



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie fongique

Intitulé :

**Isolement, purification et identification des moisissures du champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique**

Présenté et soutenu par : Charouana Nabila  
Brel Romaissa

Le : 28 /05/2018

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. DEHIMAT Laid

Pr - UFM Constantine1.

Rapporteur : Mme. CHERFIA Radia

M.A.A- UFM Constantine1.

Examineurs : Mme. MILET Asma

M.A.B- UFM Constantine1.

*Année universitaire  
2017 - 2018*

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.*

*Nous exprimons tout d'abord notre profonde reconnaissance à Mr. Dehimat Laid, Professeur à l'université des frères Mentouri Constantine 1. Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury.*

*Nous adressons mes sincères remerciements à notre encadreur Mme Cherfia Radia, Maitre Assistante classe –A- au département de Biologie Appliquée, Université des frères Mentouri Constantine1. Pour l'intéressant sujet qu'elle nous avait proposé et qui n'a cessé de nous orienter et nous appuyer a chaque étape; c'est par sa disponibilité, ses conseils précieux et son aide que ce travail s'est concrétisé.*

*Nos vifs remerciements vont Mme Milet Asma, Maitre assistante classe -B- au département de Biologie Appliquée, Université des frères Mentouri Constantine1. Pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements à Mr. Boudersa Yacer. Ingénieur du laboratoire de Zoologie Université des frères Mentouri- Constantine 1. Et Mr. Boudersa Nabil, Ingénieur du laboratoire de Biochimie, Université des frères Mentouri- Constantine 1. Où nous avons réalisé ce travail.*

## **DEDICACE**

Ce travail représente l'aboutissement du soutien et de encouragement que mes parents Cherouana Abdelwahab et Khedara Aldjia m'ont prodigué tout au long de ma scolarité.

*Je dédie ce travail aussi*

*A mes frères Housseem ,Imed et le chouchouté Nadir*

*A mon oncle KHEDARA EBD EL KARIM*

*A Ma grand-mère, cousines, cousins, oncles et tante.*

*Toute la famille Cherouana et Khadara.*

*Mon binôme Brel Romaiassa*

*Toutes mes amies et collègues.*

***Nabila***

## **Dédicace**

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie le fruit de ce

modeste travail à :

Mes chers parents Brahim et Samia, pour leurs amours, leurs soutiens et  
encouragements.

Mon cher frère Omar et mes belles sœurs Chaima et Hadil.

Remita Zakaria Souheil pour leurs encouragements

Ma grand-mère Zohra, cousines, cousins, oncles et tantes.

Toute la famille Brel et Chouah.

Mon binôme Cherouana Nabila.

Tous mes amies Manel, Chahinez, Romaiassa, Imen, Maha, Nihed et collègues.

***Romaiassa***

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**ATF** : Antifongique

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde

**EHMR** : Extrait hydrométhanolique racine

**EMR** : Extrait méthanolique racine

**Fig** : Figure

**g** : Gramme

**ha** : Hectare

**mg** : Milligramme

**PDA** : Potatoes Dextrose Agar

**ml** : Millilitre

**mm**: Millimètre

**PI%** : Pourcentage d'inhibition

**Rd%** : Rendement

**Tab** : Tableau

## Liste des tableaux

<b>Tab. 1</b> Quelques maladies mycologiques des céréales.....	11
<b>Tab.2</b> Principales mycotoxines et espèces fongiques productrices.....	12
<b>Tab. 3</b> Les différents genres fongiques obtenus à partir des feuilles et des racines désinfecté et non désinfecté des trois échantillons .....	30
<b>Tab.4</b> Aspects macroscopiques des isolats purifiés à partir des feuilles (blé dur, blé tendre orge).....	32
<b>Tab.5</b> Aspects macroscopiques des isolats purifiés à partir des racines (blé dur, blé tendre et orge).....	33
<b>Tab. 6 (A)</b> Identification macroscopique et microscopique des souches <i>Alternaria</i> .....	35
<b>Tab.6(B)</b> Identification macroscopique et microscopique des souches <i>Penicillium et Fusarium</i> .....	36
<b>Tab. 6(C)</b> Identification macroscopique et microscopique des souches <i>Uloclodium et Clodosporium</i> .....	37
<b>Tab.7</b> Caractéristiques et rendements des extraits des racines de <i>Calycotomespinosa</i> .....	38
<b>Tab. 8</b> Zones d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique, antibiotique et DMSO sur les bactéries testées.....	39
<b>Tab.9</b> Zones d'inhibitions du test antifongique de l'extrait hydrométhanolique sur <i>C. albicans</i> et 4 moisissures isolées à partir des trois céréales.....	40
<b>Tab. 10</b> Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures par deux extraits des racines de <i>C. spinosa</i> (EHMR et EMR).....	42
<b>Tab. 11</b> Activité antifongique des extraits EHMR et EMR sur 6 moisissures isolées à partir des feuilles et racines des trois céréales (Blé dur, blé tendre et orge) (Méthode2).....	44

## Liste des figures

<b>Fig.1</b> Zones de cultures dans l'Algérie .....	03
<b>Fig.2</b> Carte de la diffusion de la culture du blé tendre.....	07
<b>Fig 3.</b> <i>Calycotomespinosa</i> .....	16
<b>Fig. 4</b> Squelette de base des flavonoïdes.....	20
<b>Fig.5</b> Différentes classes des flavonoïdes.....	20
<b>Fig.6</b> Echantillons des céréales; <b>A</b> :blé dur, <b>B</b> : blé tendre, <b>C</b> :orge.....	22
<b>Fig.7</b> Désinfection et ensemencement des fragments des feuilles et des racines de trois céréales A et A': Désinfection ; B et B': Ensemencement.....	23
<b>Fig.8</b> Purification des isolats.....	24
<b>Fig.9</b> <i>Calycotomespinosa</i> (Mai 2018) ; <b>A</b> : Partie aérienne, <b>B</b> : Partie racinaire.....	25
<b>Fig.10</b> Racines de la plante <i>C.spinosas</i> séchées puis broyées.....	26
<b>Fig. 11</b> Préparation des extraits.....	27
<b>Fig.12</b> Isolement à partir des feuilles (A) et des racines (B) de blé tendre après 3 jours d'incubation à 30°C.....	31
<b>Fig.13</b> Zones d'inhibition du test antibactérien.....	39

## Table des matières

<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>2. Revue bibliographique</b> .....	3
2.1. Les céréales.....	3
2.1.1. Production céréalière en Algérie.....	3
2.1.2. Classification des céréales.....	4
2.1.3. Importance des céréales.....	4
• Importance alimentaire.....	4
• Importance économique.....	5
2.1.4. Céréales plus dominants dans le monde.....	5
2.1.4.1. Blé dur.....	5
• Origine du blé dur.....	5
• Origine génétique du blé dur.....	5
• Diffusion du blé dur.....	6
• Caractéristiques technologiques du blé dur.....	6
a) Résistance au mitadinage.....	6
b) Aptitude à donner des pâtes jaunes et claires.....	6
• Objectif d'amélioration.....	7
2.1.4.2. Blé tendre.....	7
• Origine du blé tendre.....	7
• Diffusion du blé tendre.....	7
• Caractéristiques technologiques du blé tendre.....	7
• Amélioration des techniques de culture.....	8
2.1.4.3. Orge.....	8
• Orge dans le monde.....	8
• Origine géographique et génétique.....	8
• Qualités technologiques.....	8
2.2. Les champignons.....	9
2.2.1. Levures.....	9
2.2.2. Moisissures.....	9
2.2.2.1. Généralités.....	9
2.2.2.2. Maladies fongiques des céréales.....	10



2.2.2.3. Métabolites secondaires des moisissures (Mycotoxines).....	10
2.3. L'ordre de Fabales.....	12
2.3.1. Les Fabaceae.....	12
2.3.1.1. Généralités.....	12
2.3.1.2. Origine du nom.....	12
2.3.1.3. Caractères botaniques.....	12
2.3.1.4. Classification.....	13
2.3.2. La sous famille des Papilionacées ou Fabacées.....	13
2.3.2.1. Généralités.....	13
2.3.2.2. Intérêts économiques et thérapeutique des Papilionoideae.....	14
2.3.3. Le genre <i>Calycotome</i> .....	14
2.3.3.1. Origine du nom.....	14
2.3.3.2. Caractères généraux du genre <i>Calycotome</i> .....	15
2.3.3.3. Espèce <i>Calycotomespinosa</i> .....	15
• Classification de l'espèce <i>Calycotome spinosa</i> .....	16
• Nomenclature.....	16
• Morphologie de <i>Calycotomespinosa</i> .....	16
• Composition chimique.....	16
• L'intérêt thérapeutique de <i>C. spinosa</i> .....	17
2.4. Métabolites secondaires.....	17
2.4.1. Généralités.....	17
2.4.2. Classification des métabolites secondaires.....	17
2.4.2.1. Les polyphenols.....	17
2.4.2.2. Rôle de polyphenols.....	18
2.4.2.3. Classification des polyphénols.....	18
2.4.3. Flavonoïdes.....	19
2.4.3.1. Classification des flavonoïdes.....	19
2.4.3.2. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes.....	19
<b>3. Matériel et méthodes.....</b>	<b>22</b>
3.1. Etude mycologique.....	22
3.1.1. Echantillonnage.....	22
3.1.2. Préparation des milieux de culture.....	22
3.1.3. Isolement de la flore fongique.....	23

3.1.4. Purification des isolats.....	23
3.1.5. Identification des isolats.....	23
3.1.6. Conservation des isolats.....	25
3.2. Etude phytochimique.....	25
3.2.1. Matériel végétale.....	25
3.2.2. Préparation de la plante.....	26
3.2.3. Extraction des polyphénols.....	26
3.2.3.1. Préparation des extraits.....	26
• Extrait hydrométhanolique(EHMR).....	26
• Extrait méthanolique (EMR).....	26
3.2.3.2. Calcul des rendements.....	27
3.2.4. Activité antimicrobienne des extraits obtenus.....	27
3.2.4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	27
3.2.4.2. Activité antifongique.....	29
<b>4. Résultats.....</b>	<b>30</b>
4.1. Analyse mycologique.....	30
4.1.1. Isolement des souches fongiques.....	30
4.1.2. Purification des souches fongiques.....	31
4.1.3. Identification des souches fongique isolées.....	34
4.2. Rendements d'extraction.....	38
4.3. Activité antimicrobienne.....	38
4.3.1. Test antibactérien.....	38
4.3.2. Test antifongique.....	40
<b>5. Discussion.....</b>	<b>45</b>
<b>6. Conclusion.....</b>	<b>50</b>
<b>7. Références bibliographique.....</b>	<b>51</b>

**Résumés**

**Annexe**

# **Introduction**

## 1. Introduction

---

### 1. Introduction

Les céréales constituent de loin la ressource alimentaire la plus importante au monde à la fois pour l'alimentation humaine et animale (**Ennadir et al., 2014**).

Dans le monde, la production des céréales est estimée à 2532 millions de tonnes en **2014**. A partir de l'année 1980, leur consommation dans les pays en voie de développement a dépassé celle des pays développés et représente maintenant 61% de la consommation mondiale; elles sont les principaux aliments de base dans ces contrées ou dans les régions moins développées économiquement (**FAO, 2014; Merabti, 2015**).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (**Djermoun, 2009**).

La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile du pays, la superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3.5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparaît donc comme une spéculation dominante (**Djermoun , 2009**).

La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg /ha/an (**Chehat, 2007**). Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (**Djermoun, 2009**).

Les variétés de céréales les plus consommées dans le monde sont : le blé dur (*Triticum sativum*), le maïs (*Zea mays*), le riz (*Oryza sativa*), le seigle (*Secale cereale*), l'orge (*Hordeum vulgare*), l'avoine (*Avena sativa*), le sorgho (*Sorghum bicolor*), le millet (*Pennisetum glaucum*), et le teff (*Eragrostis tef*) (**Merabti, 2015**).

Cependant, les céréales sont naturellement contaminées par des organismes eucaryotes (moisissures et levures) et procaryotes (bactéries) (**Ennadir et al., 2014**).

Un des critères importants de la qualité sanitaire des céréales est la contamination en mycotoxines. La présence de moisissures et de toxines dans les aliments est devenue un sujet de préoccupation pour les professionnels de la santé, ainsi que pour le commerce mondial (**Nguyen minh tri**).

## 1. Introduction

---

Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé et d'autres parts liés à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels, pour ces raisons. Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels.

Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés antimicrobiennes à mettre en valeur.

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Elmansouri, 2013**).

*Calycotome spinosa*, la plante de notre étude, est l'une des plantes négligées en Algérie, malgré elle est riche en substances bioactives.

Dans ce contexte et dans l'optique de recherche des extraits, ou des nouveaux composés bioactifs qui peuvent trouver des applications dans le domaine agroalimentaire et pharmaceutique, notre étude se propose sur :

- Isolement, purification et identification des moisissures à partir des feuilles et des racines de trois variétés des céréales : blé dur, blé tendre et orge ;
- Evaluation *in vitro* de deux activités biologiques dont la capacité antibactérienne et l'activité antifongique des extraits hydrométhanolique et méthanolique des racines de *Calycotome spinosa* sur certaines moisissures isolées.

Cette approche permet de sélectionner des extraits potentiellement actifs et d'augmenter significativement les chances de découvrir de nouveaux principes actifs.

# **Revue bibliographique**

## 2. Revue bibliographique

### 2. Revue bibliographique

#### 2.1. Les céréales

Les céréales sont des graines alimentaires appartenant à 10 espèces végétales, les 3 les plus employées actuellement : blé, riz et maïs ; à cela s'ajoute l'orge, le seigle, avoine, le sorgho, le méteil (mélange de blé et de seigle), triticales (hybride de blé et de seigle) (Bouasla, 2007).

Les céréales jouent un rôle dans l'agriculture nationale puisqu'elle occupe plus de 90% des terres cultivées.

En Algérie du fait des habitudes alimentaires, les céréales d'hivers constituent la base de l'alimentation quotidienne ainsi que l'alimentation du cheptel. La consommation augmente rapidement, principalement du fait de la croissance du nombre de consommateurs qui a doublé en vingt ans (Selmi, 2000).

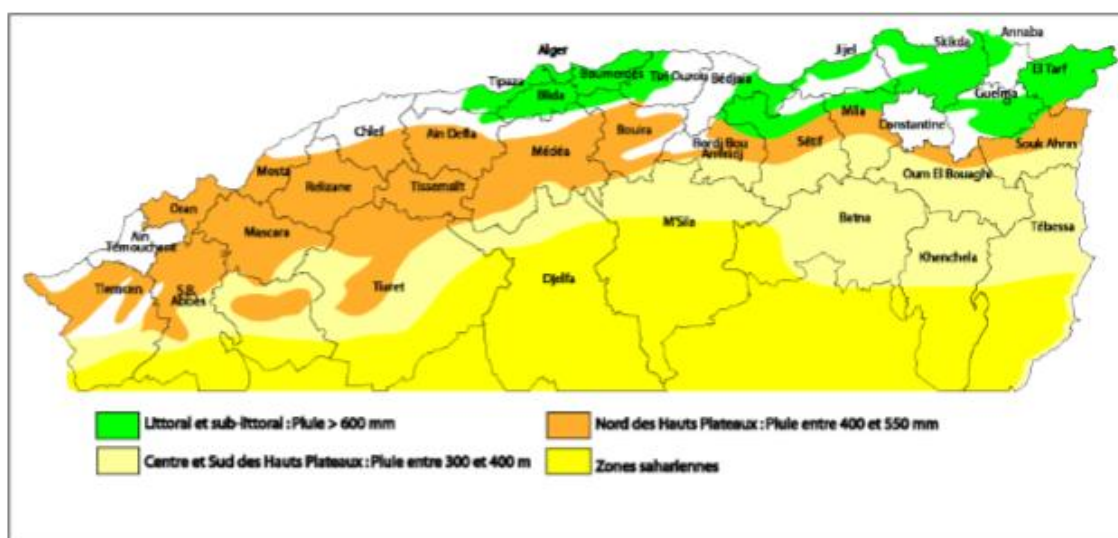


Fig.1 Zones de cultures dans l'Algérie (Ait kaki, 2007)

#### 2.1.1. Production céréalière en Algérie

La production céréalière en Algérie est fortement dépendante des conditions climatiques. Cela se traduit d'une année à l'autre par des variations importantes de la SAU, de la production et du rendement. Ainsi, le manque de précipitations, mais aussi la mauvaise répartition des pluies pendant l'année expliquent en grande partie la forte variation de la production céréalière (Djermoun, 2009).

