spores asexuées, appelées conidies. Les conidies de *Penicillium digitatum* sont généralement elliptiques à oblongues.



**Figure 36. Résultat de la culture d'isolat 1 *Penicillium* sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C**



**Figure 37. Caractères microscopiques de *Penicillium digitatum* sous microscope optique agrandissement (G x 400).**

### **Identification de l'isolat 2 :**

D'après l'aspect culturale (Fig.38) les caractéristiques microscopique (Fig.39), nous avons identifié l'isolat 2 comme étant du genre *Aspergillus* et de l'espèce *Aspergillus terreus*.

Macroscopiquement, les colonies d'*Aspergillus terreus* a une couleur allant du blanc à orange. Elles sont veloutées à poudreuses, et forment des colonies denses et étendues.

Microscopiquement, *Aspergillus terreus* présente des caractéristiques typiques du genre *Aspergillus*. Ses hyphes sont septés et ramifiés, formant une structure similaire à une brosse ou à un pinceau. Les conidiophores émergent des hyphes et portent des sporanges en forme de tête de

## Résultats et discussion

brosse à leur extrémité. Ces sporanges contiennent les conidies, qui sont les spores asexuées de l'organisme. Les conidies d'*Aspergillus terreus* sont sphériques à ovales et peuvent être produites en abondance.

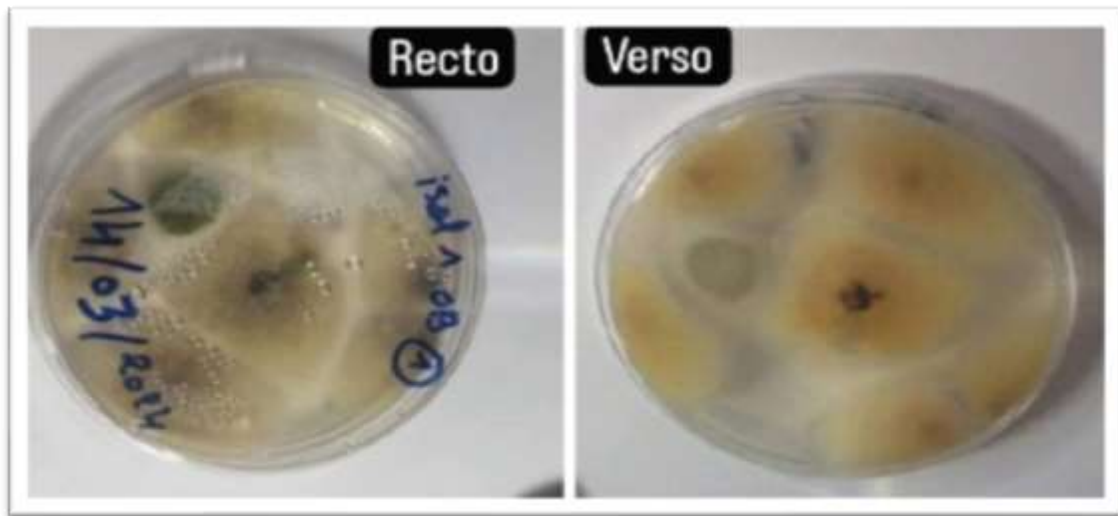


Figure 38. Résultat de la culture d'isolat 2 d'*Aspergillus* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C



Figure 39. Caractères microscopiques d'*Aspergillus* sous microscope optique agrandissement (G x 400).

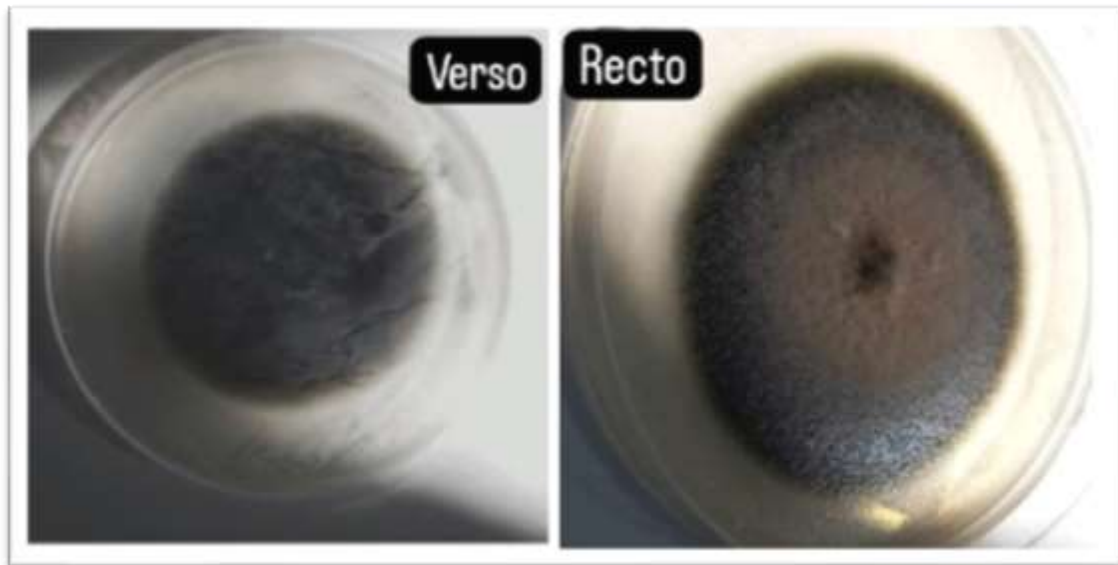
### Identification de l'isolat 3 :

D'après l'aspect culturale (Fig.40) les caractéristiques microscopique (Fig.41), nous avons identifié l'isolat 3 comme étant du genre *Alternaria* et de l'espèce *Alternaria alternata*.

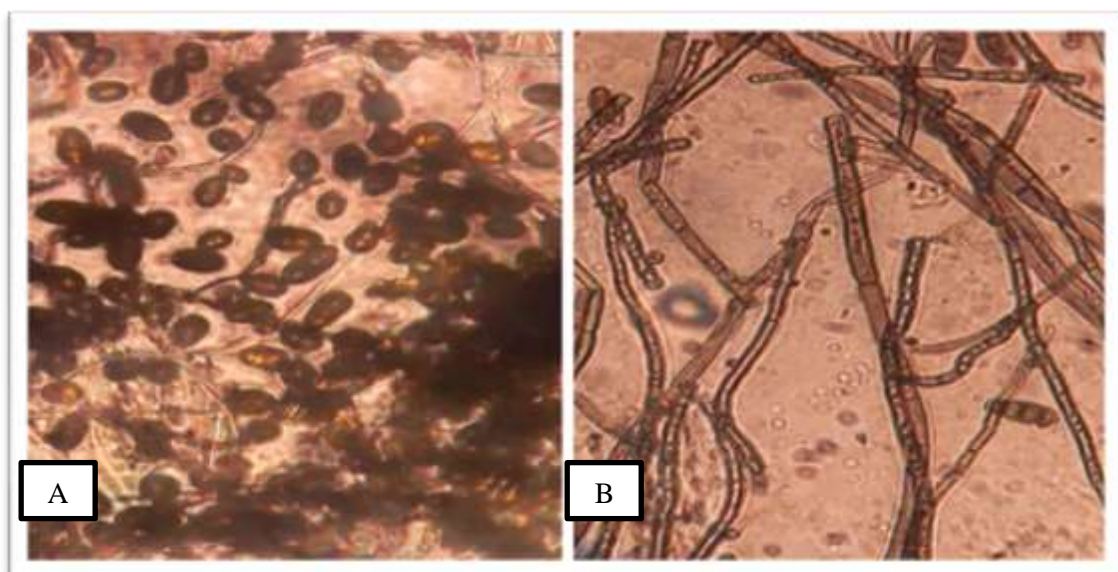
## Résultats et discussion

Macroscopiquement, les colonies d'*Alternaria alternata* de couleur olive à brun foncé, puis deviennent progressivement plus foncées avec l'âge. Elles ont une texture veloutée à feutrée et forment des colonies étalées.

Microscopiquement, *Alternaria alternata* présente des caractéristiques typiques du genre *Alternaria*. Ses hyphes sont septés et ramifiés. Les conidiophores émergent des hyphes et portent des conidies à leur extrémité. Les conidies d'*Alternaria alternata* sont généralement en forme de tonneau avec de nombreuses cellules internes, et elles peuvent être multicellulaires.



**Figure 40.** Résultat de la culture d'isolat 3 *Alternaria* (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C



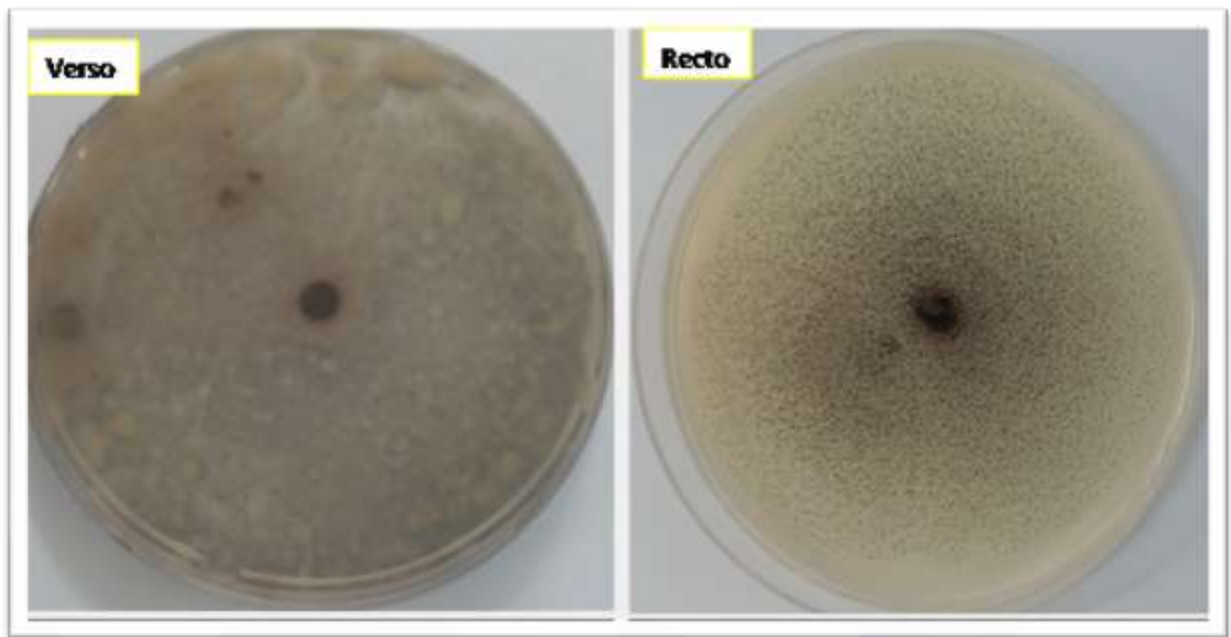
**Figure 41.** Caractères microscopiques d'*Alternariat* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Conidies septés. B : Mycélium septé.