## 2. Revue bibliographique

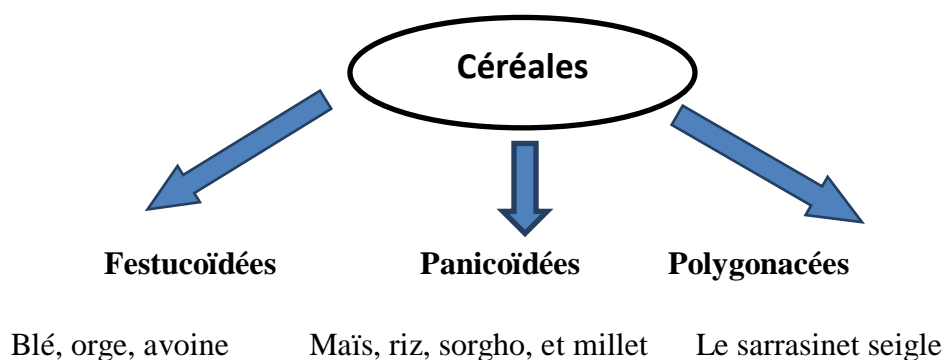
---

D'après (Chehat, 2007) de 1995 à 2005, le marché Algérien a absorbé, en moyenne annuelle, 4244903 tonnes de blés dont 70,44% de blé dur, soit 2990265 tonnes représentant une valeur de 858 millions de dollars, dont 60,36% de blé dur, soit 578 millions (Djermoun, 2009).

- ✓ La production des céréales occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, la superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3.5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparaît donc comme une spéculation dominante.
- ✓ Spéculation pratiquée par la majorité des exploitations (60% de l'effectif global (RGA, 2001), associé à la jachère dans la majorité des exploitations.
- ✓ Spéculation présente dans tous les étages bioclimatiques, y compris dans les zones sahariennes.
- ✓ En matière d'emploi, plus de 500 000 emplois permanents et saisonniers sont procurés par le système céréalier (ministère de l'Agriculture) (Djermoun, 2009).

### 2.1.2. Classification des céréales

Les céréales se divisent en trois sous-familles :



### 2.1.3. Importance des céréales

- **Importance alimentaire**

Ils apportent l'essentiel de l'énergie de 60% et 80% des protéines. Un grain de céréales contient environ 10-15% d'eau, 70-76% de glucides (amidon), 8-14% de protéines et 2-4% de lipides. Parmi les vitamines, toutes les céréales ont des caractéristiques similaires : absence de vit A, C et D (trace), présence des vitamines de groupes B, B1, B2 et B6, E et PP. Les oligo-aliments, les céréales de même composition ont une teneur élevée en K, P, Mg, S, et Ca, une teneur faible en Na, Fe, Zn, Cu et Mn sont déficientes en iode. Les protéines des céréales sont déficientes en un acide aminé essentiel : la lysine, cette pauvreté relative



## 2. Revue bibliographique

---

entraîne une mauvaise qualité biologique de ces protéines et donc une efficacité protéique faible (**Bouasla, 2007**).

- **Importance économique**

D'après la statistique mondiale, les céréales étaient cultivées en 1968 sur 710 millions d'hectares et la production. Par rapport à 1934-1938, les superficies étaient en accroissement de 30 mais la production avait augmenté globalement de 86 %, traduisant l'effort considérable développé par de nombreux pays pour l'accroissement des rendements.

Les principales régions productrices de céréales du globe, sont par ordre décroissant :

- Asie, 2,6 milliards de quintaux (riz principalement);
- Amérique du Nord et centrale, 2,5 milliards de quintaux (maïs et blé surtout);
- Europe, 1,9 milliard de quintaux (blé, orge, maïs);
- U.R.S.S., 1,6 milliard de quintaux (blé surtout)(**Desaynard, 1966**).

### 2.1.4. Céréales plus dominants dans le monde

Le blé dur, le blé tendre et l'orge sont parmi les céréales les plus dominantes dans le monde ;

#### 2.1.4.1. Blé dur

- **Origine du blé dur**

Les principales régions productrices de blé dur dans le monde, sont le Moyen- Orient, l'Amérique du Sud (Argentine) et l'Amérique du Nord (près de 2 millions d'hectares et près de 3 400 000 t en 1969 dont 1 400 000 ha et 2 600 000 t aux USA.

En Europe les deux principaux producteurs sont l'Italie et la France (**Blanchard, 1960**).

- **Origine génétique du blé dur**

**Riley et Chapman (1957)** ont démontré l'origine hybride des *Triticum* tétraploïdes. Ces espèces sont des amphidiploïdes entre un *Triticum* diploïde (*Tr. beoticum* ou *Tr.monococcum*) apportant le génome A et *Ægilops* speltoïdes apportant le génome B. Une telle hybridation aurait donné naissance au *Tr. dicoccotdes* qui se serait ensuite diversifié en *Tr. dicoccum* et *Tr. Durum*(**Blanchard, 1960**).

## 2. Revue bibliographique

---

- **Diffusion du blé dur**

La diffusion du blé dur vers l'Afrique par la route la plus ancienne gagna l'Égypte vers – 6 000 avant aujourd'hui et se poursuivit vers le Soudan et l'Éthiopie, au sud, et vers la Libye à l'est. D'autres voies d'introduction furent maritimes : à partir de la Grèce et de la Crète, certains blés rejoignirent également la Libye ; d'autres, en provenance du Sud de la péninsule italienne et de la Sicile, parvinrent aux côtes de la Tunisie, du Maroc et de l'Algérie (**Bonjean, 2001**).

- **Caractéristiques technologiques du blé dur**

- c) **Résistance au mitadinage**

Les variétés de blé dur présentent des niveaux très différents de comportement à l'égard du mitadinage. Les variétés résistantes ou peu sensibles proviennent toutes du bassin méditerranéen occidental, où le climat est favorable au mitadinage, et appartiennent à la sous espèce *T. durum* méditerranéenne; (ex.: Oued Zenati, `Bidi 17'). Par contre, les variétés les plus sensibles sont d'origine russe et américaine; d'une façon générale, elles sont issues de régions à climat continental, où le mitadinage est rare.

La grande résistance au mitadinage serait due, selon **Grignac(1970)** à la combinaison de plusieurs caractéristiques variétales :

- ✓ aptitude à produire un grain riche en protéines;
- ✓ tendance à accumuler rapidement de l'azote au cours des premières phases de développement du grain, (phase du palier hydrique notamment);
- ✓ aptitude à élaborer un gluten élastique et tenace (**Dionigt, 1962**).

- d) **Aptitude à donner des pâtes jaunes et claires**

En France, le développement de la culture des variétés américaines, `Lakota', `Wells' est dû principalement à leur supériorité concernant la couleur des pâtes. Les principaux facteurs déterminant la couleur des pâtes sont la teneur en pigments caroténoïdes de la semoule, et l'activité des lipoxydases détruisant ces pigments au cours de la fabrication de la pâte. Par rapport à l'effet variété, les conditions de culture ont relativement peu d'influence sur ces caractéristiques. Aucune variété n'associe, malheureusement, pour l'instant, résistance au mitadinage et bonne aptitude à la coloration des pâtes : il existe, en effet, une liaison très étroite et négative entre tenacité du gluten et indice de coloration jaune; seuls les caractères « grain riche en protéines peu tenaces » et « indices de couleur » peuvent être réunis sur une même variété(**Dionigt, 1962**).

## 2. Revue bibliographique

- **Objectif d'amélioration**

Les objectifs d'amélioration des variétés intéressent :

- La résistance à la verse, dont l'élévation du niveau permettrait d'accroître la fumure azotée, et donc de mieux lutter contre le mitadinage;
- La capacité de tallage;
- La résistance aux parasites (fusarioses, rouille jaune) et à l'humidité;
- La qualité technologique : résistance au mitadinage, coloration des pâtes **Dionigt, (1970).**

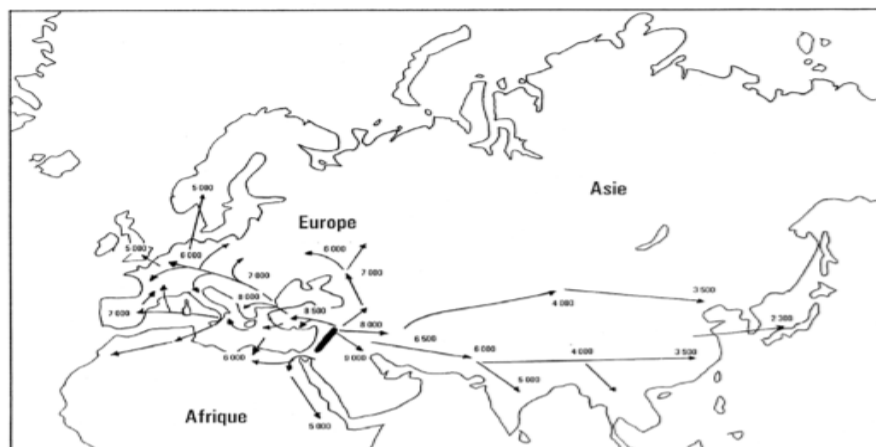
### 2.1.4.2. Blé tendre

- **Origine du blé tendre**

Espèce hexaploïde, revient à évoquer l'ensemble des blés historiquement cultivés, diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes, et à identifier leurs ascendants sauvages ainsi que leurs sites de domestication (**Bonjean, 2001**).

- **Diffusion du blé tendre**

Diverses découvertes archéologiques ont permis d'établir une carte assez détaillée incluant diverses étapes de l'expansion de la culture des blés à partir du Croissant fertile au cours du huitième et septième millénaires avant l'an 2000 (**Bonjean, 2001**).



**Fig.2** Carte de la diffusion de la culture du blé tendre (**Bonjean, 2001**).

- **Caractéristiques technologiques du blé tendre**

Le blé tendre est utilisé en France à des fins diverses : blés fourragers pour l'alimentation animale, blés pour la panification et la biscuiterie et, depuis 1993, blé pour la fabrication de carburant (blé « éthanol »). Ces utilisations diffèrent par les qualités technologiques

## 2. Revue bibliographique

---

requis, liées entre autres à la teneur en protéines et à la nature de ces dernières (**Ponchet et Coppenet, 1960**).

- **Amélioration des techniques de culture**

Sous l'impulsion des différents Plans, d'importants progrès techniques ont été réalisés dans tous les domaines de la culture du blé :

- ✓ Fertilisation, tout particulièrement fertilisation azotée.
- ✓ Variétés : entrent successivement en culture, en 1946: 'Cappelle', en 1950 : 'Étoile de Choisy', en 1959 : 'Champlein'.
- ✓ Désherbage : généralisation de l'emploi de désherbants chimiques (colorants nitrés, phytohormones).
- ✓ Récolte : généralisation de la moissonneuse-batteuse (**Ponchet et Coppenet, 1960**).

### 2.1.4.3. Orge

- **Orge dans le monde**

De toutes les céréales, l'orge est celle dont l'aire de culture est la plus étendue : elle va du nord de la Suède au Moyen-Orient et à l'Égypte, du niveau de la mer à 4 000 m dans l'Himalaya : c'est donc une espèce très rustique.

La culture est en nette progression, tant en ce qui concerne les superficies que les rendements. En 1970 la production mondiale d'orge est peu inférieure à la moitié de celle du blé tendre(**Bergal.et Friedberg, (1940)**).

- **Origine géographique et génétique**

Les orges cultivées dériveraient toutes d'*Hordeumspontaneum*. *H. agriocrithon* ne serait qu'un hybride récent, subsponnée, dérivant de croisements naturels entre *H. spontaneum* et des orges cultivées à 6 rangs(**Chery, 1960**).

- **Qualités technologiques**

L'orge est généralement cultivée pour son grain :

- ✓ Soit pour l'alimentation du bétail (bovins, porcins, volailles);
- ✓ Soit pour la brasserie. Secondairement l'orge est cultivée pour sa paille (aliment du bétail ou source d'humus).

## 2. Revue bibliographique

---

L'orge peut également être pâturée au stade tallage (orge d'hiver), ou récoltée en vert à l'épiaison, en culture pure ou en association avec une légumineuse (vesce d'hiver ou de printemps) (**Bergal, 1966**).

### 2.2. Les champignons

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important. Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...)(**Tabuc, 2009**).

Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leur développement) et ubiquistes. Une caractéristique majeure des champignons est leur mode de reproduction ; ils produisent un grand nombre de spores, ce qui leur assure un pouvoir de contamination considérable. Les spores sont issues de plusieurs modalités de reproduction sexuée ou asexuée qui représentent le principal critère de leur classification (**Tabuc, 2009**).les deux classes des champignons sont ; levures et moisissures :

#### 2.2.1. Levures

Le mot levure, selon **Phaff et al. (1968)**, provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever (**Oteng-Gyang, 1984**).

Les levures sont des eucaryotes chimio-hétérotrophe, c'est-à-dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimique tels que les sucres **Guiraud, 1996**).

Les levures présentent un grand nombre d'applications industrielles par rapport aux procaryotes et possèdent un capital génétique qui subit peu de mutations (**Larpen, 1990**).

#### 2.2.2. Moisissures

##### 2.2.2.1. Généralités

Ce sont des organismes eucaryotes, thallophytes car l'appareil végétatif est un thalle constitué par des filaments mycéliens à croissance apicale, dans toutes les directions à la même vitesse. Dépourvues de pigments assimilateurs, les moisissures sont des

## 2. Revue bibliographique

---

microorganismes hétérotrophes dépendants d'une source de carbone organique. Globalement peu exigeants sur les conditions environnementales du substrat, ces champignons peuvent contaminer les milieux les plus divers comme : les céréales, les produits d'origine animale (lait, viande) mais aussi le papier, les tissus, les matières organiques en décomposition, où elles trouvent une source de carbone et d'azote accessible (**Tabuc, 2009**).

### 2.2.2.2. Maladies fongiques des céréales


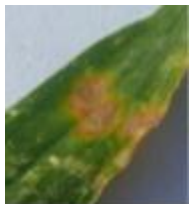


Les céréales peuvent être attaquées par de multiples maladies durant leur cycle de développement, et subir des pertes de rendement importantes, surtout lorsque la variété utilisée est sensible et que les conditions de l'environnement sont favorables au développement des agents pathogènes et particulièrement les agents cryptogamiques qui causent des dégâts importants (**Aouali et Douici-Khalfi, 2013**).

Ces maladies peuvent être contrôlées efficacement lorsqu'elles sont détectées à temps. Les symptômes induits sont pour la plupart spécifiques, donc il est important de les reconnaître pour pouvoir identifier les différentes maladies qui peuvent apparaître sur les cultures de céréales ainsi que leurs conditions de développement afin de raisonner une lutte efficace. Les maladies des céréales peuvent être regroupées selon le symptôme qu'elles induisent et les parties qu'elles affectent (**Aouali et Douici-Khalfi, 2013**).

La faiblesse de la production céréalière et particulièrement celle des blés est due à plusieurs facteurs dont les plus importants sont: les pratiques culturales, les aléas climatiques et les variétés anciennes à faible rendement (**Bendif, 1994**), et aussi les maladies cryptogamiques.

## 2. Revue bibliographique

**Tab.1** Quelques maladies mycologiques des céréales (Nasraoui, 2008)

Maladie	Agent pathogène	Organe cible	Symptômes	
Fusariose	<i>Fusarium graminearum</i> Et <i>F. Culmorum</i>	Epi	Les épillets échaudés sont roses orangés par groupe, pouvant aller de quelques grains à l'épi complet selon l'intensité de la maladie	
Septoriose	<i>Mycosphaerella graminicola</i>	Organes supérieurs de la céréale	Présence de petits points noirs (pycnides) à l'intérieur des taches brunes	
Rouilles des céréales	<i>Pyrenophora teres</i> , <i>P. striiformis</i> , <i>P. hordei</i> .	Feuilles	Des pustules brunes ou orangées sur la face supérieure des feuilles	
Helminthosporiose	<i>Pyrenophora teres</i>	Du bas vers le haut de la plante	Taches brun roux entourées d'un halo jaune	

### 2.2.2.3. Métabolites secondaires des moisissures (Mycotoxines)

Par ailleurs, dans des conditions propices de température, humidité, pH, composition de substrat, les moisissures peuvent synthétiser des métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines. Parmi la centaine de mycotoxines identifiées à l'heure actuelle, une trentaine sont véritablement importantes pour la santé humaine et animale à cause de leur fréquence ou de leur toxicité (Bennett et Klich, 2003).

Les toxines majeures sont produites par des souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Afssa, 2006).

## 2. Revue bibliographique

**Tab.2** Principales mycotoxines et espèces fongiques productrices (Afssa, 2006).

<b>Mycotoxines</b>	<b>Principales moisissures productrices</b>
Aflatoxines B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
Ochratoxine A	<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i>
Patuline	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Byssochlamys nivea</i>
Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
Trichothécènes (DON)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F.</i> <i>crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F.</i> <i>tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
Zéaralène	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F.</i> <i>crookwellense</i> .
Alcaloïdes d'ergot (dit ergot du seigle)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>
Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
Toxines d'Alternaria (alternariol, alternariol méthyl éther...)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camemberti</i>
Stérigmatocystine	<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i>
Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
Stachybotryotoxines	<i>Strachybotrys chartarum</i>
Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B)	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i>
Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
Toxines trémorgènes	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P.</i> <i>puberrelum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>



## 2. Revue bibliographique

---

### 2.3. L'ordre de Fabales

L'ordre des Fabales renferme 4 familles et environ 19 000 espèces. Les familles principales sont les Fabaceae, les Polygalaceae, les Surianaceae (**Boutaghane, 2013**).

#### 2.3.1. Les Fabaceae

##### 2.3.1.1. Généralités

Les Fabacées représentent une grande famille constituée des plantes ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) avec quelques arbustes qui regroupe environ 12000 espèces réparties en 400 à 500 genres. Cette famille se divise en plusieurs tribus dans lesquelles les genres sont groupés selon le port de la plante, la forme des feuilles et le degré de fusion des étamines (**Muanda, 2010**).

##### 2.3.1.2. Origine du nom

La famille des Fabacées (de faba, la fève) doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où le nom de légumineuse sous lequel cette famille est plus connue. La gousse est un follicule déhiscent qui s'ouvre par deux fentes longitudinales en deux valves portant chacune une rangée de graines exalbuminées (**Muanda, 2010**).

##### 2.3.1.3. Caractères botaniques

La famille de Fabacée possèdent plusieurs caractères botaniques en commun, notamment les feuilles sont généralement alternées, pennées ou trifoliolées et stipulées, les racines sont généralement pivotantes et laissent apparaître des nodosités à rhizobium qui se forment si le sol est pauvre en azote (**Muanda, 2010**). Les fleurs sont généralement hermaphrodites, actinomorphes à zygomorphes, à hypanthium court, généralement cupuliforme. Les sépales sont généralement au nombre de 5, libres ou soudés, valvaires ou imbriqués, tous semblables, ou le pétale postérieur différent par la forme, la taille et la couleur, disposé intérieurement ou extérieurement dans le bouton, les deux pétales inférieurs étant souvent soudés ou adhérents et formant une carène, ou largement étalés. Les étamines sont parfois nombreuses, mais généralement au nombre de 10, abritées dans le périgone ou longuement exsertes, parfois bien évidentes. Les grains de pollen sont tricolporés, tricolpés, ou tripores, généralement en monades, mais parfois en tétrades ou en polyades. Le carpelle est souvent unique, libre, généralement allongé, au sommet d'un court gynophore (**Boutaghane, 2013**).

## 2. Revue bibliographique

---

Au niveau de l'appareil de reproduction, toutes les Fabacées possèdent un seul carpelle et un unique ovaire. Celui-ci est surmonté d'un style et d'un stigmate (Muanda, 2010). Dans de nombreux cas, elles sont constituées d'alcaloïdes, parfois de composés cyanogénétiques (Boutaghane, 2013).

### 2.3.1.4. Classification

Trois sous-groupes sont généralement reconnus à l'intérieur des Fabaceae : Caesalpinioideae, Mimosoideae et Faboideae (Papilionoideae), d'autres font de ces trois groupes des familles Caesalpinaceae, Mimosaceae et Fabaceae (Muanda, 2010).

Les Faboideae sont cosmopolites, alors que les Mimosoideae et les Caesalpinioideae sont plutôt tropicales. Dans la plupart des classifications (tableau 1), ces groupes sont considérés comme des sous familles, mais ils sont parfois traités en familles indépendantes. Le terme Fabaceae soit actuellement préféré dans la nouvelle classification systématique de l'Angiosperm Phylogeny Groupe (APG), le terme Leguminosae est encore couramment utilisé par certaines catégories de scientifiques (spécialistes des légumineuses). Ces deux termes sont considérés comme des synonymes par l'International Code of Botanical Nomenclature (ICBN) (Mekkiou, 2005).

### 2.3.2. La sous famille des Papilionacées ou Fabacées

#### 2.3.2.1. Généralités

C'est une sous famille exceptionnellement homogène, très reconnaissable à l'aspect de ces feuilles alternes, stipulées et composées pennées ; à celui de ses fleurs, à corolle dite en papillon d'où son nom papilionacées, les dix étamines sont souvent soudées, et les graines sont dépourvues d'albumen (Mekkiou, 2005). Les Fabaceae étant une famille extrêmement vaste comprend 440 à 500 genres (Boutaghane, 2013).

Traditionnellement, les Papilionoideae ont été caractérisées par des traits qui sont considérés maintenant comme des synapomorphies 5 de la sous-famille. Ces caractéristiques incluent la présence de bois avec un parenchyme prédominant axial paratrachéal qui est assez rare, des vaisseaux avec des trous alternés et de simples perforations plates, l'absence de feuilles bipennées (Boutaghane, 2013).

Elle est subdivisée en nombreuses tribus d'après la nature de l'androcée, les caractères des gousses, des feuilles, etc. Ces tribus sont à leur tour subdivisées en plusieurs genres (Mekkiou, 2005).

## 2. Revue bibliographique

---

### 2.3.2.2. Intérêts économiques et thérapeutique des Papilionoideae

L'intérêt agronomique des Fabaceae provient en premier lieu de leur aptitude à s'associer à des bactéries du sol (Rhizobiaceae), spécialement la bactérie *Rhizobium leguminosafum*, pour former des organes symbiotiques racinaires «nodules » au sein desquels ces bactériestransforment l'azote atmosphérique en une forme assimilable par la plante, grâce à quoi, les fabacées peuvent produire en abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azotée. Pour cela, elles sont dites plantes améliorantes. (Boutaghane, 2013).

L'intérêt alimentaire découle du fait que les Fabacées constituent une source très importante de protéines et lipides et rentrent dans l'alimentation humaine et animale:

- Protéagineux tels que le Pois (*Pisum*), la Féverole (*Faba*), le Haricot (*Phoscolus*), le Poischiche (Cicer) et les Lentilles (*Ervum*).
- Oléo protéagineux comme le Soja (Soja) et l'Arachide (*Arachis*).
- Fourrages tels que les Luzernes (*Medicago*), le Sainfoin (*Onobrychis*) et le Trèfle (*Trifolium*) (Mekkiou, 2005).

D'autres espèces produisent des substances colorantes, et d'autres sont utilisées en parfumerie comme *Pterocarpussantallinus* (Mekkiou, 2005).

L'intérêt pharmaceutique des fabacées est à son tour très important vu le nombre élevé d'espèces figurant dans les pharmacopées et donnant de nombreux produits utilisables en thérapeutique (Mekkiou, 2005). Actuellement, plusieurs molécules très utilisées en thérapeutique sont extraites de diverses espèces de Faboideae : la spartéine, un alcaloïde ganglioplégique utilisé en cardiologie et en obstétrique, isolée de *Cytisusscoparius*L. Link, la rutine, un flavonoïde utilisé en phlébologie, isolée de *Sophora japonica* L. ou encore la physostigmine issue de *Physostigma venenosum*Balf. Cette dernière est un inhibiteur réversible des cholinestérases, utilisée comme antidote de l'intoxication par les parasympatholytiques et testée dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Elle n'est pas utilisée dans cette dernière indication, mais a permis la préparation d'analogues synthétiques potentiellement très prometteurs (Boutaghane,2013).

### 2.3.3. Le genre *Calycotome*

#### 2.3.3.1. Origine du nom

*Calicotome*, du grec calyx et temno qui signifient calice et je coupe, fait allusion au calice qui se rompt circulairement et paraît coupé après la floraison(Aït Youssef, 2006).

## 2. Revue bibliographique

---

### 2.3.3.2. Caractères généraux du genre *Calycotome*

*Le Calicotome* est un arbuste très épineux pouvant atteindre jusqu'à 2 m de haut. Les fleurs sont de couleur jaune d'or, isolées ou groupées par deux à quatre. Les feuilles sont composées de trois folioles.

Calice ovoïde, couronné par 5 petites dents, complètement clos dans le bourgeon et se rompant circulairement par le milieu au moment de la floraison; étendard dressé, carène recourbée; style arqué; gousse comprimée, à suture ventrale élargie et étroitement ailée de chaque côté, à graines non caronculées.

Cultivée comme plante ornementale, les abeilles récoltent un nectar très sucré, peu abondant à la base des tubes d'étamines. Il préfère les matorrals siliceux (**Damerdji et Djeddid, 2012**).

### 2.3.3.3. Espèce *Calycotomespinosa*

Arbrisseau de 2 à 4 mètres, dressé, à rameaux épineux, divariqués, fortement striés, glabrescents ; feuilles noircissant par la dessiccation, 5 folioles subsessiles, obovales, obtuses, glabres en dessus, à poils appliqués en dessous , stipules très petites ,fleurs solitaires ou fasciculées par 2-4, pédicelles 2-3 fois plus longs que le calice, portant au sommet une bractée bi trifide ordinairement plus longue que large , carène aiguë, gousse de 30-40 mm . Sur 6-8, glabre, luisante et noire à la maturité, à suture supérieure seule un peu ailée, à bord droit, 3-8 graines (**Aït Youssef, 2006**).

*C.spinosapousse* dans les lieux arides, surtout siliceux, du Midi : Provence, Languedoc,Roussillon; Corse. Sardaigne, Italie Sicile, Baléares, Espagne et Portugal et Algérie.



**Fig. 3** *Calycotomespinosa* (**Damerdji et Djeddid, 2012**).

## 2. Revue bibliographique

---

- **Classification de l'espèce *Calycotomespinosa***

La position systématique de l'espèce est :

**Embranchement:** Spermaphytes

**Sous Embranchement:** Angiospermes

**Classe:** Eudicotes

**Sous Classe:** Eurosidiées

**Ordre:** Fabales

**Famille:** Fabacées

**Genre:** *Calycotome*

**Espèce:** *Calycotomespinosa* L.(Link) (Damerdji et Djeddid , 2012).

- **Nomenclature**

**Noms latins :** *Calycotum spinosa*

**Noms français :** *Calicotome épineux* (Mebirouk et al., 2014).

**Nom arabe :** Guendoul

- **Morphologie de *Calycotomespinosa***

Parties de la plante	Aspect
Feuille	Feuille légèrement glabre, Feuille à 3 folioles ovales.
Fleur	<b>Couleur de la fleur :</b> Jaune. <b>Disposition de la fleur :</b> Unique fleur. <b>Taille de la fleur :</b> Fleur de 12 à 18 cm de long.
Fruit	<b>Aspect du fruit :</b> Gousse oblongue, étroite et comprimée. <b>Taille du fruit :</b> Fruit de 25 à 40 mm
Plante	<b>Aspect de la plante:</b> Très ramifiés, très épineux. <b>Taille de la plante :</b> Plante jusqu'à 3 m

- **Composition chimique**

*Calycotomespinosa* se caractérise par rapport aux autres espèces par sa teneur en matières azotées totales élevée (33,7%) en formant un groupe homogène à part, la teneur en matière sèche des feuilles arbustes étudiés est comprise entre 28,20% et 63,57% de la matière organique. La teneur en tanins hydrolysables des espèces arbustives est généralement élevée surtout chez *Calycotum spinosa*.

## 2. Revue bibliographique

---

Cette plante est l'espèce la plus riche en composés phénoliques et en tanins totaux avec 119,43 et 83,68 g équivalent acide tannique/kg MS respectivement pour les deux composés (Mebirouk *et al.*, 2014).

- **L'intérêt thérapeutique de *C.spinosa***

En plus de s'avantage de la transformation de l'azote *C.spinosa* a des autres avantages :

- ✓ En Tunisie, les racines de cette plante sont utilisées en décoction contre les rhumatismes.
- ✓ Les feuilles sont également utilisées pour cicatriser les plaies et les blessures.
- ✓ Les fleurs et les feuilles de *Calycotomespinosa* L Link sont riches en flavonoïdes, qui sont utilisées dans le traitement des maladies cardiovasculaires, des cas de cancer, et des ulcères gastroduodénaux (Larit *et al.*, 2012).

### 2.4. Métabolites secondaires

#### 2.4.1. Généralités

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (Muanda, 2010).

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Muanda, 2010).

#### 2.4.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont ; les alcaloïdes, les terpenoïdes les polyphénols.

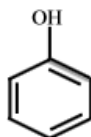
##### 2.4.2.1. Les polyphénols

Sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

Le terme phénol englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Achat, 2014).

## 2. Revue bibliographique

---



Structure du noyau phénol

### 2.4.2.2. Rôle de polyphenols

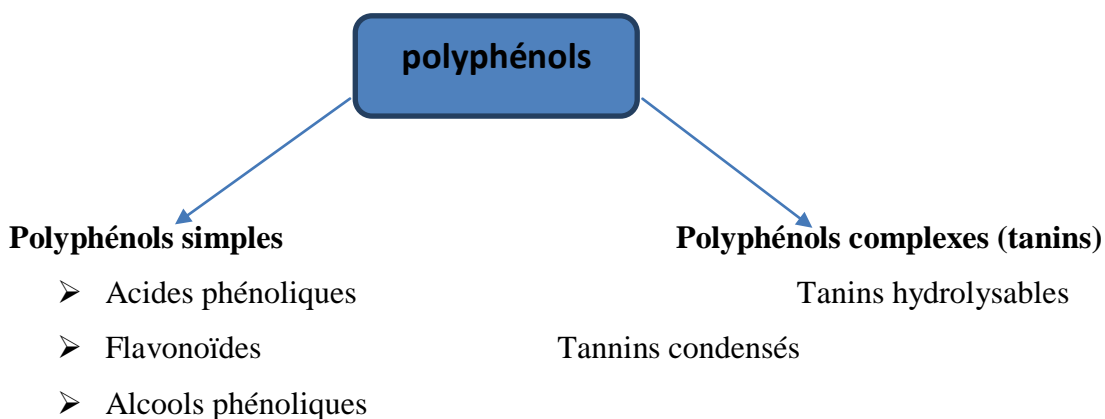
Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème.