### Identification de l'isolat 4 :

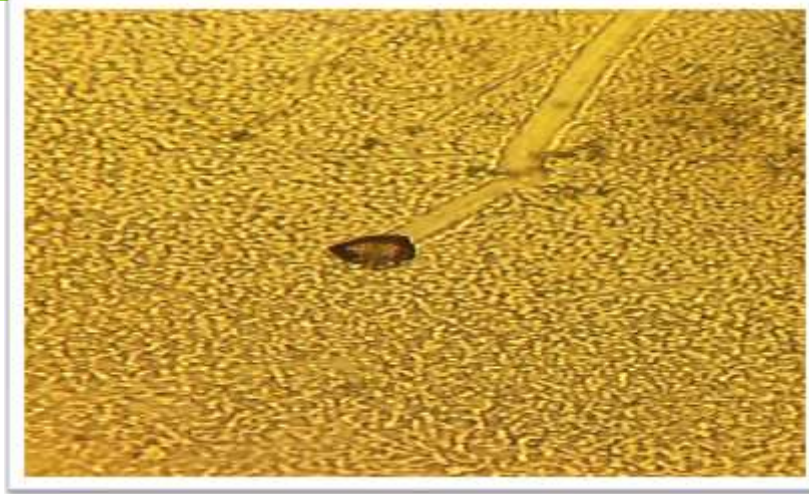
D'après l'aspect culturale (Fig.42) les caractéristiques microscopique (Fig.43), nous avons identifié l'isolat 4 comme étant du genre *Rhizopus* et de l'espèce *Rhizopus stolonifer*.

Macroscopiquement, les colonies de couleur *Rhizopus stolonifer* marrons à noirs puis deviennent progressivement plus foncées en vieillissant. (Pleine de mycélium et points noirs) Ont un aspect cotonneux marrons à gris puis noirs lorsque la sporulation se produit.

Microscopiquement, *Rhizopus stolonifer* présente des caractéristiques typiques du genre *Rhizopus* le sporocyste est globulaire, coiffé d'une columelle persistante et distincte. La paroi du sporocyste n'est pas persistante, il libère des conidies pouvant donner naissance à un autre mycélium, Thalle coenocytique. Présence de rhizoïdes. Présence de stolon. Sporocyste globuleux



**Figure 42. Résultat de la culture d'isolat de *Rhizopus* (recto et verso) sur milieu PDA après 7 jours de culture a 25° C**



**Figure 43. Caractères microscopiques de *Rhizopus* sous microscope optique agrandissement (G x 400.) montrant un sporangiphore.**

### **6.2. Identification des souches de *Fusarium***

Pour l'identification des isolats de *Fusarium*, la culture pour l'examen des caractères microscopiques doit se faire sur des milieux pauvres en éléments nutritifs comme le SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar). Le développement optimal des sporodochies et des macroconidies exige une exposition au moins à la lumière fluorescente, mais de préférence aussi aux UV proches. Par la suite nous avons utilisé le guide de **Leslie et al., (2006)**.

Le genre *Fusarium* est très diversifié, et il existe actuellement plus de 300 espèces décrites dans ce genre. Cependant, ce nombre continue de croître à mesure que de nouvelles espèces sont découvertes et décrites par les chercheurs.

#### **Identification de l'isolat 5 : FS1-0524**

L'isolat 5 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Fig.44) sont décrits dans le Tableau 9 et les caractères microscopiques (Fig.45) sont décrits dans le Tableau 10.

#### **Classification:**

**Règne:** Fungi

**Phylum:** Ascomycota

**Classe:** Sordariomycetes

**Ordre:** Hypocreales

**Famille:** Nectriaceae

**Genre:** *Fusarium*

**Espece:** *Fusarium sambucinum*

## Résultats et discussion

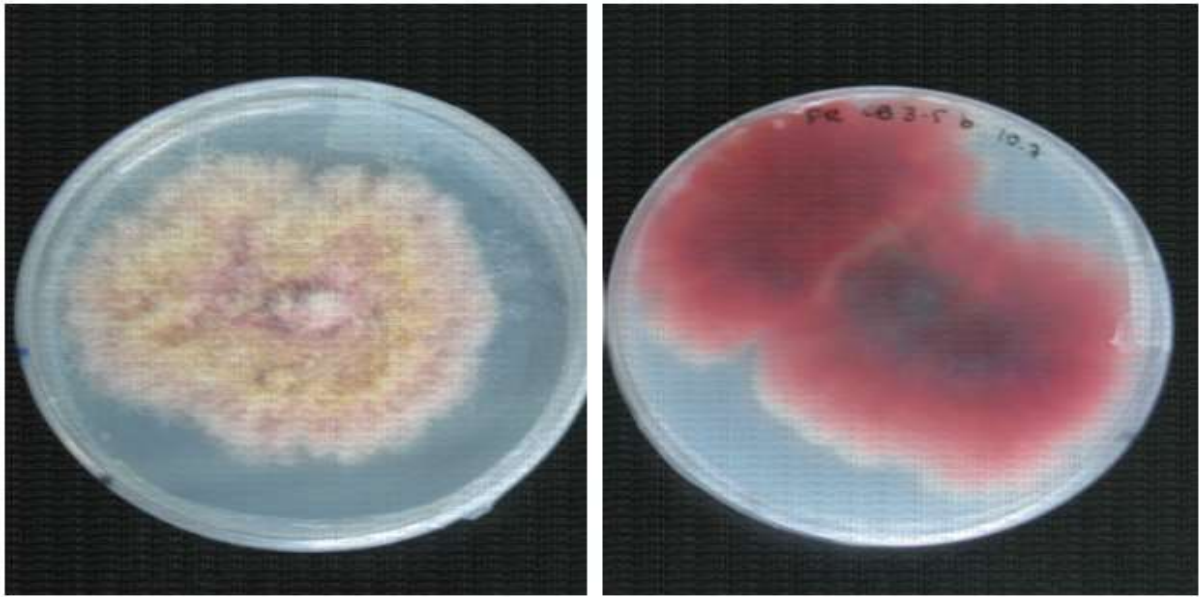
Croissance relativement rapide, souvent avec une série d'anneaux concentriques apparents. Les bords de la colonie sont souvent lobés, et l'absence de lobes peut indiquer que la souche a commencé à dégénérer. Le mycélium aérien est abondant, floconneux à feutré et de couleur blanche à jaune à orange-gris. Une masse de macroconidies formé au centre de la culture. Les pigments dans l'agar sont jaunes, rose ou rouge rubis, parfois avec des points bruns.

**Tableau 9. Caractères macroscopiques de *Fusarium sambucinum***

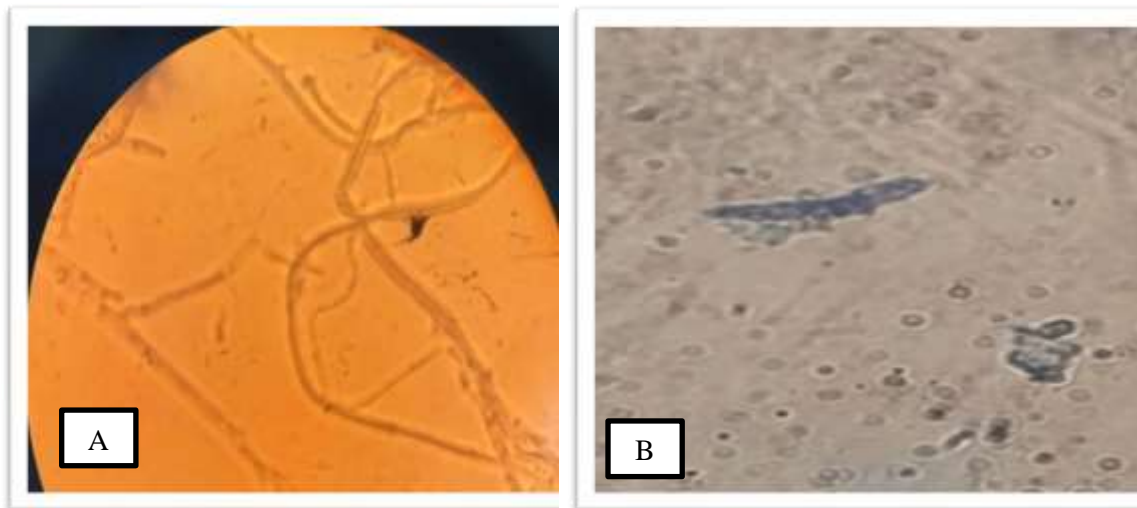
<b>Recto</b>									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelettes d'exsudat	Odeur
Ronde	Ondulés	Régulier	Régulière	5,8	Assé abondant blanc	Blanc	Duveteux	-	-
<b>Verso</b>									
Couleur		Diffusion de pigments				Insertion de la colonie			
Rose		Rose				Centrale			

**Tableau 10. Caractères microscopiques de *Fusarium sambucinum***

Macro-conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	
Relativement courte de 3 à 5 septé	Falciforme, uniforme et mince	Apicale	En forme de pied	Pointue	-
Micro-conidies					
Abondance	Forme(s)	Disposition		Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Abondante	Ovales	solitaires conidiophores en grappe		Non ramifié	Monophialide



**Figure 44.** Culture de *Fusarium sambucinum* sur PDA après 7 jours de culture à 25° C



**Figure 45.** Caractère microscopique de *Fusarium sambucinum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidie et microconidies

### **Identification de l'isolat 6 : FS2-0524**

L'isolat 6 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Fig.46) sont décrits dans le (Tab.11) et les caractères microscopiques (Fig.47) sont décrits dans le (Tab.12).