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Achat ,2014).

- ❖ Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies d'élaboration :
  - **la voie shikimate** : également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr.
  - **la voie polyacétate** : consiste en la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Achat ,2014).

### 2.4.2.3. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux(Achat ,2014).



## 2. Revue bibliographique

### 2.4.3. Flavonoïdes

L'une des particularités importantes de la famille des fabacées est la production des métabolites secondaires spécifiques appelés isoflavonoïdes impliqués dans la signalisation symbiotique, dans les réactions de défense et présentant un grand intérêt pharmaceutique (Mekkiou, 2005).

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes. Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...) (Achat, 2014).

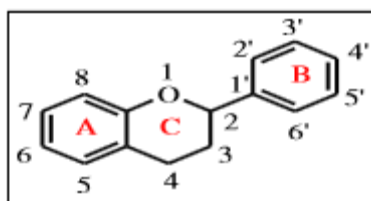


Fig. 4 Squelette de base des flavonoïdes (Achat ,2014)

#### 2.4.3.1. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont divisés aux plusieurs classes, les principales sont résumés dans le schéma suivant :

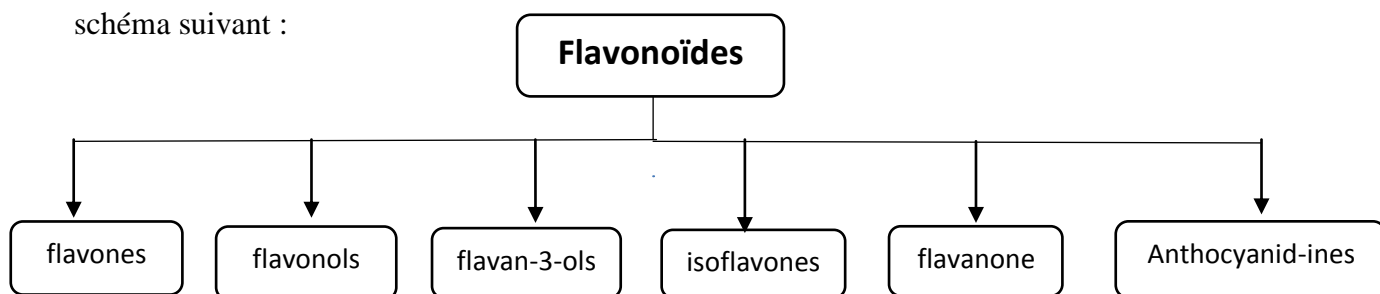


Fig.5 Différentes classes des flavonoïdes

#### 2.4.3.2. Intérêt thérapeutique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont connus par de remarquables activités pharmaco biologiques comme entre autres des effets, antivirales, antimicrobiens et anticancéreux (Narayana et al., 2001).



## 2. Revue bibliographique

---

Le mécanisme d'action antioxydant des flavonoides est variable. La quercétine et la catéchine sont chélateurs de métaux et le kaempférol par exemple est capteur de radicaux (**Madhavi et coll., 1996**). Cependant les flavonoides peuvent avoir des effets prooxydants sur la peroxydation des lipides et sur l'ADN (**Laughton et coll., 1989; Aouissa, 2001**).

## **Matériel et méthodes**

### 3. Matériel et méthodes

#### 3. Matériel et méthodes

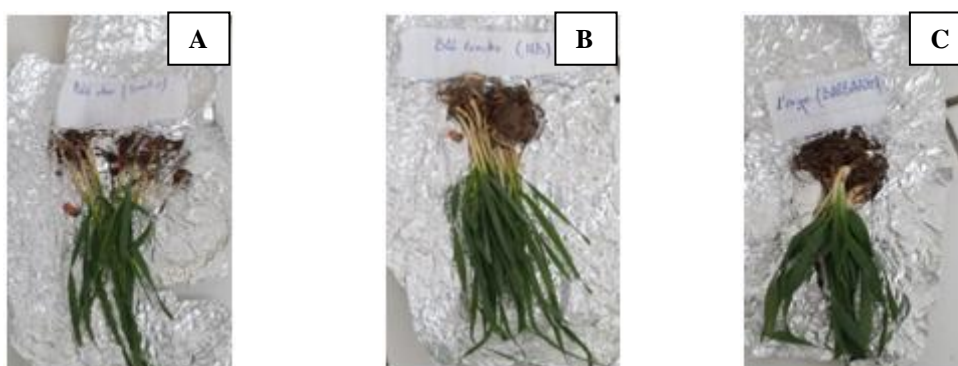
Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de zoologie (FSNV, Université des Frères Mentouri- Constantine1).

#### 3.1. Etude mycologique

##### 3.1.1. Echantillonnage

Le matériel fongique a été obtenu par l'isolement des myco-phytopathogènes à partir du matériel végétal infecté.

Trois variétés des céréales (traitées par antifongique ; EL-ASSIL) ont été utilisées dans notre étude; une de blé dur (Simeto), une de blé tendre (Hidab) et une autre d'orge (Barbarous). Ces variétés en provenance d'Elbaraouia (Elkhroub), wilaya de Constantine-Est de l'Algérie. Les feuilles et les racines de ces variétés ont été récoltées en mois de février 2018 (phase levée).



**Fig.6** Echantillons des céréales; **A:** blé dur, **B:** blé tendre, **C:** orge

##### 3.1.2. Préparation des milieux de culture

Dans le but d'isolement, de purification et d'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique dans notre étude, les milieux de culture suivants ont été préparés :

- Milieu Chapman (Chap)
- Gélose au Cétrimide (GC)
- Gélose Hécktoine (Hck)
- Milieu Sabouraud (Sab)
- Milieu Tryptone-Soja-Agar (TSA)
- Mueller-Hinton (MH)
- Potato Dextrose Agar (PDA)
- Eau physiologique (EPh)
- PDA incliné

### 3. Matériel et méthodes

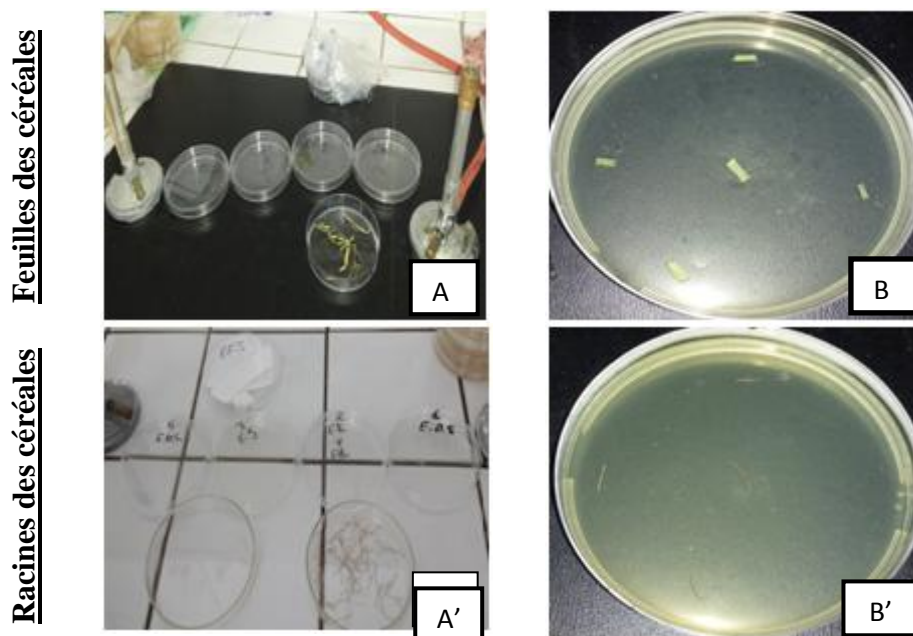
#### 3.1.3. Isolement de la flore fongique

Pour isoler la mycoflore interne et externe des feuilles et des racines de trois variétés des céréales (blé dur, blé tendre et orge), la méthode de **Pacinet *al.*, 2002 ; Ghiasian *al.*, 2004** a été utilisée comme suite:

Les feuilles et les racines de chaque échantillon ont été lavées par un flux d'eau de robinet en surface, découpées en morceaux de 1cm, puis elles ont été désinfectées dans l'éthanol pendant une minute, ensuite dans l'eau de javel 02% pendant 3min, de plus de l'éthanol (30 sec). Après deux rinçage à l'eau distillée stérile, les feuilles et les racines ont été séchées avec un papier filtre stérile pour être, ensuite, ensemencés.

Sous des conditions aseptiques, les morceaux des feuilles et des racines de blé dur, blé tendre et d'orge désinfectés ont été placés directement, à l'aide d'une pince stérile, dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA contient plus de 30mg d'antibiotique à raison de cinq segments par boîte (**Fig.7**).

L'ensemble est incubé à l'étuve à 30°C jusqu' à l'apparition des souches fongiques.



**Fig.7** Désinfection et ensemencement des fragments des feuilles et des racines de trois céréales

A et A' : Désinfection ; B et B' : Ensemencement

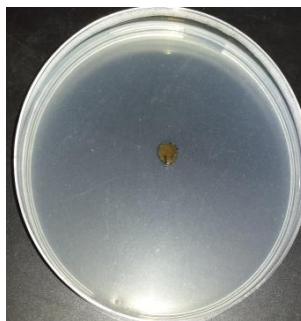
#### 3.1.4. Purification des isolats

Pour obtenir des isolats purs, des observations quotidiennes ont été effectuées dès l'apparition des souches. Chaque isolat développé a été repiqué, à l'aide d'une anse de platine stérile, au centre de boîte de Pétri contenant un milieu PDA plus 30mg

### 3. Matériel et méthodes

---

d'antibiotique, puis incubé à 30°C pendant 6 jours. En cas de contamination par une autre souche fongique, la purification des souches a été effectuée par le repiquage des disques des moisissures au centre de boîte contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention des souches pures (**Guiraud, 2003**).



**Fig.8** Purification des isolats

#### 3.1.5. Identification des isolats

L'identification des moisissures contaminées les feuilles et les racines de blé dur, blé tendre et d'orge a été réalisée par l'observation macroscopique (aspect des colonies) et par l'observation microscopique (aspect du mycélium et des spores).

##### ✓ Etude des caractères cultureux macroscopique

- ❖ Au niveau du mycélium: la couleur et la texture du thalle, la couleur du revers de la colonie, le contour de la colonie et la vitesse de croissance apicale (**Chabasse et al., 2002; Djossou, 2011**).
- ❖ Au niveau des spores : la densité sur le thalle, l'aspect des spores (granuleux, poudreux), l'uniformité de la couleur des spores, la présence de pigment diffusible et les exsudats (**Djossou, 2011**).

##### ✓ Etude des caractères morphologiques microscopiques

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium : hyphes cloisonnés ou non, type et apparence du système sporale, caractéristiques de la spore asexuée (couleur, taille), etc. (**Guiraud, 2003**).

Les isolats ont été examinés au microscope en tant que frottis humides. Pour préparer un frottis humide, une aiguille d'inoculation est utilisée pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les spores (**Zaitlin et al., 2003**). L'échantillon est prélevé sur la bordure de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif. Une goutte de lactophénol est ajoutée à la préparation qui est recouverte

### 3. Matériel et méthodes

---

délicatement d'une lamelle (Nguymen, 2007). En outre, l'utilisation d'un microscope optique a permis la prise en photo du mycélium. Les isolats fongiques ont été identifiés selon le manuel de Botton *et al.* (1990).

#### 3.1.6. Conservation des isolats

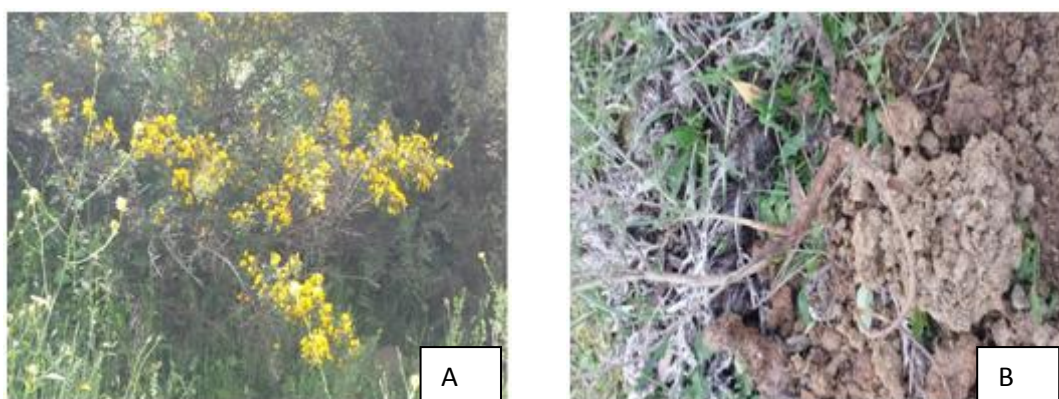
Les souches fongiques purifiées sontensemencées sur milieu gélosé incliné (PDA+30mg d'antibiotique), puis incubées à 30°C jusqu'à sporulation. Ensuite subit une réfrigération à 4°C.

#### 3.2. Etude phytochimique

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des produits naturels issus d'une plante médicinale algérienne. Nous avons voulu apporter par la présente étude notre contribution à une meilleure connaissance relative aux activités biologiques notamment l'activité antifongique d'une espèce végétale spontanée très peu connues jusqu'à présent« *Calycotomespinosa* ».

##### 3.2.1. Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué des racines de la plante *Calycotomespinosa*. La partie souterraine a été récoltée dans la région d'Oued Elhadjer- DidoucheMourad (Constantine-Algérie) au mois de février 2018. La plante a été découpée, séchée à l'abri de la lumière et à une température ambiante pendant une semaine.



**Fig.9** *Calycotomespinosa*(Mai 2018) ; **A:** Partie aérienne, **B:** Partie racinaire.

### 3. Matériel et méthodes

#### 3.2.2. Préparation de la plante

Les racines de *Calycotomespinosa* sèches ont été pulvérisées au broyeur électronique (ENIEM), pour obtenir une poudre fine (Razak et al, 2009).



Fig.10 Racines de la plante *C.spinosa* séchées puis broyées

#### 3.2.3. Extraction des polyphénols

Cette étape consiste à extraire le maximum des substances actives contenues dans la plante en utilisant le méthanol comme solvant organique auquel nous avons ajouté une quantité d'eau pour augmenter la polarité.

##### 3.2.3.1. Préparation des extraits

L'extraction à froid ou macération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à une température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Cette extraction se déroule comme suit :

- **Extrait hydrométhanolique (EHMR)**

Une quantité de 38 g des racines sèches et finement broyées de la plante *C.spinosa* est macérée dans 190 ml méthanol/ eau distillée stérile dans une proportion de (80:20) en volume, pendant 24h (Senhaji et al.,2005). Puis, une agitation a été effectuée. La macération a été répétée trois fois après chaque 24h.

- **Extrait méthanolique (EMR)**

Une deuxième quantité de 40 g de la poudre des racines de la plante *C.spinosa* est macérée chaque 24 heures dans 200 ml de Méthanol (99.7%) sous agitation. Cette opération a été effectuée trois fois.

Les macéras hydrométhanolique et méthanolique ainsi obtenues sont filtrées sur papier filtre (Wattman N°1), puis centrifugées 4000t/min pendant 20min à 25°C, ensuite évaporées à sec sous vide à l'aide d'un rota-vapeur (Heidolph) à 45°C.

Les résidus secs obtenus sont pesés puis repris dans le DMSO 1% pour les tests antibactériens et antifongiques.