## Résultats et discussion

### **Classification :**

**Règne :** Fungi

**Phylum :** Ascomycota

**Classe :** Sordariomycetes

**Ordre:** Hypocreales

**Famille:** Nectriaceae

**Genre:** *Fusarium*

**Espece:** *Fusarium culmorum*

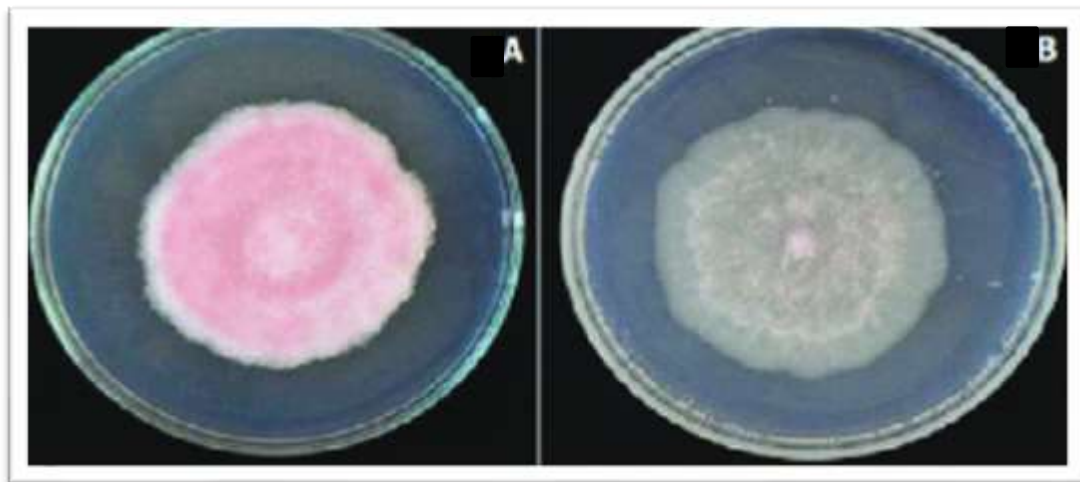
*Fusarium culmorum* se développe rapidement en produisant abondamment des sporodochies dans une grande masse centrale de spores (de 1 à 2 cm de diamètre), qui sont initialement d'un orange pâle mais deviennent foncé avec l'âge. Des anneaux de masses de spores se forment. Il forme des pigments rouges dans l'agar.

**Tableau 11. Caractères macroscopiques de *Fusarium culmorum***

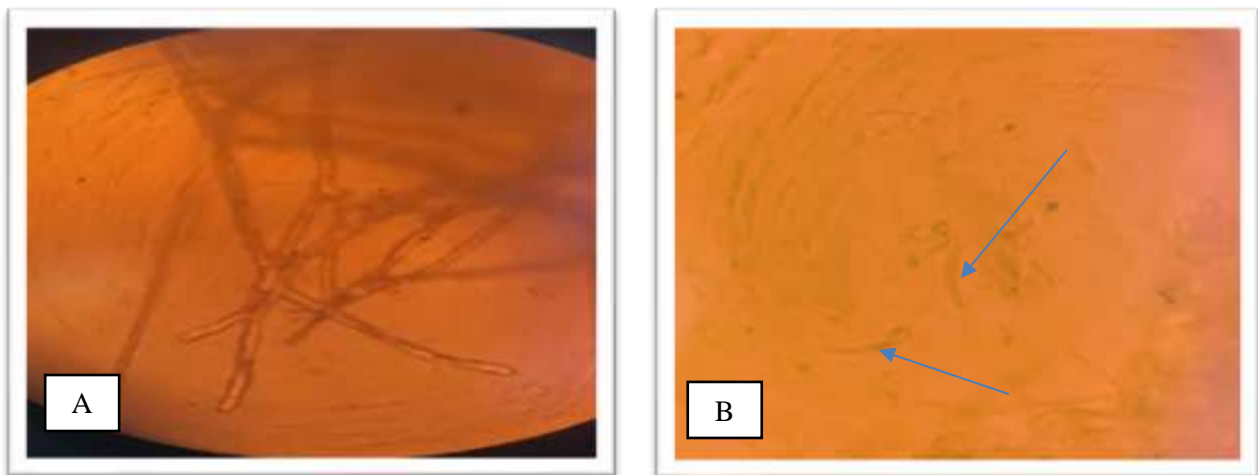
Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Irrégulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière	9,3	Rose	Rose	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Rose			Rose			Centrale			

**Tableau 12 : Caractères microscopiques de *Fusarium culmorum***

Macro conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	-
relativement courtes 3 ou 4 septa.	Robustes, paroi épaisse Le côté dorsal est quelque peu courbé, mais le côté ventral est presque droit.	Milieu	Échancrée et sans forme de pied distincte.	Arrondie	
Micro conidies					
Abondance dans le mycélium aérien	Forme(s)	Disposition (observation directe de la culture)	Aspect du conidiophore	Conidiogénèse	
Absente	-	-	-	-	



**Figure 46.** Culture de *Fusarium culmorum* sur PDA après 7 jours de culture à 25° C



**Figure 47. Caractère microscopique de *Fusarium culmorum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Mycelium cloisoné. B : Macroconidies**

### **Identification de l'isolat 7 : FS3-0524**

L'isolat 7 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Fig.48) sont décrits dans le (Tab.13) et les caractères microscopiques (Fig.49) sont décrits dans le (Tab.14).

#### **Classification :**

**Règne :** Fungi

**Phylum :** Ascomycota

**Classe :** Sordariomycetes

**Ordre:** Hypocreales

**Famille:** Nectriaceae

**Genre:** *Fusarium*

**Espece:** *Fusarium solani*

La colonie de *Fusarium solani* blanches à crème avec un mycélium peu abondant orangé. Les sporodochies sont souvent produites en abondance.

## Résultats et discussion

**Tableau 13. Caractères macroscopiques de *Fusarium solani***

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Irrégulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière		Jaune	Jaune	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Jaune			Jaune			Jaune			

**Tableau 14. Caractères microscopiques de *Fusarium solani***

Macro conidies					Chlamydiospores	
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	Globuleuses a parois lisses, formées de manière abondants et rapidement, généralement dans les 2 à 4 semaines, peut-être intercalaire dans les hyphes ou formée terminalement sur de courtes branches latérales généralement individuellement ou en paires, mais parfois en courtes chaînes	
Relativement large, De 5 à 7 septas	Droite, robuste	Centrale	Généralement avec une extrémité échancrée ou arrondie	arrondie		
Micro conidies						
Abondance dans le Mycélium aérien	Forme(s)			Disposition	Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Abondante	Ovales, ellipsoïdes, réniformes et fusiformes avec 0 ou 1 à occasionnellement 2 septas.			Fausses têtes	Souvent assez longues	Monophialides

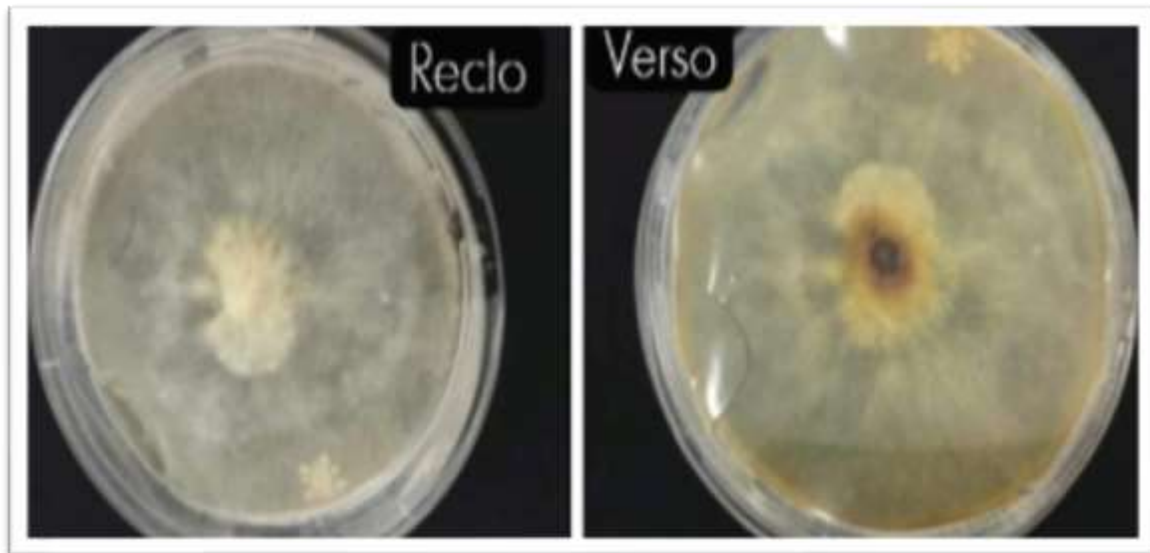


Figure 48. Culture de *Fusarium solani* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C

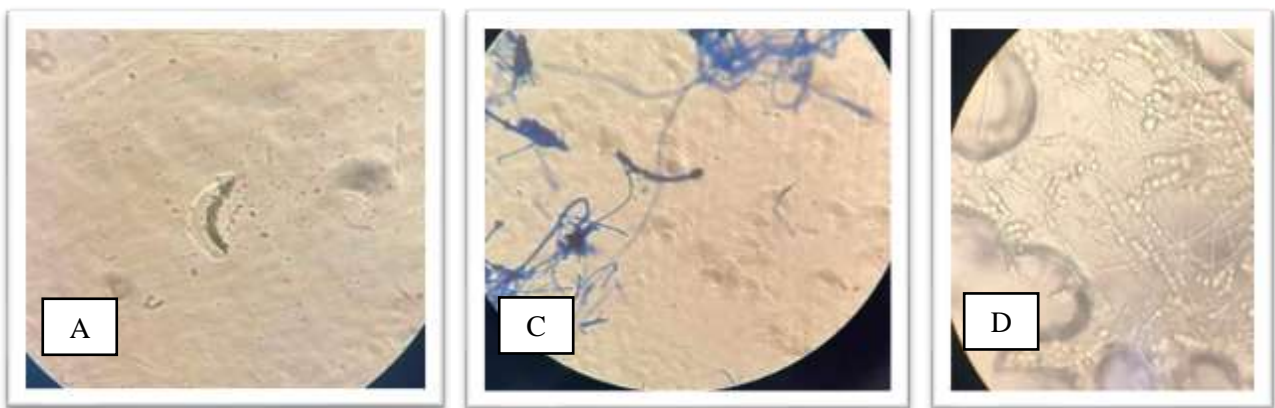


Figure 49. Caractère microscopique de *Fusarium solani* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné et phialide portant une macroconidie. C : Clamydiospores.

### **Identification de l'isolat 8 : FS4-0524**

L'isolat 8 a été identifié comme appartenant au genre *Fusarium*. Les caractères macroscopiques (Fig.50) sont décrits dans le (Tab.15) et les caractères microscopiques (Fig.51) sont décrits dans le (Tab.16).

## Résultats et discussion

### **Classification :**

**Règne :** Fungi

**Phylum :** Ascomycota

**Classe :** Sordariomycetes

**Ordre:** Hypocreales

**Famille:** Nectriaceae

**Genre:** *Fusarium*

**Espece:** *Fusarium graminearum*

Les colonies se développent rapidement et produisent des quantités relativement importantes de mycélium dense qui varient en couleur du blanc à rose pâle en passant par le violet. Les sporodochies rouge-brun sont produites lentement (> 30 jours).

**Tableau 15. Caractères macroscopiques de *Fusarium graminearum***

Recto									
Forme générale	Bordure	Relief	Aspect de la surface	Vitesse de croissance (mm/j)	Mycélium	Couleur des spores	Texture du thalle	Présence de gouttelette d'exsudat	Odeur
Régulière	Ondulés	Centre Apiculé	Régulière	60	Rose	Rose	Duveteux	-	-
Verso									
Couleur			Diffusion de pigments			Insertion de la colonie			
Rose			Rouge carmin			Rose			

**Tableau 16. Caractères microscopiques de *Fusarium graminearum***

Macro conidies					Chlamydiospores
Taille relative	Forme générale	Section la plus large	Forme de la cellule basale	Forme et taille de la cellule apicale	Rares, très lente à se former. Individuelles globuleuses, lisses et non veruqueuses
Mince, à paroi épaisse et de longueur moyenne. De 5 à 6 septas	Modérément courbé à droit avec la surface ventrale droite et le côté dorsal légèrement arqué.	Centrale	Effilée et parfois resserrée pour former une forme semblable à un museau.	Forme de pied bien développée.	Formation dans le mycellium et non dans les macroconidies

## Résultats et discussion

Micro conidies				
Abondance dans le mycélium aérien	Forme(s)	Disposition (observation directe de la culture)	Aspect du conidiophore	Conidiogénèse
Absentes	-	-	-	-



Figure 50. Culture de *Fusarium graminearum* sur milieu PDA après 7 jours de culture à 25° C

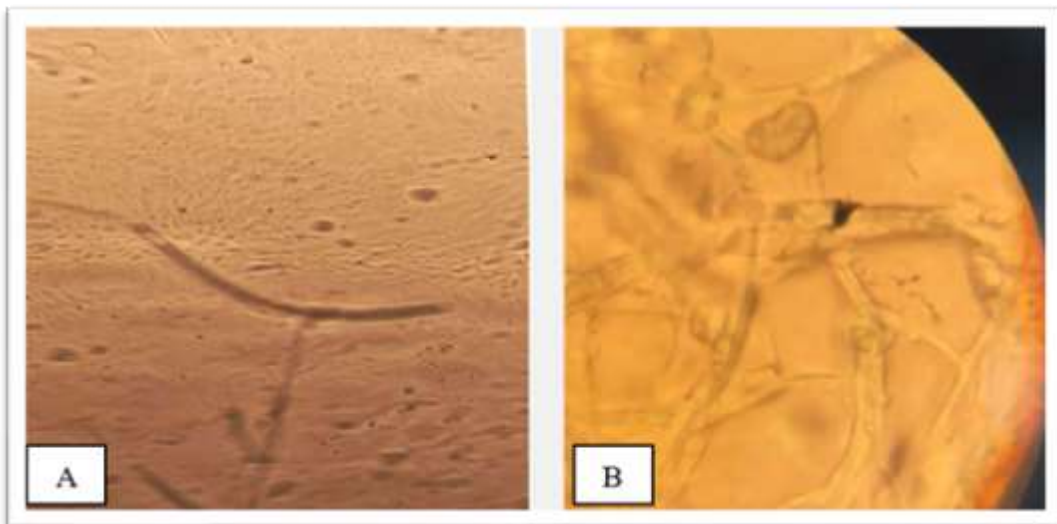


Figure 51. Caractère microscopique de *Fusarium graminearum* sous microscope optique agrandissement (G x 400.). A : Macroconidie. B : Mycélium cloisonné.

### 7. Résultat de la conservation

Les isolats de *Fusarium* sont conservés dans des tube sur milieu PDA incliné La technique de conservation est facile, économique et rapide (Fig. 52) mais semble n'être que provisoire à cause de l'accumulation d'eau qui favorise la contamination. En outre la haute teneur en sucres dans ces milieux encourage la mutation chez plusieurs espèces de *Fusarium* (Ioos, 2001). D'autres techniques de surgélation ou utilisant le sol comme substrat permettent de conserver les souches jusqu'à 10 ans tout en limitant la variabilité génétique, (Siti Nordahllawate Bt, 2007).



Figure 52. Méthode de conservation en tube sur milieu PDA incliné

### 8. Résultats de l'activité antifongique

Notre étude visait à évaluer l'effet antifongique de deux de nos extraits de *Bunium incrassatum* (1 et 2) sur deux nos souches de *Fusarium* (FS1-0524 et FS2-0524) soit *Fusarium sambucinum* et *Fusarium culmorum*. La concentration étant 0,16 mg/ml pour tous les extraits. Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode de « *Poisoned Food technique* ». Les diamètres des colonies ont ensuite été mesurés et comparés aux témoins.

Il s'agit de la méthode internationale officielle utilisée dans de nombreux laboratoires pour les tests de routine de sensibilité aux antifongiques. Dans le but de réduire les erreurs expérimentales et d'obtenir des résultats plus précis, nous avons effectué deux fois la sensibilité de chaque souche aux différents extraits de *Bunium incrassatum*.

Les résultats obtenus après une semaine d'incubation à 25°C sont représentés dans le (tab17).

**Tableau 17. Les résultats de l'activité antifongique pour chaque extrait**

	Moy du diamètre	Diamètre du témoin	% d'inhibition
<b>FS1 x T1</b> <b>(0.16mg/ml)</b>	<b>14.5 ± 1</b>	<b>41 ± 1.15</b>	<b>64,63</b>
<b>FS1 x T2</b> <b>(0.16mg/ml)</b>	<b>13.5 ± 1.2</b>	<b>41 ± 1.4</b>	<b>67</b>
<b>FS2 x T1</b> <b>(0.16mg/ml)</b>	<b>13.5 ± 1</b>	<b>65 ± 2</b>	<b>79,23</b>
<b>FS2 x T2</b> <b>(0.16mg/ml)</b>	<b>15 ± 1</b>	<b>65 ± 1.8</b>	<b>76,92</b>

Les résultats suggèrent que les deux extraits ont une activité antifongique *in vitro* notable contre les souches de *Fusarium* testées à la faible concentration de 0,16 mg/ml. L'extrait1 semble particulièrement efficace contre la souche **FS2**, avec une inhibition de près de 80%, tandis que l'extrait 2 montre une activité légèrement plus élevée contre la souche **FS1**.

L'activité antifongique des extraits peut être attribuée à leur richesse en composés bioactifs. En effet ils se sont révélé être remarquablement riches en composés phénoliques et surtout en flavonoïdes, qui sont connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces composés peuvent jouer un rôle clé dans l'activité inhibitrice contre les bactéries et les fongueux (**Al-Hashimi, 2012**).

La différence entre les extraits est significative et cette différence peut être attribué a différents facteurs extrinsèques ou intrinsèques comme le génotype qui aboutit à des différences quantitatives et qualitatives en terme de composés phénoliques.