### 3. Matériel et méthodes

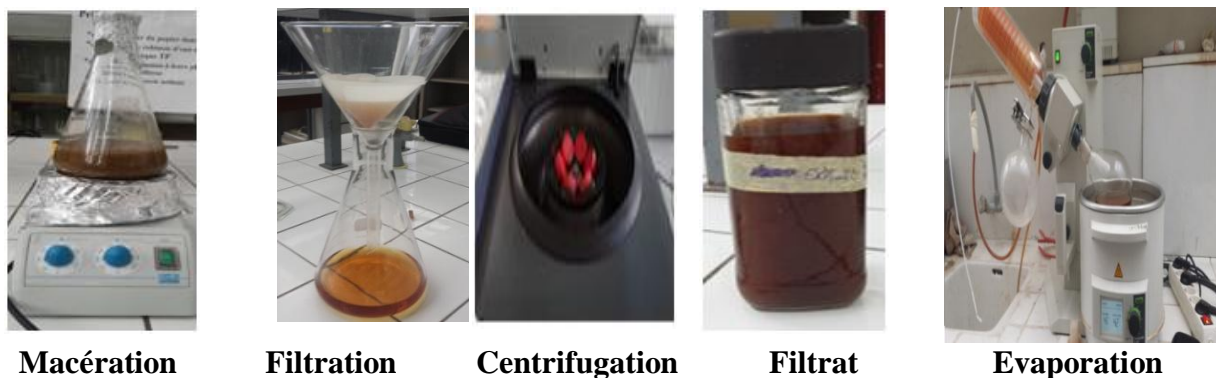


Fig. 11 Différentes étapes de la préparation des extraits

#### 3.2.3.2. Calcul des rendements

Selon **Yahyaoui (2005)**, le rendement (Rd%) est le rapport entre le poids d'extrait brut et le poids du matériel végétal sec utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et il est calculé par la formule suivante:

$$\text{Rd\%} = \text{ME} / \text{MS} \times 100$$

Rd% : Rendement%

ME : Masse de l'extrait en g

MS : Masse du matériel végétal sec en g (**Bekhechi-Benhabib, 2001**).

#### 3.2.4. Activité antimicrobienne des extraits obtenus

Deux activités biologiques des extraits obtenus à partir des racines de *C. spinosa* (hydrométhanolique et méthanolique) ont été faites; antibactérienne et antifongique.

##### 3.2.4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits

Le test d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanolique a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu solide, pour sélectionner les extraits ayant une activité antibactérienne importante vis-à-vis des souches utilisées (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (se sont des Gram-); *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* (Gram+); et la levure *Candida albicans* provenons du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHU).

##### ✓ Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre découpés à partir d'un papier Wattman n°1, stérilisés et imprégnés par 20µl des concentrations de l'extrait hydrométhanolique (400 mg/mL), de



### 3. Matériel et méthodes

---

l'antibiotique (Amoxicilline (BIOPAMOX 20mg/ml)), de l'antifongique (Fluconazol 50mg/ml).

#### ✓ Réactivation des souches microbiennes

A partir des tubes de conservation, les bactéries et la levure à tester ont été réactivées sur des boîtes de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches microbiennes utilisées (*E.coli* et *Klebseilla*[gélose Héctoïne]; *Pseudomonas aerogenosa* [gélose aucetrimide]; *Bacillus subtilis* [TSA]; *Staphylococcus aureus* [Chapman]; *Candida albicans*[Sabouraud]) puis incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 30°C pendant 48h pour la levure, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées.

#### ✓ Test antibactérien

Pour tester l'activité antibactérienne de l'extraits hydrométhanolique obtenu, la technique de diffusion sur milieu solide a été adoptée à partir des disques imprégnés de nos extraits additionné de 1%DMSO (Kholkhal, 2005 ; Aissaoui, 2013). Cette technique permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance bactérienne par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque (Sharififaretal., 2007). Une suspension de chaque bactérie est préparée dans de l'eau physiologique (9‰) stérile et ajustée à 0.5 McFarland ( $1.2 \times 10^7$  cellules /ml) (Daouda, 2015). A l'aide d'un écouvillon stérile bien imbibé de la suspension microbienne ajustée, les surfaces des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre (Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour la levure) ont étéensemencées (Ouibrhim, 2015).

Après séchage de la surface (environ 15 min), les disques préparés ont été déposés délicatement à l'aide d'une pince flambée au Bec Bensen sur la surface d'un milieu préalablement ensemencé par les souches microbiennes. Parallèlement, l'antibiotique, l'antifongique et le DMSO ont été utilisés. Les boîtes gélosées ainsi préparées sont maintenues à 4°C durant 20mn afin de permettre la pré-diffusion des extraits. Ensuite, elles ont été incubées à 37° C pendant 24 heures pour les bactéries et 30°C pendant 48h pour la levure. A la fin de l'incubation, l'activité des extraits a été calculée, en mesurant la zone d'inhibition claire autour des disques (Vinod et al., 2010; Traoré et al., 2012).

### 3. Matériel et méthodes

---

#### 3.2.4.2. Activité antifongique

##### ✓ Réactivation des souches fongiques sélectionnées

Les souches fongiques sélectionnées (six souches pures: *Alternaria* sp., *Alternaria* sp1, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. et *Ulocladium* sp.) ont été réactivées par repiquage des disques des moisissures pures sur le milieu de culture PDA contenant l'antibiotique dont le pH du milieu est ajusté à 6 et l'incubation a été effectuée à 30°C durant 7 jours (Bouaouine *et al.*, 2015).

##### ✓ Evaluation de l'Activité antifongique

###### Méthode 1

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, un écouvillon est trempé dans la suspension fongique, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface de la boîte, de va et vient en stries serrées (Traoré *et al.*, 2012). L'opération est répétée quatre fois en tournant la boîte de 90° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface de milieu PDA. Les disques imprégnés d'extrait, de DMSO (contrôle négatif) et d'antifongique (contrôle positif) sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile après le séchage de la surface des boîtes. Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C jusqu'à l'augmentation de la zone de lyse (Ouibrahim, 2015).

###### Méthode 2

L'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures testées a été déterminée en coupant des disques d'environ 6 mm de diamètre de bord d'une jeune colonie de culture de champignons et placer le disque au centre d'une boîte de Pétri sur PDA contenant 6.66 et 20mg /ml-1 d'extrait hydrométhanolique et 20 mg/ml d'extrait méthanolique préalablement stérilisés à partir de tiges de *C. spinosa* (Bautista-Baños *et al.*, 2002). Les boîtes ont été incubées à une température ambiante et l'expérience s'est terminée lorsque la culture témoin (PDA sans extrait) a complètement colonisé la surface de la gélose. Les résultats ont été exprimés en pourcentage de l'inhibition de la croissance radiale dans les milieux contenant des extraits par rapport au contrôle selon la formule :

$$PI\% = ((A-B)/A) * 100$$

**A** : Le diamètre moyen du mycélium du témoin.

**B** : Le diamètre moyen du mycélium en présence de l'extrait ou du fongicide.

# Résultats

## 4. Résultats

### 4. Résultats

#### 4.1. Analyse mycologique

Une biodiversité fongique assez importante a été observée après avoir effectué une analyse mycologique de nos échantillons du blé tendre, blé dur et de l'orge sur le milieu de culture PDA.

##### 4.1.1. Isolement des souches fongiques

L'isolement a été réalisé à partir de deux échantillons : feuilles et racines des trois céréales.

Il a abouti à divers aspects, textures et couleurs de colonies (**Fig.12**)

41 souches fongiques ont été isolées. En effet, 16 isolats fongiques ont été obtenus à partir des feuilles (un isolat de blé dur, 14 de blé tendre et un isolat d'orge) et 25 à partir des racines (04 isolats de blé dur, 17 de blé tendre et 04 isolats d'orge), les genres obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tab.3** Les différents genres fongiques obtenus à partir des feuilles et des racines désinfectées et non désinfectées des trois échantillons

	Nombre d'isolats	Genre et/ou esp	Pourcentage (%)
Feuilles désinfectées	2	<i>Alternaria sp.1.</i> <i>Alternaria sp.2</i>	4,88%
Feuilles non désinfectées	14	<i>Alternaria sp.3</i> <i>Alternaria sp.1</i> <i>Alternaria sp. 4</i> <i>Alternaria sp.5</i> <i>Alternaria sp.2</i>	34,15%
Racines désinfectées	7	<i>Alternaria sp.3</i>	4,88%
		<i>Alternaria sp.1</i>	7,31%
		<i>Fusarium sp.</i>	4,88%
Racines non désinfectées	18	<i>Penicillium sp.</i>	39,90%
		<i>Alternaria sp.6</i> <i>Alternaria sp.1</i>	2,43%
		<i>Uloclodium sp.</i>	2,43%
Total	41	/	100%

## 4. Résultats

**Tab. 3** montre la présence des souches suivants ; *Alternariasp*, *Fusariumsp*, *Penicillium sp*, *Uloclodiumsp.*, *Clodosporiumsp.* dans les feuilles et les racines désinfectées et non désinfectées avec des intensités variables.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que les deux échantillons de blé dur, blé tendre et de l'orge analysés sont contaminés par les moisissures.

L'utilisation du milieu PDA a permis de révéler 15 souches fongiques dans les deux échantillons de blé (dur et tendre) avec des taux différents. Le genre le plus prédominant est *Alternaria*.

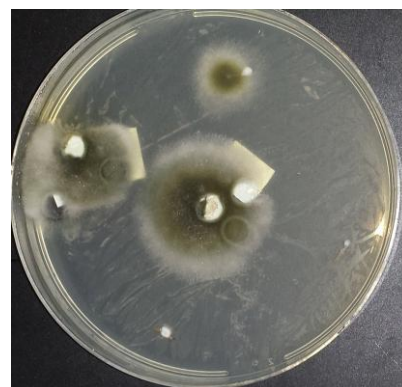
Le pourcentage de contamination par les *Alternariadans* le blé tendre, blé dur et l'orge sont suivants l'ordre: 82.93%, 19.51% et 12.19%.

Selon le tableau n°, le pourcentage dans le blé tendre est le plus important.

Le pourcentage de contamination dans les échantillons de blé et d'orge par les souches *Fusariumsp.*, *Penicillium sp.*, *Uloclodiumsp.* et *Clodosporiumsp.* est de 7,32%, 4,88%, 2,44% et 2,44% respectivement.



A



B

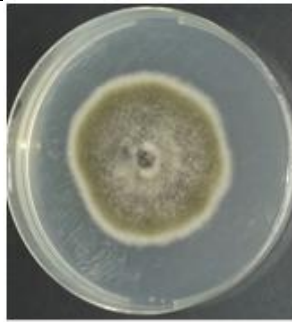

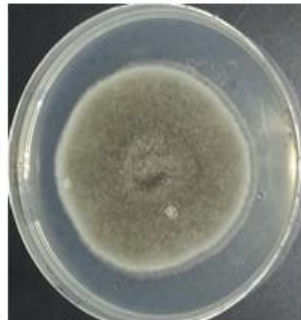
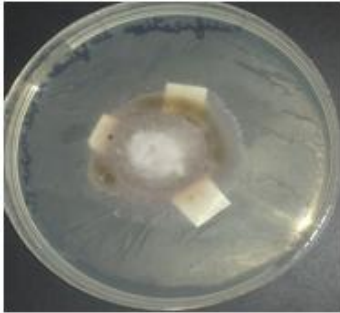
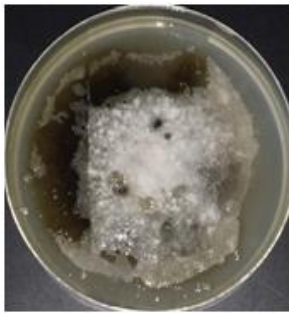
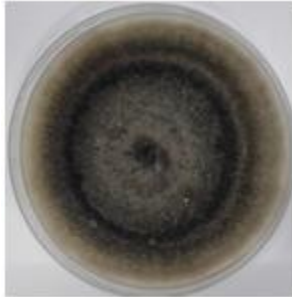
**Fig.12** Isolement à partir des feuilles (A) et des racines (B) de blé tendre après 3 jours d'incubation à 30°C

### 4.1.2. Purification des souches fongiques

La purification à partir des échantillons de blé dur, blé tendre et d'orge a permis d'éclaircir les moisissures et ces compartiments (le mycélium ainsi les spores) isoler, pour obtenir des souches fongiques pures, qui va faciliter après l'identification macroscopique et microscopique (**Tab.4 et Tab.5**).

## 4. Résultats


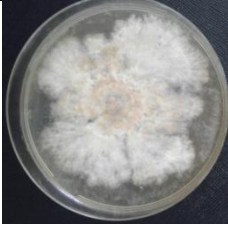


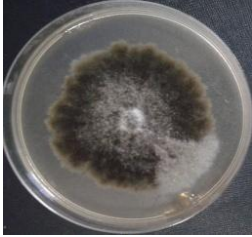
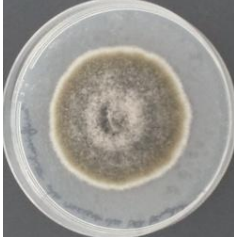

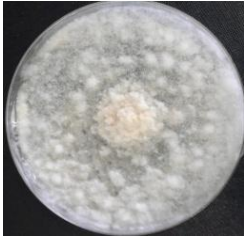

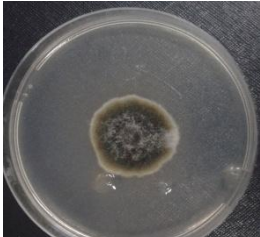
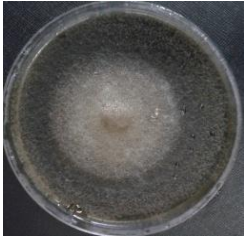




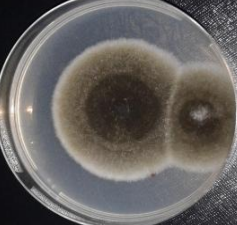

**Tab.4** Aspects macroscopiques des isolats purifiés à partir des feuilles (blé dur, blé tendre et orge)

		Aspect des colonies	
Feuilles	Blé dur		
	Blé tendre		
			
	Orge		



## 4. Résultats

**Tab. 5** Aspects macroscopiques des isolats purifiés à partir des racines (blé dur, blé tendre et orge)

		Aspect des colonies			
Racines	Blé dur				
	Blé tendre				
					
					
Orge					

## 4. Résultats

---

### 4.1.3. Identification des souches fongique isolées

L'identification des genres fongiques a été réalisée essentiellement selon les clefs de détermination de **Botton (1990);Guiraud (1998) ; Leyralet al, (1998)** ainsi que celles de **Chabasseet al. (2002)**.

- **Identification macroscopique**

L'étude macroscopique a été réalisée par l'observation à l'œil nu, des caractères cultureux (Aspect de la colonie, couleur, revers, et la vitesse de la croissance).

- **Identification microscopique**

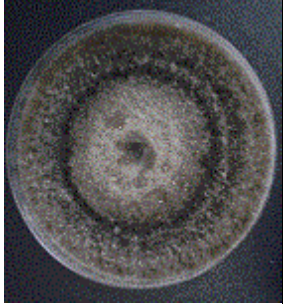
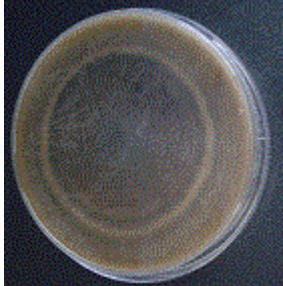

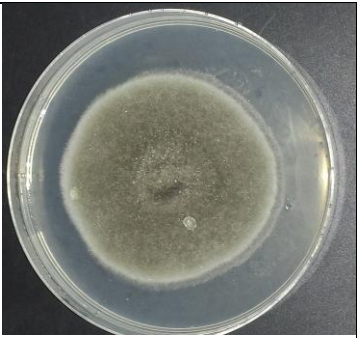
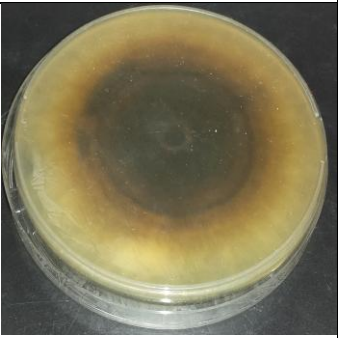

Toutes les moisissures isolées ont été soumises à une identification microscopique réalisée par une observation au grossissement X40 et X100. Cette identification étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture de parois).