## Résultats et discussion

---

Des résultats moins importants ont été obtenus par **Bousetla et al., (2015)** avec les extraits de racine de « Talghouda » avec des concentrations plus importantes et sur les moisissures plus communes. Cette étude avait révélé que la composition chimique des racines de *Bunium incrassatum* poussant en Algérie incluait deux coumarines, le  $\beta$ -sitostérol, le saccharose et l'acide oléique.

Les photos ont été capturées lors de la mesure des diamètres des zones d'inhibition après 7 jours de croissance des souches de *Fusarium* à une température de 37°C sont présentées dans les figures suivantes :

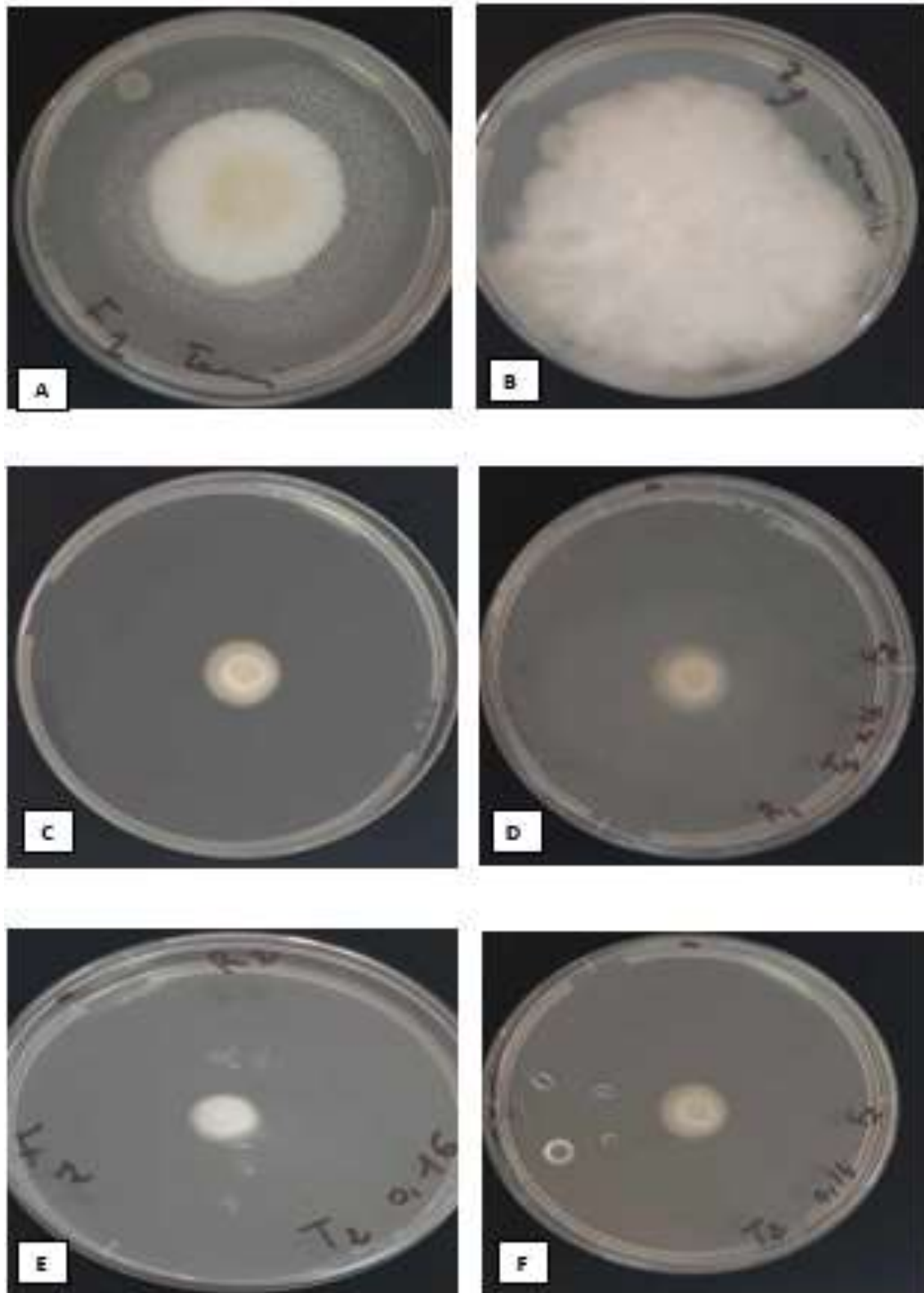


Figure 53. Photos des résultats du test de l'activité antifongique des extraits méthanoïque de composés phénoliques de *Bunium incrassatum* par la méthode « *poisoned food technic* » à la concentration 0,16 mg/ml. A : Témoin FS1. B : Témoin FS2. C : FS1 x T1. D : FS2 x T1. E : FS1 x T2. F : FS2 x T2.

### 9. Analyse globale des résultats

Selon le tableau 18, nous constatons que les composés phénoliques ne représentent qu'une infime fraction de la masse totale du résidu car ils sont issus du métabolisme secondaire de la plante et sont actifs à de faibles concentrations. Il n'existe pas de corrélation entre le taux d'extraction le taux de phénols totaux.

**Tableau 18 : Tableau représentant le % des composants du résidu**

Composés phénoliques %	Autres composés du résidu %
0,47	99,53
0,09	99,91
0,95	99,05
1,11	98,89

Cela suggère que les solvants utilisés sont suffisamment sélectifs pour attirer spécifiquement les composés phénoliques, mais qu'une purification supplémentaire serait recommandée pour éviter les interférences lors de la lecture au spectrophotomètre et obtenir de meilleurs résultats. Elles soulignent également que l'utilisation d'un seul étalon, comme l'acide gallique, peut présenter des limites, et qu'il serait judicieux de confirmer les résultats par une analyse HPLC afin de compléter l'étude.

D'après (**Fukushima, 2009**), La méthode HPLC est un moyen précis de quantifier la quantité de chaque molécule de polyphénol, offrant ainsi une mesure précise. Cependant, étant donné la dispersion importante des molécules de polyphénols, il est impossible de mesurer toutes les molécules en utilisant seulement quelques échantillons standard, ce qui peut parfois entraîner une surestimation de l'hypothèse.

En revanche, la méthode de dosage colorimétrique de la teneur en polyphénols, comme la méthode de Folin-Ciocalteu, est simple à réaliser et permet d'estimer les teneurs globales en polyphénols, qui regroupent une variété de molécules. Cependant, il convient de noter que la méthode de Folin-Ciocalteu peut avoir des difficultés à éliminer les substances parasites telles que les sucres réducteurs et la vitamine C.

## Résultats et discussion

Selon les données présentées dans les figures (54- 55), le pourcentage de flavonoïdes par rapport aux composés phénoliques est important. Il arrive à 24 % pour l'extrait de Tiaret.

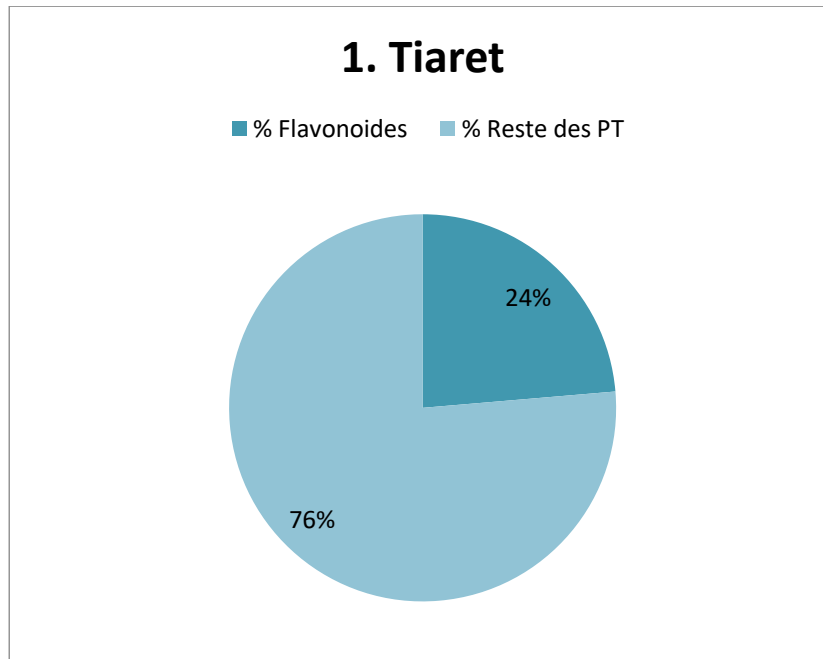


Figure 54. Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de de l'échantillon de Tiaret

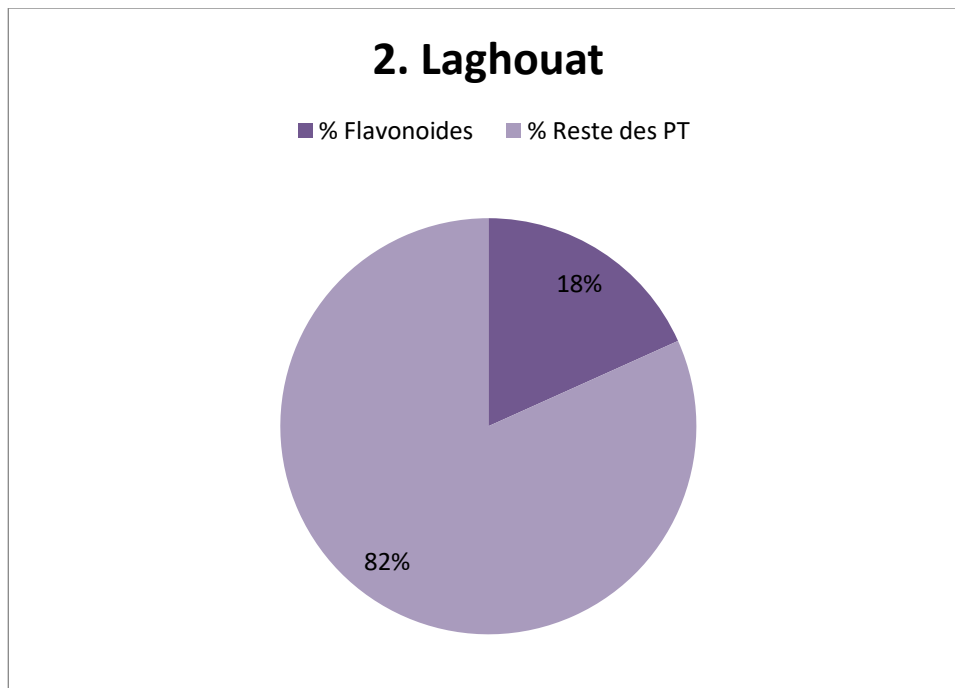


Figure 55. Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de de l'échantillon de Laghouat

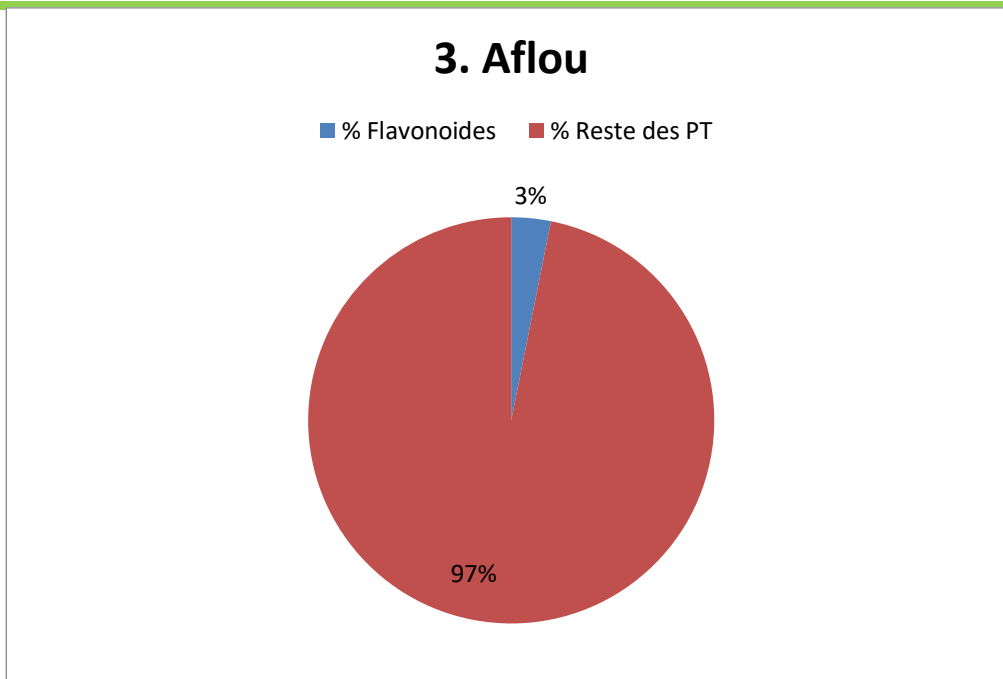


Figure 56. Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de d'Aflou

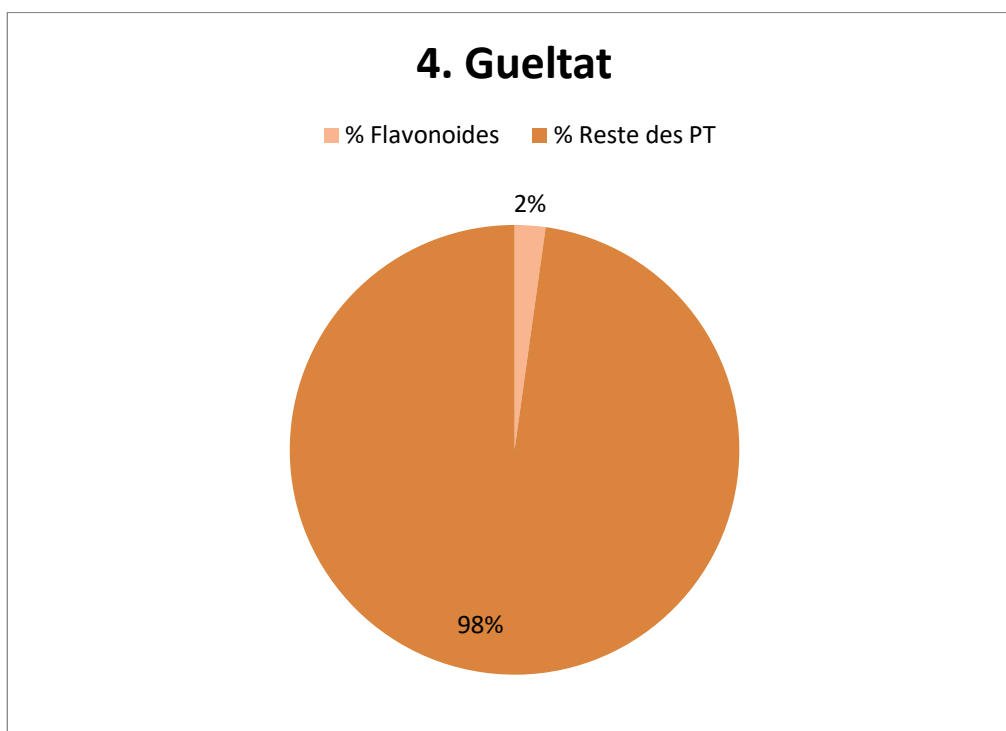


Figure 57. Graphique représentant les flavonoïdes par rapport au phénols totaux de Gueltat

## Résultats et discussion

---

Nous remarquons une corrélation positive entre le taux de phénols totaux et le taux de flavonoïdes trouvés dans notre étude. Le même résultat a été trouvé dans les études menés par **(Amaya-Cruz, 2018)** et **(Deli, 2019)**.

Les flavonoïdes sont des substances antimicrobiennes efficaces contre un large éventail de micro-organismes, dont ils sont capables à se complexer avec des protéines extracellulaires et des protéines solubles et complexer avec les parois cellulaires bactériennes **(Al-Hashimi, 2012)**.

Notre étude visait à investiguer le contenu bioactif de *Bunium incrassatum* (appelée "التقودة" en arabe) dans le but de valoriser cette plante principalement dans l'industrie agroalimentaire mais aussi dans le secteur agricole et pharmaceutique. Cette étude comparative que nous avons menée entre quatre échantillons d'origine différentes a permis d'obtenir des résultats soulignant des différences significatives quant à la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes ainsi qu'à l'activité antifongique des 4 localités.

Les résultats obtenus démontrent que cette plante est relativement riche en composés phénoliques et en flavonoïdes ce qui peut expliquer en partie ses propriétés thérapeutiques. En comparant les valeurs obtenues avec ceux trouvés dans la bibliographie, nous avons pu constater qu'elles étaient supérieures au peu d'études menées. Cela peut être dû à l'efficacité de la méthode d'extraction ou à d'autres facteurs génétiques et environnementaux.

Nous avons constaté que l'échantillon de Tiaret issu du marché algérien présentait une concentration plus élevée en composés phénoliques et en flavonoïdes par rapport à l'autre. Cette différence peut être attribuée à des facteurs environnementaux et à des variations génétiques.

L'activité antifongique de l'extrait de *Bunium incrassatum* contre *Fusarium* en faibles concentrations constitue une avancée significative dans la lutte contre les maladies de blé. Notre étude a démontré l'efficacité de l'extrait de *Bunium incrassatum* à inhiber la croissance du *Fusarium*, un champignon pathogène majeur responsable d'altération du blé avant et après récolte (stockage en silos). Cette découverte revêt une importance particulière dans le cadre de l'agriculture écologique et durable, alors que le monde cherche à réduire sa dépendance aux pesticides chimiques traditionnels.

L'extrait de *Bunium incrassatum* offre une solution naturelle et sûre pour lutter contre *Fusarium*, minimisant ainsi les impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine. Son utilisation comme biopesticide peut améliorer la sécurité des productions agricoles et aider à protéger les cultures des pertes économiques significatives causées par ce champignon.

## Conclusion

---

Les extraits de *Bunium incrassatum*, riches en composés bioactifs antioxydants et antimicrobiens, jouent un rôle essentiel dans l'amélioration de la durée de conservation des aliments. Leur potentiel antioxydant aide à améliorer la qualité nutritionnelle des aliments transformés, tout en renforçant leur profil nutraceutique.

En conclusion, Cette étude sur fournie des informations précieuses pour la valorisation de cette plante et ouvre la voie à de nombreuses perspectives intéressantes. La poursuite de la recherche dans ces domaines permettra d'approfondir notre compréhension de cette plante, d'optimiser son utilisation dans l'industrie agroalimentaire et de développer de nouveaux produits innovants répondant aux besoins des consommateurs en matière de naturalité, de qualité et de sécurité alimentaire.