Les résultats obtenus, ont été rassemblés dans les tableaux ci-dessous (Tab.6 (A, B, C)).



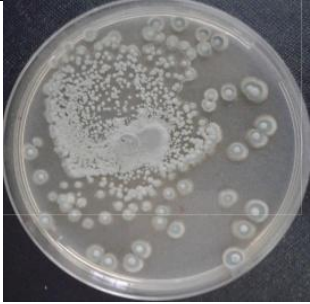

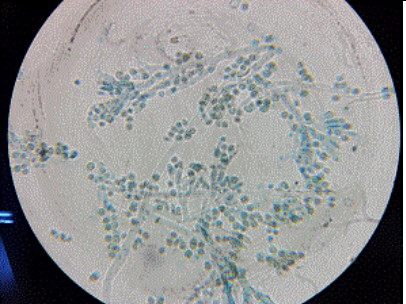

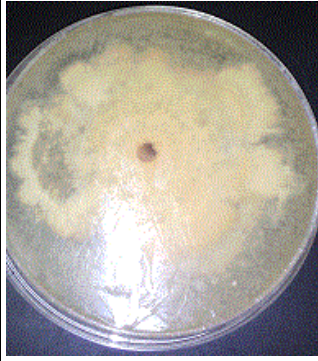
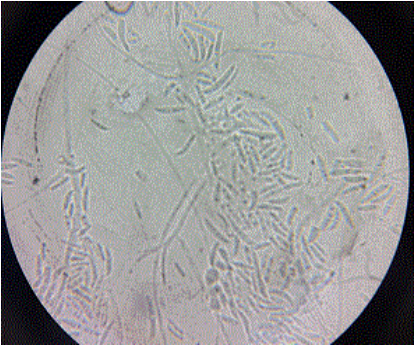
## 4. Résultats

**Tab. 6 (A)** Identification macroscopique et microscopique des souches *Alternaria*

		<b>Aspect macroscopique</b>		<b>Aspect microscopique</b>
		<b>Surface</b>	<b>Revers</b>	<b>Bleu de coton X100</b>
<i>Alternaria sp. 1</i>				
		<p>Recto : colonie blanche, velouté granuleuse marron                      Verso : beige foncé colonie à croissance                      Moyenne</p>		<p>Filaments septés, fin et régulier                      bruns foncé à noirs.</p> <p>Conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières ; souvent en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement.</p>
<i>Alternaria sp. 2</i>				
		<p>Colonie poudreuse à laineuses, vert revers jaune verdâtre.</p>		

## 4. Résultats

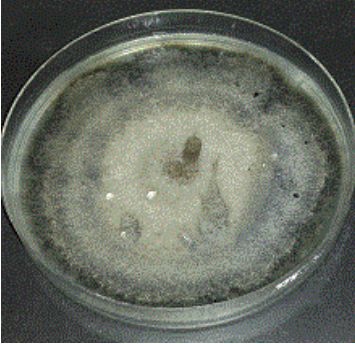
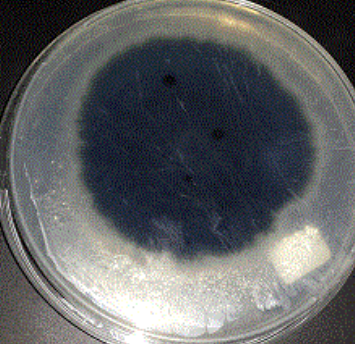



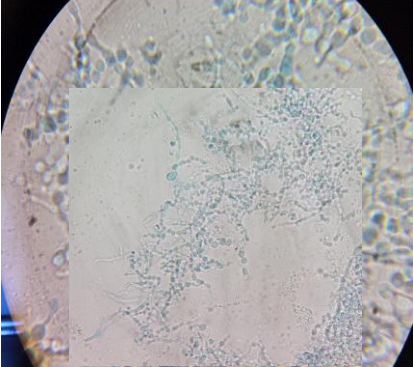
**Tab.6(B)** Identification macroscopique et microscopique des souches *Penicillium* et *Fusarium*

	Aspect macroscopique		Aspect microscopique Bleu de coton X100
	Surface	Revers	
<i>Penicillium sp1</i>			
	<p>pousse doucement sur les milieu PDA, leur croissance est,moyenne avec une colonie poudreuse de couleur verte pistache, le revers est blanc.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>● Mycélium cloisonné ;</li> <li>● Conidiophores isolés, ramifiés terminés par un pénicille;</li> <li>● Penicille constitue de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiophore.</li> </ul>
<i>Fusarium sp</i>			
	<p>Croitre mieux sur milieu PDA Les colonies duveteuses ou cotonneuses, du couleur blanche à crème.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>● Conidiophores courts et souvent ramifiés.</li> <li>● Porte des phialides pour la production des conidies.</li> <li>● Les conidiophores sont simples ou disposés en verticilles ; porte de longues monophialides d'aspect cylindrique.</li> </ul>



#### 4. Résultats

**Tab.6(C)** Identification macroscopique et microscopique des souches *Ulocladium*sp et *Clodosporium*sp

	Aspect macroscopique		Aspect microscopique
	Surface	Revers	Bleu de coton X100
<i>Ulocladium</i> sp			
	<p>Croissance modérément rapide sur milieu PDA, les colonies présentent une texture laineuse, duveteuse à poudreuse; du couleur brun olive à noire le recto est noire</p> <p>Hyphe septés, bruns, naissant de courts conidiophores septés, non ramifiés, fortement géniculés.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Filaments septés, fin et régulier.</li> <li>• Conidies rondes et globuleuses portent plusieurs striations.</li> </ul>
<i>Clodosporium</i> sp			
	<p>pousse doucement sur le milieu PDA, croissance est moyenne avec une colonie poudreuse de couleur verte pistache, le revers est jaune.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conidiophores ramifiés et allongés.</li> <li>• Conidies en chaîne acropétale, septées avec plusieurs sites conidiogènes.</li> </ul>

## 4. Résultats

### 4.2. Rendements d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rd\%} = \text{ME} / \text{MS} \times 100$$

Rd% : Rendement de en %

ME : Masse de l'extrait en g

MS : Masse du matériel végétal sec en g

**Tab.7** Caractéristiques et rendements des extraits des racines de *Calycotomespinosa*

caractéristique	Aspect	couleur	Rendement %
EHMR	Poudre	Marron-rouge brique	6.31%
EMR	hygroscopique	Marron foncées	7.75%

Selon les résultats du Tab.7, on remarque que les deux extraits hydrométhanolique (EHMR) et méthanolique (EMR) sont récupérés sous forme de poudre avec une couleur marron. Les rendements sont variables où l'extrait (EMR) présente le rendement le plus élevé de 7.75%, suivi par l'extrait(EHMR) de 6.31%. De plus ces extraits présentent une bonne solubilité dans le méthanol.

### 4.3. Activité antimicrobienne

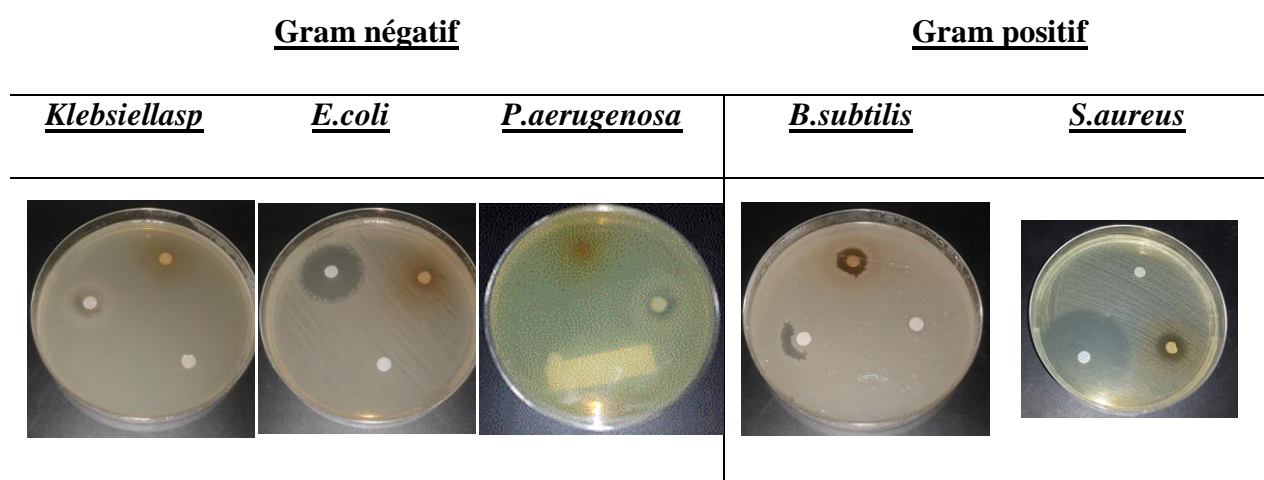
#### 4.3.1. Test antibactérien

Le test antibactérien se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier Wattman imprégné par 20µl d'extrait étudié, de l'antibiotique et du DMSO dans la même boîte.

#### 4. Résultats

**Tab. 8** Zones d'inhibitions de l'extrait hydro-méthanolique, antibiotique et DMSO sur les bactéries testées

		Zone d'inhibition (mm)				
		Gram négatif			Gram positif	
Extrait	[C]mg/disque	<i>Klebsiellasp.</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aerugenosa</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>
HML	24	/	/	/	14	15
ATB	8	/	27	13	/	45
DMSO	20µl	/	/	/	/	/



**Fig.13** Zones d'inhibition du test antibactérien

Les résultats obtenus dans les tableaux et les figures ont révélé que l'extrait (400 mg/ml) a une fonction selon la zone d'inhibition (mm).

L'extrait hydrométhanolique a un effet antibactérien intéressant où le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries Gram + est à l'intervalle de 14 à 15 mm. Donc, la souche test est sensible à l'extrait.

Il s'agit des deux bactéries à Gram + : *B. subtilis* et *S.aureus* respectivement.

On remarque que les trois bactéries Gram (-) ; *Klebsiella*, *E.coli* et *P.aerogenosane* ne présentent aucune sensibilité à l'extrait hydrométhanolique.

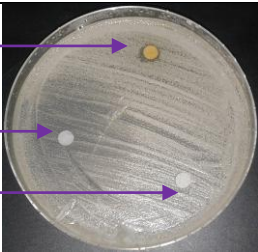
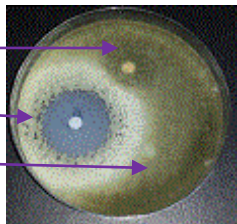
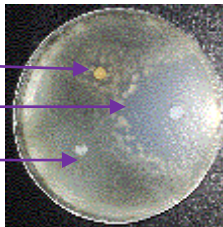
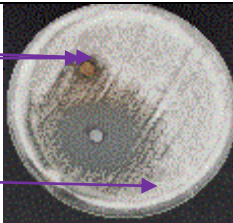
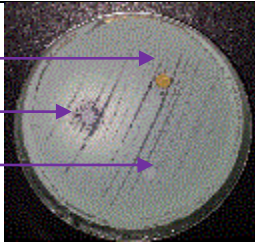
## 4. Résultats

### 4.3.2. Test antifongique

#### A. Méthode 01 (diffusion d'extrait sur un milieu gélosé)

Ce test est effectué pour étudier la sensibilité des souches fongiques aux extraits EHMR.

**Tab.9** Zones d'inhibitions du test antifongique de l'extrait hydrométhanolique sur *C. albicans* et 4 moisissures isolées à partir des trois céréales

Extrait	[C] mg/disque	Zone d'inhibition (mm)	Résultat	
EHR	24mg	8		<i>Candida albicans</i>
ATF	1mg	33		
DMSO	20µl	/		
EHR	24mg	/		<i>Alternaria sp.2</i>
ATF	1mg	30		
DMSO	20µl	/		
EHR	24mg	/		<i>Ulocladium sp.</i>
ATF	1mg	54		
DMSO	20µl	/		
EHR	24mg	/		<i>Fusarium sp.</i>
ATF	1mg	30		
DMSO	20µl	/		
EHR	24mg	/		<i>Penicillium sp.</i>
ATF	1mg	/		
DMSO	20µl	/		

#### 4. Résultats

---

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessous on remarque que le fluconazol (ATF) représente une forte activité antifongique sur les souches *Candida albicans*, *Alternaria sp2*, *Fusarium sp.* et *Uloclodium sp.* avec des zones d'inhibitions égales aux 33, 30, 54, et 30mm respectivement. L'*Uloclodium sp.* est la souche la plus sensible à cet antifongique

(fluconazol) avec une zone d'inhibition de 54mm, en revanche, l'ATF ne possède aucun effet sur *Penicillium sp1*.

Concernant l'extrait hydrométhanolique à 24mg/disque, on a constaté qu'il a un effet moyennement faible sur la levure *C.albicans* avec une zone d'inhibition de 8mm. Par contre, aucune activité antifongique n'a été prouvée sur les 4 souches fongiques isolées à partir des trois céréales à 24mg/ disque.

Pour cela une autre méthode de l'activité antifongique a été effectuée (Extrait dans le milieu de culture) avec des concentrations plus élevées que la première méthode.

#### **B. Méthode 2 (Extrait dans le milieu de culture)**

L'effet des extraits hydrométhanolique et méthanolique des racines de *C. spinosa* sur la croissance mycélienne comparativement au témoin est traduit par une diminution de la croissance mycélienne et une modification de l'aspect macroscopique.

#### 4. Résultats

**Tab. 10** Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des moisissures par deux extraits des racines de *C. spinosa*(EHMR et EMR)

Souche fongique	PI%					
	EHMR		EMR	ATF [1mg/ml]	DMSO 20 µl	PDA
	[400mg]	[900mg]	[1200mg ]			
<i>Alternaria sp1</i>	28,23	33,52	36,76	100	0	0
<i>Alternaria sp2</i>	12,94	30	39,41	45,28	0	0
<i>Uloclodiumsp</i>	28,82	48,82	69,41	100	0	0
<i>Clodosporiumsp</i>	24,11	29,41	60,58	37,64	0	0
<i>Fusariumsp</i>	/	/	/	100	0	0
<i>Penicillium sp</i>	0	0	0	0	0	0

D'après les résultats obtenus dans le Tab. 10 et Tab11, on a constaté que :

L'effet des extraits hydrométhanolique et méthanoliques des racines de *C. spinos*, del'antifongique et le DMSO à 0.16% sur la croissance mycélienne des souches varient entre 0% à 69,41% comparativement au PDA dont la croissance mycélienne est complète.

Malgré on a augmenté la concentration des extraits EHMR et EMR mais le pourcentage d'inhibition de souches mycélienne est très proche avec les souches *Alternaria splen* [400mg] 28,23%, en [900mg] 33,52% et en [1200mg] 36,76%, *Alternaria sp2*en [400mg] 12,94%, en [900mg] 30% et en [1200mg] 39,41% et *Uloclodium sp.* en [400mg] 28,82%, en [900mg] 48,82% et en [1200mg] 69,41%, et aussi l'extrait hydrométhanolique à un proche dans le pourcentage d'inhibition avec les souches *Uloclodiumsp* (en [400mg] 28,82% et en [900mg] 48,82% ) et *Clodosporium sp.* en [400mg] 24,11% et en [900mg] 29,41%.