## Les références bibliographiques

### A

- Aćimović, M. G. (2017). Nutraceutical Potential of Apiaceae. Reference Series in Phytochemistry, 1–31.
- Aggarwal, A., Kadian, M. S., & Beniwal, R. S. (2009). Response of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties to different irrigation regimes in semi-arid region of India. *Agricultural Water Management*, 96 (10), 1437-1442.
- Ahlem Bousetla, Amar Zellagui, Kamel Derouiche, Salah Rhouati, Chemical constituents of the roots of Algerian *Bunium incrassatum* and evaluation of its antimicrobial activity, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 8, Issue 3, 2015, Pages 313-316,
- Aiouaz, M., & Bitam, A. (2022). *Bunium crassatum* Bois. Batt. Trab. (Talgouda) in the improvement of thyroid tissue damages in female rats. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(2), 92-108.
- Amourche, A. (2016). "Wheat: Growth, Development, and Utilization
- Ammar, K. (2014). *Wheat: Chemistry and Technology*.
- Antoniou, P. P., & Tjamos, E. C. (2015). Verticillium wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. *Plant Disease*, 99(12), 1597-1610.
- <https://www.algerie-eco.com/2024/01/08/cereales-la-realisation-de-350-centres-de-proximite-de-stockage-lancee-a-partir-de-mars-prochain>

### B

- Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food Agric, Res.*, N° special: 83-95.
- Baur, J. A., Pearson, K. J., Price, N. L., Jamieson, H. A., Lerin, C., Kalra, A., ... & de Cabo, R. (2006). Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, 444(7117), 337-342.

- Befikadu, Tessema. (2019). "Wheat Production and Marketing in Ethiopia: A Review Study". *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1613770.
- Belmehdi, O., Belkadi, B., Bouzerzour, H., & Belkacem, L. (2019). Evaluation of wheat varieties under different nitrogen levels in Mediterranean conditions. *Journal of Agricultural Science*, 11(7), 112-123.
- Belmehdi, O., Benbelkacem, A., Guechi, A., Benmahammed, A., & Bouzerzour, H. (2019). Effects of different irrigation regimes on yield and water use efficiency of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in a semi-arid region. *Journal of Integrative Agriculture*, 18\*(8), 1885-1895.
- Benmehidi, M., & Boukaabache, A. (2018). Effects of water stress on wheat productivity in semi-arid regions. *International Journal of Plant Production*, 12(2), 123-136.
- Benkhalfa, A., Toumi, M., & Berberi, M. (2019). Talghouda"" une ancienne source alimentaire et une culture adaptée aux régions montagneuses. *Laboratoire d'ethnobotanique et substances naturelles, ENS El-Ibrahimi Kouba, Alger*.
- Bensmira, S. (2006). Isolement et caractérisation de souches de milieux extrêmes (Sol Sobkha de la région de Beskra) productrice de cellulase thermostable a intérêt industriel. *Diplôme de Magister. Constantine. Université de Mentouri*. 166 p.
- Berkache, I., Rezk, A., Guechi, A., Ounane, G., & Mekliche, A. (2018). Assessment of grain yield stability of bread wheat genotypes under rainfed conditions. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(11), 2501-2512.
- Botton, B., Bretton, A., Fevre, M., Guy, P., Larpent, J. P., & Veau, P. (1990). *Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2eme édition, Paris, Masson*. 512 p.
- Bounar, R. (2009). Recherche sur l'état sanitaire des semences de céréales et légumineuses alimentaires: Mise en évidence des mycotoxines et leur effet sur la germination. *Thèse de Magister. El-Harrach. Institut National Agronomique (INA)*. 120 p.
- Bourgou S, Beji R S, Medini F et Ksouri R., (2016). « Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités

antioxydantes d'«Euphorbia helioscopia », Journal of New Sciences, Volume 28, Issue 12, pages 1649-1655, April 2016.

- Boukezata A. (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*).
- Bouderdara N. (2013). Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de *Cachrys libanotis* L.
- Boumediou A. et Addoun S. (2017). Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle
- Bouziane Z. (2017). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen –Algérie).
- Brochard, F., Sache, I., & Bancal, M. O. (2009). Wheat leaf rust: Epidemiology and control strategies. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(4), 545-553.
- Burns, J., Gardner, P. T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D. B., & Lister, C. (2002). Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3237-3241.
- Bettahar, H. (2016). "Effect of Salinity on Growth and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties". *Agricultural Sciences*, 7(5), 303-313.
- Bettahar, M. (2016). *Wheat Production and Management: Innovations and Challenges*.
- Biesaga-Kościelniak, J., Szopa, J., & Włoch, W. (2011). Molecular aspects of flavonoid–plant interactions. *Canadian Journal of Plant Science*, 91(3), 385-401.
- Bojanowski, M. (2011). Information extraction from scientific articles: A survey. *Information Processing & Management*, 47(1), 255-267.

## C

- Champion, R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. *Techniques et Pratiques*. INRA Editions, 166-197.

- Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2012). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *\*Plant Physiology and Biochemistry*, 72\*, 1-20.
- Chentouh S, B. S. (2018). Effet des extraits organiques de *Bunium incrassatum*. *Revue des BioRessources*, 9.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., Kuhnert, N., & Sakzewski, A. C. (2000). Coffee: chemistry and health. *Natural Product Reports*, 17(3), 195-202
- Cui, X., Wang, S., Cai, Y., Sun, C., Zhao, Y., Li, W., ... & Wang, Z. (2005). The effect of chemical crosslinking on the properties of collagen-chitosan complex for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 25(1), 57-64.
- Cuz, S., Sen, Y., Yildiz, M., & Demir, Y. (2016). Effect of irrigation regimes on grain yield and quality of bread wheat varieties in semi-arid region. *\*International Journal of Plant Production*, 10\*(1), 69-86.

## D

- Davet, P., & Rouxel, F. (1997). *Détection et isolement des champignons du sol*. INRA édition. Paris. 201 p.
- Doukhani, Y., Miri, S.M., Fathi, S.A., Safarnejad, M.R., & Samadi, B. (2015). "Evaluation of Salt Stress Tolerance in Different Wheat Genotypes at Germination and Seedling Stages". *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(2), 657-667.
- Doumandji, A., et al. (2003). *Wheat Cultivation Techniques : A Comparative Study*.
- Duron, C. (1999). *Wheat: Production, Uses, and Economic Impacts*.

## E

- El kolli H., laouer H & el kolli M., 2017: chemical composition and biological activities of the essential oils and the methanolic extracts of *bunium incrassatum* and *bunium alpinum* from algeria. *Journal of the Chilean Chemical Society* 62, 3335-3341.

## F

- Feillet, P. (2000). Le grain de blé: composition et utilisation. INRA Éditions. P 283-285.

## G

- Gómez-Caravaca, A. M., Verardo, V., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Fatty acid composition and antioxidant activity of Spanish wild mushrooms. \*European Food Research and Technology, 224(2), 249-255.

## H

- Habbi, K., et al. (2018). Wheat: Cultivation and Utilization.
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- Haichour, N. (2017). \*Wheat: Production, Challenges, and Innovations.
- Hales, J., & Rush, J. (2016). Wheat Production in the United States: A History.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., & Aruoma, O. I. (1995). The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. \*Analytical Biochemistry, 165(1), 215-219.
- Hamini et Yousfi (2015). caractérisation morphologique et biochimique des dattes de quelque cultivars de la région de Laghouat, test de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits phénoliques in-vitro.
- Health Canada. (2015). Canadian Immunization Guide. Available
- Heffron, J. J. A., Seifert, H. S., & Rice, P. A. (2002). Genetic structure and function of *Neisseria gonorrhoeae* pilus antigenic variation. *Molecular Microbiology*, 45(3), 647-660.
- Hellevang, K. (2023). Wheat Storage and Management: Principles and Practices.
-

- Herrmann, K. M., Weaver, L. M., & Scolnik, P. A. (1989). Molecular genetics of plant development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 40, 527-552.
- Hollman, P. C. H., Katan, M. B., & Arts, I. C. W. (1996). Tea flavonoids: bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro. *Antioxidants & Redox Signaling*, 1(3), 469-480.
- Husseina, R. M., Shaheinb, Y. E., El Hakimb, A. E., & Awadc, H. M. (2010). Biochemical and molecular characterization of three colored types of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of American Science*.

## I

- IOOS R, (2001). « Le Fusarium et Microdochium sur grains de céréales en France » . *Phytoma, la défense des végétaux- N°539* p52-56.

## J

- Jassbi A. R., Mehrdad M., Soleimani M., Mirzaeian M. et Sonboli A., (2005). *Chemical*

Composition of the essential oils of *Bunium elegans* and *Bunium caroides*. *Chemistry of Natural Compounds*

- Jeunot, B. (2005). Les fusaritoxines sur céréales: détection, risques et nouvelle réglementation. Thèse de doctorat. Nancy. Université Henri Poincaré. 111 p.
- Jiménez-Díaz, R. M., Cirulli, M., Bubici, G., Jiménez-Gasco, M. M., Antoniou, P. P., & Tjamos, E. C. (2015). Verticillium wilt, a major threat to olive production: Current status and future prospects for its management. *\*Plant Disease*, 99\*(12), 1597-1610.

## k

- König, J. (2016). *\*Wheat: From Evolution to Revolution*.

- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., ... & Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. \*The American Journal of Medicine, 113\*(Suppl 9B), 71S-88S.
- Krska, R. (2009). Strategies and developments in mycotoxin analysis. \*Analytical and Bioanalytical Chemistry, 395\*(5), 1243-1253.