#### 4. Résultats

---

Il est à signaler que l'extrait EMR est l'extrait le plus pertinent, il a présenté les pourcentages d'inhibition les plus élevés sur *Uloclodium* sp et *Clodosporium* sp avec des PI % de 69.41% et 60.58% respectivement.

On ne remarque qu'aucune activité antifongique de l'extrait des racines sur *Penicillium* sp.

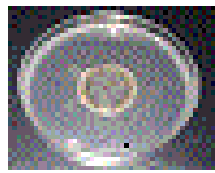
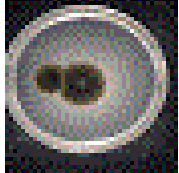
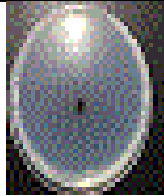





























Alors que l'antifongique à 1mg/ml dans le milieu de culture a révélé :

Une forte activité fongique sur les souches *Alternaria* sp1, *Uloclodium* sp. et *Fusarium* sp. avec un pourcentage d'inhibition 100% (effet fongicide).

Une moyenne activité antifongique avec *Alternaria* sp2 et *Clodosporium* sp avec des PI% de 45,28% et 37,64% respectivement (effet fongistatique).

#### 4. Résultats

**Tab. 11** Activité antifongique des extraits EHMR et EMR sur 6 moisissures isolées à partir des feuilles et racines des trois céréales (Blé dur, blé tendre et orge) (Méthode 2)

	EHMR		EMR	PDA+ATF (1mg/ml)	PDA+DMS O 0.16%	PDA
	[400mg]	[900mg]	[1200mg]			
<i>Alternaria</i>	/					
<i>Alternaria sp2</i>						
<i>Uloclodiumsp</i>						
<i>Clodosporiumsp</i>						
<i>Fusariumsp</i>	/	/				
<i>Penicillium sp</i>						

## **Discussion**

## 5. Discussion

---

### 5. Discussion

La phytothérapie connaît à ce jour un essor important du fait de la découverte de plus en plus d'extraits de plantes efficaces dans le traitement des maladies. L'utilisation d'extrait de plantes est une pratique courante en médecine traditionnelle africaine (**Jaykar et al., 2003**).

*Calycotome spinosa*, est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle. Au cours de notre étude nous nous sommes intéressés à la contribution de l'évaluation *in vitro* de l'effet antimicrobien des racines de cette plante sur la croissance des moisissures des feuilles et des racines de trois céréales ; blé dur, blé tendre et orge.

Le travail que nous avons réalisé, rentre dans le cadre de chercher l'activité antimicrobienne des extraits brutes d'une plante médicinale « *Calycotome spinosa* ».

**Dans un premier volet**, une analyse mycologique des feuilles et des racines de blé dur, blé tendre et d'orge (désinfectées et non désinfectées) a été effectuée. Les résultats de cette analyse ont révélé une contamination remarquable par les moisissures dans les deux parties des céréales étudiées. Selon (**Mills, 1990**), les racines et les feuilles des céréales forment un excellent substrat pour les moisissures.

41 souches ont été détectées, dont 32 ont été aperçues dans les feuilles et les racines non désinfectées et 09 dans les feuilles et les racines désinfectées. Cette différence de contamination fongique entre les deux parties - aérienne et souterrain- des céréales peut être expliquée par l'utilisation des produits chimiques (fongicides) qui ont permis la réduction et la diminution du taux de cette contamination. Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la mycoflore (**Le Bars et al., 1987 ; Miller, 2002** ). **Wilson et al. (2002)**, rapportent que la contamination fongique des céréales au champ ou pendant le stockage est directement liée aux conditions hydrothermiques.

La flore fongique totale des racines et des feuilles de blé et d'orge est constituée essentiellement de moisissures filamenteuses, très sporulants, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Alternari*, *Fusarium* et *Penicillium* sont les plus rencontrés.

Les différents genres de moisissures que nous avons pu identifier sont des contaminants des denrées alimentaires maltraitées mais surtout mal conservées, ils sont considérés

## 5. Discussion

---

comme contaminants de stockage des céréales et leurs dérivés, et sa présence dans les racines et les feuilles entraînent nécessairement des symptômes et des déchets indésirables, ce qui se reflète sur d'autres parties (fleurs et les grains) (**Berthier et Valla, 1998**). La dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des céréales a été reportée dans plusieurs travaux (**Le Bars et al. , 1987 Ribaet al. , 2005**). Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage (**Withlowet al. , 2001**). En comparaison avec nos études, il faut souligner la grande dominance d'*Alternaria sp.* dans les deux parties des céréales suivi de *Fusarium sp.*, *Penicillium sp* (désinfectées) et *Cladosporium sp.* ,*Uloclodium sp.* (non désinfectées). Cette fréquence de contamination importante est accompagnée aussi par une production de mycotoxines.

D'autres études de **Skrinjar et al.(1992) et Gonzalez et al. (1995)** ont rapportés que les *Penicillium spp.* ont été les plus fréquemment isolés à partir du maïs stocké. Cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains et des racines et la période de prélèvement.

La présence du genre *Alternaria* dans le blé non traité semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon. Ces mêmes résultats ont été constatés par **Weindenborner (2000)**.

Les genres *Cladosporium et Ulocladium* détectés sur les grains de blé non traités appartiennent à la flore du champ et la flore intermédiaire (**Gacem, 2011**).

Dans l'ensemble, le taux de contamination élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatés dans les deux parties des trois céréales peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage (**Davis et al., 1987**).

Le milieu PDA utilisé au cours de cette étude a été décrit par plusieurs auteurs pour l'isolement des moisissures contaminants les aliments (**Gacem, 2011; Azzoun, 2012**).

**Dans un deuxième volet**, une extraction des polyphénols à partir des racines de la plante *Calycotome spinosa* en utilisant deux systèmes : méthanol et méthanol/eau (80 :20) (hydrométhanol) a été réalisée. Pour après évaluer leurs capacités antimicrobiennes.

Au cours de la préparation des extraits, les rendements en masse de ces extraits EHMR et EMR sont variables, de ce fait, on constate que le rendement d'extraction dépend de la méthode d'extraction, et des caractéristiques physicochimiques des solvants utilisés, notamment leur polarité, il s'en suit que la solubilité des substances contenus dans la matière végétale dépend de ces propriétés.

## 5. Discussion

---

Le rendement des extraits obtenus est plus élevé pour l'extrait méthanolique ( 7.75%) que l'extrait hydrométhanolique ( 4.47%).

Une étude de **Yekhlef (2010)** a obtenue des résultats similaires avec nos résultats. L'extrait méthanolique de *Laurus nobilis* représente le rendement le plus élevé (21.94 %) suivi de l'extrait aqueux de *Laurus nobilis* (20.05 %).

En revanche, d'autre étude reporte que le rendement de l'EM et l'EA de la fleur de *Capparis spinosa* est presque le même (21.58 ; 21.48 % successivement) (**Meddour, 2011**).

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, (**Rojas et al.,1992**), le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques. Les extraits de l'espèce *Calycotome spinosa* est présente un effets plus ou moins efficace sur quelques bactéries et certains moisissures isolées, ce résultat est en accord avec les études réalisées sur *Geotrupesstercorarius* et sur *Diplotaxisassurgens*et *Raphanussativus*qui ont la même propriété (**Devi et al., 2014 ; Deeksha et al., 2015**).

Le test de l'activité antibactérienne des différents extraits des racines de la plante *C. spinosa* (méthanolique et hydrométhanolique) a été effectué sur six bactéries. Ce test a été évalué à l'aide d'une méthode de diffusion de disque en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition (**Sokmen et al., 2004**).

Nos résultats ont montré que l'extrait hydrométhanolique des racines de *Calycotome spinosa* était le plus actif (à 400mg/ml) contre *B.subtilis* et *S.aureus* (14 et 15 mm respectivement), mais il ne présentait aucune activité contre *E. coli*, *Klebsiella sp.* et *P. aeruginosa*. Nos résultats sont les mêmes comparativement à une étude de **Belkhiri (2009)** qui est étudié les racines du plante *Carthamus caeruleus*. Ces résultats sont aussi en accord avec ceux des travaux de **Soundararajan et al. (2012)** qui montrent que les extraits d'*Elaeis guineensis* présentaient une meilleure activité sur les bactéries Gram+ que sur les Gram-.

Une étude de **Koroma et Ita (2009)** a montré que lors que l'extrait des feuilles d'*Alchorneahirtella*, l'extrait de l'écorce des racines de *Crateris permumlaurinum* avaient une action modérée sur *S. aureus*, l'extrait de l'écorce de *Craterispermumlaurinum* inhibe fortement la croissance de *S. aureus*.

## 5. Discussion

---

Ces résultats confirment ceux de plusieurs autres chercheurs qui ont déjà démontré les activités antimicrobiennes de *Calycotome vilosa* sur divers germes dont *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *S. typhimurium* (**Chikhi, 2016**).

**Chikhi (2016)** montre que l'huile essentielle de *Calycotome vilosa* présentait la meilleure activité antibactérienne contre les bactéries *S. aureus*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *S. typhimurium*. Cependant, l'extrait d'éthanol a présenté une gamme différente. L'huile essentielle et l'extrait d'éthanol présentent une activité antibactérienne contre deux bactéries Gram + et une activité dans une moindre mesure contre deux espèces de Gram négatif -.

Notre étude a affirmé que les bactéries Gram + sont plus sensibles que les bactéries Gram-. Les mêmes résultats sont confirmés par de nombreuses expériences (**Cosentino et Tuberoso, 1999 ; De-Billerbeck, 2002 ; Belkhiri2009**) ayant montré que les bactéries à Gram- sont plus résistantes aux extraits végétaux que les bactéries à Gram+.

Par contre **Zaika (1988)** est affirmé que les bactéries à Gram+ sont plus résistantes aux extraits végétaux que les bactéries à Gram-.

**(Boutaghane, 2013)** a révélé que la fraction chloroformique des parties aériennes de *Chrysanthemum macrocarpuma* a montré un effet inhibiteur important sur la croissance des bactéries Gram négatif *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*, avec des zones d'inhibition de 30, 24 et 18 mm, respectivement. Une activité antibactérienne modérée, a été observée vis-à-vis des souches Gram positif *S. aureus* et *E. faecalis*, avec des zones d'inhibition de 24 et 30 mm, respectivement.

Selon **Mubashir et al (2009)**, l'extrait aqueux des feuilles de l'espèce *Marrubium vulgare* exerce une forte activité inhibitrice sur les souches de *Staphylococcus aureus* MTCC 740, *Staphylococcus epidermidis* MTCC 435 et une activité de degré moindre sur *Proteusvulgaris* MTCC 426 et *E.coli* MTCC 443.

La recherche des effets antifongiques sur les souches rencontrées dans les champs de céréales a révélé une efficacité des extraits de la plante sur les souches fongiques testées, ce qui confirme que les substances bioactives des racines de la plante sont considérées comme des composés potentiellement efficaces contre les moisissures.



## 5. Discussion

---

Les pourcentages d'inhibitions PI% de la croissance fongique ont été calculés pour déterminer l'efficacité inhibitrice des extraits de *C. spinosa* sur les six moisissures testées.

Les deux extraits testés sur les moisissures *Alternaria sp1* et *Alternaria sp2* présentent des effets inhibiteurs significativement différents, l'extrait EMR a donné le pourcentage d'inhibition le plus élevé sur *Uloclodium sp.* avec une valeur de 69,41%, et aussi l'extrait EHMR a représenté le pourcentage d'inhibition le plus élevé sur la même souche avec une valeur de 48,82%. Aucune activité antifongique des deux extraits n'a été détectée sur *Penicillium sp.*

**Bougandoura et Bendimerad (2012)** constatent que l'extrait méthanolique et aqueux des feuilles de *Satureja calamintha* exerce une activité inhibitrice sur toutes les souches mycéliennes testées avec un pourcentage d'inhibition variant de 66,66% sur *Fusarium oxysporum* à 87,5% sur *Aspergillus flavus*.

**Aouadhi et al. (2013)** ont montré que les résultats obtenus ont montré que les extraits des feuilles méthanoliques de *Marrubium vulgare* et *Teucrium polium* avaient une activité antimicrobienne importante vis-à-vis *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Candida albicans*. En fait, les zones d'inhibitions maximales et les valeurs de la CMI sont aux alentours de 11-17 mm et 3,25 à 12,5 mg/ml respectivement. En outre, l'extrait méthanolique de *T. polium* était plus actif que celui de *M. vulgare* contre les trois espèces étudiées. Cependant, l'extrait méthanolique de *Menthapulegium* n'avait pas d'effet antimicrobien. De même, **Hajlaoui et al. (2009)** ont révélé que l'extrait méthanolique des feuilles de *M. pulegium* n'avait pas d'effet sur les différentes espèces fongiques testées. En ce qui concerne l'extrait méthanolique de *M. vulgare*, **Kanyonga et al. (2011)** ont montré que cet extrait avait un effet plus faible, que celui observé dans notre étude, sur *C. albicans* avec une CMI de l'ordre de 100 mg/ml.

La présente expérimentation révèle que l'EMR de *Calycotome spinosa* possède un effet plus antagoniste que l'EHR 69,41% pour *Uloclodium sp* et 60,58% pour *Clodosporium sp*. En revanche, aucune activité antifongique n'a été signalée par ces deux extraits contre l'espèce *Penicillium sp.*

D'après **Kandil et al. (1994)**, l'huile essentielle de *T capitatus* est plus active sur les *Penicillium sp.* suivi par les *A. niger* et *A. flavus* à des concentrations de 10 à 200 mg/ml.



## **Conclusion**

## 6. Conclusion

---

### 6. Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude ont révélé un effet inhibiteur intéressant des extraits des racines (hydrométhanolique et méthanolique) de *C. spinosa* sur la croissance des microorganismes pathogènes et précisément contre des moisissures isolées à partir des feuilles et des racines des 03 céréales de la wilaya de Constantine (blé dur, blé tendre et orge) surtout les espèces *Fusarium sp.* et *Alternaria sp.*

Cette inhibition est proportionnelle à la concentration de l'extrait, plus en augment la concentration plus le pourcentage d'inhibition est important. Selon les résultats de l'analyse biologique des extraits testés, cette activité est probablement liée à la richesse de cette plante en métabolites secondaires notamment les polyphénols et les flavonoïdes.

A la lumière de ces résultats cette étude nécessite d'éventuelles études qui s'intéressent à :

- Isoler et purifier des souches fongiques interne des résidus alimentaires principalement les céréales (autres céréales).
- Identifier et mieux reconnaître les caractéristiques macroscopique et microscopique des moisissures isolées.
- Tester l'effet de certains composants majoritaires de ces extraits *in vitro* sur la flore bactérienne et la flore fongique des céréales.
- Ces extraits peuvent être considérés comme des agents conservateurs très prometteurs pour l'industrie alimentaire et de réduire la croissance mycélienne responsable de l'altération des principaux aliments.

En effet, le plus important c'est d'être capable d'appliqué ces résultats *in vivo*, avec un risque moindre de touché ou encore changé la qualité de nos aliments (céréales).

## **Références bibliographiques**

## 7. Références bibliographiques

---

### 7. Références bibliographiques

**Aït Youssef. M (2006).** Plantes médicinales de Kabylie, Ibis Press, 349 p.

**Achat. S, (2013).** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant, et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira –Bejaia.

**Aissaoui .N( 2013).**Catalytic activity and thermostability of enzymes immobilized on silanized surface: influence of the crosslinking agent.

**Aouali S. et Douici-Khalfi A., (2013).** Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. ITGC. 8-36.

**AouissatiannWen. R, (2002).** Etude des activités biologiques et de la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako.