## L

- Lahmar I, Belghith H, Ben Abdallah F et Belghith K., (2017). « Nutritional Composition and Phytochemical, Antioxidative, and Antifungal Activities of *Pergularia tomentosa* L », BioMed research international, Volume 2017.
- Lamaison, J. L. C., & Carnet, A. (1990). Teneurs en Principaux Flavonoides des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poiret D. C) en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*, 65, 315-320.
- Landete, J. M., Arqués, J., Medina, M., Gaya, P., & de Las Rivas, B. (2012). Bioactivation of phytoestrogens: intestinal bacteria and health. \*Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 52\*(10), 825-840.
- Le chiffre
- Leclerc, M., Goyeau, H., Bouchet, A. S., Abecassis, J., & de Vallavieille-Pope, C. (2005). Effects of *Fusarium* head blight species on grain yield of wheat in a semi-arid environment. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27(1), 93-99
- Lefahal M. (2014). Etude phytochimique, biologique et activité anticorrosion de trois plantes médicinales Algériennes appartenant aux familles Plumbaginaceae, Tamaricaceae et Apiaceae.
- Lefahal M., Zaabat N., Djarri L., Benahmed M., Medjroubi K., Laouer H., Akkal S.2017.Evaluation of the antioxidant activity of extracts and flavonoids obtained from *Bunium alpinum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) and *Tamarix gallica* L. (Tamaricaceae). *Pharmacy and Medical Sciences* 30: 5-9.
- Lefahal, M., Makhloufi, E., Ayad, R., Boussetla, A., Elhattab, M., Keski'N, M., & Akkal, S. (2022). Highlighting the Cosmeceutical Potential of the Edible

- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The fusarium laboratory manual*. 1ere ed. Blackwell Publishing. Ioa. 369 p.
- Liu, X. M., Liu, Y., Shan, C. H., Yang, X. Q., Zhang, Q., Xu, N., & Song, W. (2022). Effects of five extraction methods on total content, composition, and stability of flavonoids in jujube. *Food Chemistry*, 14, URL: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100287>.
- LNPV 4. (2001). Détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique. LNPV. Malzeville. MH/03/16 version a. 26p.
- LNPV 4. (2002). Détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique. LNPV. Malzeville. MH/03/16 version a. 26p.
- Lyddon, C. (2022). *Wheat: A Comprehensive Study*.

## M

- Magan, N., & Aldred, D. (2023). *Post-harvest Control Strategies: Wheat and Other Cereals*.
- Mahmoudi, S., Khali, M., & Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, Volume 9, 35-40.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79\*(5), 727-747.
- Mandal, P., Mate, A., & Jahangir, T. A. (2011). Effect of environmental factors on wheat productivity in India. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81 (6), 510-515.
- Mazoyer, M., & Roudart, L. (2006). *A History of World Agriculture: From the Neolithic Age to the Current Crisis*. Monthly Review Press.
- Meghazi, S. M. (2015). Impact of drought stress on wheat production and its management: A review. *Agricultural Water Management*, 164\*(Part 1), 178-186.

- Middleton, E. Jr., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52 (4), 673-751.
- Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural de l'Algérie. (2020). Agriculture et développement rural en Algérie. Récupéré le 25 juin 2024, de <http://www.minagri.dz/>
- McMullen et al., (1997). "Environmental conditions associated with Fusarium head blight epidemics of wheat and barley in the Northern Great Plains", USA. In: *Proceedings 1997 National Fusarium Head Blight Forum*, 10-12. November 1997, St Paul, USA, 46-47.

## N

- Nasraoui, B. (2008). Effects of different irrigation regimes on wheat yield and water use efficiency in a semi-arid region. *Journal of Agronomy*, 7\*(4), 302-308.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pa, 193pp.

## O

- Ogunleye, A. S., Osunde, Z. D., Akande, S. R., & Babatunde, F. E. (2015). Influence of nitrogen and phosphorus fertilizers on the yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties in the southern guinea savanna zone of Nigeria. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 23(1), 57-64.

## F

- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2020). *Wheat and the world*. Récupéré le 25 juin 2024, de <http://www.fao.org/wheat/en>
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2020). *Moulds and mycotoxins in stored wheat: A threat to food safety and security*. Récupéré le 25 juin 2024, de <http://www.fao.org/3/y4409e/y4409e.pdf>

- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture). (2022). FAOSTAT database. Récupéré le 25 juin 2024, de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

## P

- Packer, L., Rimbach, G., & Virgili, F. (1999). Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free Radical Biology & Medicine*, 27(5-6), 704-724.
- Pamel, J. G., et al. (2010). Effect of fungal infection on wheat. *Journal of Plant Pathology*, 92(2), 215-227.
- Pandel, A. K., Singh, P., Yadav, R. N. S., & Gupta, M. M. (2013). Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(4), 302-307.
- Purnajyoti, D. B., & Phatik, T. B., & Paran, B. (2015). In-Vitro Efficacy of Certain Essential Oils and Plant Extracts against Three Major Pathogens of *Jatropha curcas* L.

## Q

- Quezel P., Santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algerie et des regionsdesrtiques méridionales.CNRS,Paris.

## R

- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Rofia, R., Tittal, M., Qadri, R., & Nehvi, F. (2018). "Improvement in Yield and Quality of Wheat through Biofortification with Zinc and Iron: A Review" *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(5), 2220-2235

## S

- Sanchez Armengol, E., Harmanci, M., & Laffleur, F. (2021). Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds.
- Sánchez, C., Ribeiro-Vidal, H., Franco-Trecu, V., & Perea, R. (2011). Effects of different irrigation regimes on wheat yield in semi-arid regions. *Agronomy Journal*, 103(2), 405-413.
- Sauer L., (1993). « Relation entre les symptômes de fusariose de l'épi et la perte de rendement chez le blé tendre ». *Agronomie* 13, 829-833.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 215S-217S.
- Schultz, G., Appel, K., Schulz, H., Matschiner, K., Schulze-Forster, K., & Hoefl, B. (2007). Storage and processing effects on key active substances in different foods. *European Food Research and Technology*, 226(3), 459-465.
- SEYOUN R., ZEHERRI D., BOUZNAD Z., (1999), "Les maladies des cereales et legumineuses alimentaires au Maghreb ».
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P., & Oh, W. Y. (2015). Phenolics from marine sources: biology, chemistry, and applications. *Journal of Functional Foods*, 18(Part B), 817-833.
- SITI NORDAHLIAWATE BT MOHAME, S., (2007). "Pathogenicity and aetiology of FUSARIUM species associated with pokkah boeng on sugarcane". Master of Science. Malaysia. Université de SAINS MALAYSIA. 84 p.
- Spencer, J. P. E., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2010). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, 99(1), 12-22.
- St-Pierre, C., et al. (2015). *Wheat Breeding: Advances and Challenges*.
- Surget, A., & Barron, C. (2005). *Histologie du grain de blé*. *Industries des Céréales*, 142, 3-7.

## T

- Taïbi, K., AitAbderrahim, L., Helal, F., & Hadji, K. (2021). Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(1), 43-52.
- Telli, A., Mahboub, N., Boudjeneh, S., Siboukeur, O. E. K., & Moulti-Mati, F. (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L.) variété ghars. *Annales des sciences et technologie*, 2(2), 107-114.

## Y

- Yang, R., Chang, L., Li, P., & Li, Z. (2001). Effect of irrigation regimes on wheat yield and water use efficiency in a semi-arid region. *Agricultural Water Management*, 48(3), 283-293.
- Yezli, S. (2011). Respiratory infection and the impact of vaccination on the global pandemic threat. *Journal of Infection and Public Health*, 4(1), 3-12.

# *Annexes*

## Annexe 1. Composition des différents milieux d'isolement et de culture

### **PDA (Potato Dextrose Agar)**

Pour un litre de milieu :

- Pomme de terre 200g
- Agar-agar 20g
- Dextrose 20g
- Eau distillée 1000 ml

### **DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar)**

Pour un litre de milieu :

- peptone bactériologique : 15,0 g
- $K_2HPO_4$  : 1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  : 0,5 g
- Chloramphénicol : 0,2 g [Peut causer le cancer. Peut causer des altérations génétiques héréditaires. Risques possibles pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette). Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage.]
- dichloran ( 2-6-dichloro-4-nitroaniline) en solution alcoolique\* : 1ml. [nocif en cas d'ingestion]
- crystal violet en solution aqueuse\*\* : 1 ml [Peut causer le cancer. Peut causer des altérations génétiques héréditaires. Toxique par ingestion et par inhalation. Irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette). Après contact avec les yeux se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/ du visage.]
- agar : 15,0 g
- $H_2O$  distillée ou osmosée : 1000 ml

\* : 0.2 g de dichloran dans 100 ml d'éthanol

\*\* : 50 mg de crystal violet dans 100 ml d'eau distillée

### **SNA (Synthetischer Nährstoffärmer Agar)**

#### **Pour un litre de milieu :**

- $K_2HPO_4$  : 1,0 g
- $KNO_3$  : 1,0 g
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  : 0,5 g
- $KCl$  : 0,5 g
- Glucose : 0,2 g
- Saccharose : 0,2 g
- Agar : 20,0 g
- $H_2O$  distillée ou osmosée : 1000 ml

### **Liste des réactifs et produits utilisés**

- Acide gallique
- Acétate d'éthyle
- Alcool
- Bouillon nutritif
- Carbonate de sodium
- Diméthylsulfoxyde DMSO
- Eau distillée
- Éthanol
- Éther de pétrole
- Folin-Ciocalteu
- Hypochlorite de Sodium à 1.5%Cl
- Méthanol
- Quercétine
- Sulfate de sodium anhydre
- Trichlorure d'aluminium

### **Principaux outils et appareils utilisés**

- Agitateur magnétique-plaque chauffante Fisher Scientific
- Ampoule à décanter
- Autoclave
- Bain marie MEMMERT

- Balance de précision
- Bec-benzène
- Bécher
- Boîtes Pétries de 90 mm
- Boîtes pétries en verre
- Chauffe-ballon
- Embouts à micropipettes.
- Évaporateur rotatif type BUCHI
- Four Pasteur type JOUAN
- Hotte chimique
- Lampe UV
- Micropipette 100- 1000 $\mu$ l ACCUMAX PRO
- Microscope optique
- Papier filtre
- Pince
- Papier aluminium
- Réfrigérant (Soxhlet)
- Spectrophotomètre UV/visible
- Tube à essai