**Atalla M.M., Mohamed-Hassanein N., Atef-Elbeih A., Youssef, A. (2003).** Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergillus* in relation to different relative humidity and storage periods. *Food Nutrition* 47, 6-10.

**Bautista-Bañ os S, Barrera-Necha LL, Bravo-Luna I, Bermudes-Torres L. (2002).** Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruit after storage. *Rev Mex Fitopatol* 20:8–12.

**Bekhechi-benhabib, C.( 2001).** Analyse d'huile essentielle d'*Ammodendron verticillata* (Ninkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de magister de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie.

**Belkhiri. F, (2009).** Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits du *Tamus communis* L. et *Carthamus caeruleus* L. Magistère. Université Ferhat Abbas Sétif.

**Bendif N., (1994).** La situation actuelle des maladies des céréales en Algérie. ITGC. Céréaculture 27. p9.

**Bergal.P et Friedberg.R,(1940).** Essai d'identification des orges cultivées en France. Paris.

**Bergal.P,(1966).** Caractéristiques qualitatives des orges de brasserie Union Agriculture, 261, 62-72.

**Blanchard. M, (1960),** Le blé dur dans le monde. Comment distinguer le blé dur du blé tendre au cours des analyses internationales de Semence, C. R. Assoc. Int. Essais Semence, 25, 234-246.

**Bonjean, A. (2001).** Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.), Dossier de l'environnement de l'INRA, n°21.

## 7. Références bibliographiques

---

**Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpen J.P., Raymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y and Veau P.(1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428..

**Bouaouine .O,(2015).**Traitement des lixiviats de décharge par coagulation-floculation conséquence. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la « Section midi Pyrénées » à Toulouse, le 18 septembre 1987. Consumes. Céréales. F.Chem. p : 53-57.

**Bougandoura.N et Bendimerad.N, (2012).**EFFET ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS AQUEUX ET METHANOLIQUE DE *Saturejacalaminthasp.*(Nepeta) briq.Vol 2 N 1.

**Boutaghane. N,(2013).**Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista uliginosa* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae). Thèse de doctorat.Université de Constantine I faculté des sciences exactes.

**Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L ., Brun S and Penn P. (2002).** Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt medical. Labo Analy De biomédicale.

**Chery.J, (1960).** La culture et l'amélioration de l'orge. Progrès Agric. et vitic., n° 5, 6, 7.

**Chikhi. I, (2013).** Composition Chimique Et Activites Biologiques Des Extraits De Cinq Plantes Aromatiques Et Medicinales De L'ouest D'algerie. Thèse De Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

**Damerdji.A, Djeddid.A, (2012)** Les orthoptéroïdes associés à une plante xérophile (*Calycotomespinosa* L. (LINK)) (Fabacées) dans la région de Tlemcen (Nord-ouest Algérien) ; Rev. Ivoir. Sci. Technol., 111 – 123.

**Daouda.A., Abdel-Satter. E., Aarab. L.** The Relationship Between Lectin Compounds and Immunomodulatory Activities of Protein Extracted From Plants. Journal of Plant Studies, 2014. 3(1): 56-64

**Davis. (1987).** Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control, Vol. 17:745–752.

**Deeksha.M., Sangha. K., Khurana. D. S., Kaur. G., Bala. M., Singh.B.** Screening for Lectin Quantification in Brassica Spp and Vegetable Crops. Journal of Environmental and Applied Bioresearch, 2015. 3(1) : 20-24.

**Desaynard.P, (1966).**Intérêt économique du désherbage précoce des céréales. C. R. Acad. Agric., 1037-1042.

**Devi. P. R., Kombiah. P., Sudhakar. R. G., Babu. G.** Purification And Characterization Of A Novel Lectin From *Geotrupes stercorearius*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 2014. 15 (2): 157-162.

## 7. Références bibliographiques

---

**Dionigt.A,(1962)** ; Mitadinage des blés durs et les moyens agronomiques pour les combattre ; Genet, Agrar. 15, 3-4, 263-387.

**Dionigt.A,(1969).**Le blé dur. Variétés et techniques culturales. Bull. Techn. Inf., 244, 799-806.

**Dionigt.A, (1970).** Amélioration de la qualité des variétés de blé dur. Ann. Amél. Plantes. 20, 2, 159-188.

**Djossou O., Perraud-Gaime I., Lakhalmirleau F ., Rodriguez-Serrano G., Karou G ., Niamke S., Ouzari I., Boudabous A and Roussos S. (2011).** Robusta coffee beans postharvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. Anaerobe. p: 1-6

**Elmansouri. K,(2013).**Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales.Université de Cadi Ayyad.

**Ennadir .J, Hassikou.R , Al Askari.G , Arahou.M , Bouazza.F , Amallah.L , Amine S.A , Khedid.K, (2014).** Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat flour from Morocco).

**Gacem., (2011).**Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. P:1, 22

**Ghiasian S.A., Bacheh P. K., Rezayat S. M., Maghsood A. H., Taherkhani H. (2004).** Mycoflora of Iranian maize harvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia* 158: 113–121.

**Guiraud J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, pp 9 - 320.

**Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod., Chapitre, Milieu et réactif. P :522. ISBN : 2 10 003666 1

**Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie alimentaires. (edn) Dunod. Paris.p : 651.

**Haraguchi, H. ( 1996).***Medicinal Plants as a Source of Antioxidants*. Vol. 4 213-224, 2010

**Ismaili H.(2001).** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. ISSN: 1253-8078 (Print) 2166-3408 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/tabg20>

**Kandil. O, Radwan N.M, Hassan A.B, Amer A. M. M., El-Banna H. A. and Amer M. M. (1994).**Extracts and Fractions of *Thymus capitatus* exhibit antimicrobial activities. Journal of Ethnopharmacology 44, pp. 19-24.

## 7. Références bibliographiques

---

**Kholkhal F. (2005).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* et *ssp. ciliatus*.

**Laija B. (2010).** Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2\*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. 10(1):20-9. doi: 10.1038/tpj.2009.32.

**Le Bars J., Le Bars P. (1987).** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "Section Midi-Pyrénées" à Toulouse, le 18 septembre 1987. *Consumed cereals. F.Chem.* p: 53-57 .

**Matweef.M. (1963).** Le mitadinage des blés durs, son évaluation et son influence sur le rendement et la valeur des semences. *Bull. Rev. Anc. Ec. Fr. de Meunerie*, 198, 299-305.

**Meddour R., Mellal H., Meddour O., Derridj A. (2011).** La flore médicinale et ses usages actuels en Kabylie (wilaya de Tiziouzu, Algérie) : quelques résultats d'une étude ethnobotanique, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, BP 17 RP, 15 000 TiziOuzou, Algérie *Revue des Régions Arides*, n° Spécial, pp :181-201.

**Mekkiou. R. (2005).** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae) : *G. saharae*, *G. ferox*. Université Mentouri – Constantine.

**Merabti. R. (2015).** Blé dur fermenté lemzeiet : étude du nouveau procédé de fermentation à l'extérieur du matmor et caractérisation de l'écosystème (interactions du microbiote avec la matrice). Thèse de doctorat. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A). Université des Frères Mentouri-Constantine 1.

**Muanda.F.N. (2010).** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat. Ecole doctorale SESAMES.

**Nasraoui. B. (2008).** Principales Maladies Fongiques des Céréales et des Légumineuses en Tunisie. Centre de Publication Universitaire.

**Nguymen M.M. (2007).** Identification des espèces de moisissures potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du VIETNAM : étude de condition pouvant réduire la production de mycotoxine : thèse de doctorat. INSPolytechnique de Toulouse .p:147.

**OEPP. (2003).** Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés. Normes OEPP Bulletin. p: 245–247.

**Oteng-Gyang K. (1984).** Introduction à la microbiologie dans les pays chauds. Ed. Lavoisier. Paris, pp 43 - 46.

## 7. Références bibliographiques

---

**Ouibrahim F. (2015).** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurusnobilis* L., *Ocimumbasilicum* L. et *Rosmarinusofficinalis* L.) de l'est algérien. Thèse de doctorat. universitébadjimokhtar – Annaba.

**Pacin A.M., González H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.(2002).** Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87–92.

**Pailier. A, (2013).**Les relations sol/plantes en forêts méditerranéennes: Approche bioclimatique des déterminants de la structuration fonctionnelle des communautés microbiennes des sols et de leurs réponses à un double stress hydrique et thermique en région provençale calcaire. Thèse de doctorat. AIX MARSEILLE UNIVERSITÉ.

**Plumer.A, (1955).**Étude des facteurs conditionnant la qualité des orges de brasserie. *Ann. Amél. Plantes.*4, 575- 614.

**Rabie R.(1997).**Anthraquinones from some *Drechslera* species and *Bipolarissorokiniana* Vol. 97 (3) ,1993, P. 381-384.

**RazakMf.,AidooKe ., Candlish Ag ., 2009.** Mixed herbs drugs inhibitory , effect on growth of the endogenous mycelflore and afataxion production *Mycopathologie* p: 167-273-268

**Senhaji S.(2005).**Antifungal activity of medicinal plants extracts against *Botrytis cinerea* the causal agent of gray mold on tomato *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* Vol.4, No.26, 2014

**Sofowora A.O. (1993).** Proximate Analysis, Mineral Contents, Amino Acid Composition, Anti-Nutrients and Phytochemical Screening of *BrachystegiaEurycoma* Harms and *PipperGuineense* Schum and Thonn. *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa.* University of Ife Press 2nd Ed. pp 320.

**Tabuc. N,(2007).**Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.

**Traoré k. A. (2012).** Aspects épidémiologiques et caractérisation moléculaire des souches du virus de l'hépatite E (VHE) au Burkina Faso .thèse de doctoratenmicrobiologi/thérapeutiques antiinféctieuses

**Vinod.P. B ,(2010).** Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxydant Effects of *Artemisia Herbaalba* Extract on Experimental Dabetes. Vol.11 (6): 552-560.

**Withlow L.W and Hagler W.M. (2001).** Mycotoxin contamination of feedstuffsAn additional stress factor for dairy cattle. North Carolina State University, Raleigh, NC.Symposiumsur les bovinslaitiers. CRAAQ Québec.



## 7. Références bibliographiques

---

**Yahyaoui N.,(2005).**Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de Menthe Spicata L. sur *Rhyzoperludominicu* (F .) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboiumconfusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach, Algerie

**Yekhleghania. (2010).** L'étude des activités biologiques des extraits des feuilles de *Laurusnobilis*, *Thymus vulgaris*. Thèse de magistère.PP : 170.

**Zaika.L, (1988).** Spices and Herbs : Their Antimicrobial Activité and Its Determination. *Journal of Food Saftey*, 9(2): 97-118.

**Zaitlin B., Watson S. B., Ridal D., Stachwill T. et Parkinson D..**Actinomycetes in Lake Ontario, habitats and geosmim and MIB production, 95 (2), 2003, p.113-118.

**Zia-Ur-Rahman.(2006).** Storage effect on nutritional quality of commonly cereals.*F.Chem.* p: 53-57 .

# **Annexe**

## Annexe

### Annexe : Préparation des milieux de culture

Milieux de culture	Composition
<b>Chapman</b>	Peptones..... 11,0 g Extrait de viande... 1,0 g Chlorure de sodium.. 75 g Mannitol..... 10,0 g Rouge de phénol..... 0,025 g Agar..... 15 g Eau distillée..... 1000mL
<b>Gélose au Cétrimide</b>	Peptones.....20 Sulfate de potassium.....10 Chlorure de magnésium.....3 Phosphate dipotassique.....0,3 Cétrimide.....0,2 Acide nalidixique.....0,015 Glycérol.....10mL Agar.....13 pH = 7,1
<b>Héktoen</b>	Peptone pepsique de viande 12.0(BioKar) Proteose peptone n°3 12.0 (Difco) Extrait autolytique de levure 3.0 Lactose..... 12,0 Saccharose..... 12,0 Sels biliaires..... 9,0 Salicine..... 2,0 Sodium chlorure..... 5,0 Sodium thiosulfate..... 5,0 Citrate ferrique ammoniacal... 1,50 Bleu de bromothymol..... 0,065 Fuschine basique.... 0,040 (Biokar) -0,1(Difco) Agar agar ..... 13,5 (Biokar) - 14,0 (Difco) pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C..... 7,6 ± 0,2 (Biokar) - 7,5 ± 0,2 (Difco)
<b>Sabouraud</b>	Peptone.....10g

## Annexe

	Glucose.....20g Agar.....15g Eau distillée.....1000ml <p style="text-align: center;">pH=6</p>
<b>Tryptone-Soja-Agar (TSA)</b>	Peptone de caséine..... 15,00 Peptone de soja..... 5,00 Chlorure de sodium..... 5,00 Agar..... 15,00 <p style="text-align: center;">pH final à 25°C : 7,3 ± 0,2</p>
<b>Mueller Hinton (MH)</b>	Infusion de viande.....2,0 Hydrolysate acide de caséine....17,5 Amidon soluble.....1,5 Agar agar..... 17,0 <p style="text-align: center;">pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2</p>
<b>Pomme de terre Dextrose Agar (PDA)</b>	Pomme de terre..... 200 g Glucose..... 20 g Agar..... 15 g Eau distillée..... 1000 ml
<b>Eau physiologique</b>	chlorure de sodium (NaCl)      9 g Eau distillée                      1 000 ml

Tous les milieux sont stérilisés à 121°C pendant 15- 20 min

## **Résumés**

### Résumé

Ce travail s'inscrit dans l'objectif d'une évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits hydrométhanolique et méthanolique des racines d'une plante endémique appartenant de l'East d'Algérie « *Calycotome spinosa* ». L'isolement, la purification et l'identification des moisissures à partir des feuilles et des racines du blé dur, blé tendre et l'orge ont été réalisées. De plus, l'extraction des polyphénols à partir de la partie sous terrainne de *C. spinosa* en utilisant le système hydrométhanolique et le méthanol a été faite. Enfin, l'activité antimicrobienne des extraits obtenus a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose pour les souches bactériennes Gram+ et Gram-, et l'ensemencement d'extrait dans le milieu pour les souches fongiques. 41 souches fongiques ont été isolées à partir du blé dur, blé tendre et de l'orge appartiennent à cinq genres différents; *Alternaria* (82.92%), *Fusarium* (7.31%), *Penicillium* (4.87%), *Clodosporium* (2.43%) et *Uloclodium sp* (2.43%). Ainsi que l'extraction des polyphénols des racines de *C. spinosa* montre que le rendement de l'extrait méthanolique est plus que l'extrait hydrométhanolique. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que l'extrait EHMR possède une activité antibactérienne intéressante contre *B. subtilus* et *S.aureus* (Gram+), et le même extrait ne possède aucune activité contre les Gram- ; *Klebsiella sp*, *P.aerugenosa* et *E. coli*. Alors que le test antifongique révèle que l'EMR a un effet plus antagoniste (69,41%) contre *Uloclodiumsp* que l'autre extrait EHMR. En effet, l'EHMR a démontré une efficacité antifongique moins importante contre *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 8mm. La souche *Penicillium sp* est résistante aux deux extraits.

**Mots clés:** Moisissures des céréales, *Calycotome spinosa*, polyphénols, activité antifongique, activité antibacterienne.

### Abstract

The main objective of the present work is the evaluation in vitro the antibacterial and antifungal activity of hydromethanic and methanolic extracts from the roots of an endemic plant belonging to the East of Algeria "*Calycotome spinosa*". Isolation, purification and identification of molds from the leaves and roots of durum wheat, soft wheat and barley have been achieved. In addition to that, the extraction of polyphenols from the underground part of *C. spinosa* using the hydromethanol system and methanol solvent was done. Finally, the antimicrobial activity of the obtained extracts was evaluated by agar diffusion method against Gram + and Gram- bacterial strains, and the seeding of the extract in the medium for the fungal strains. 41 fungal strains were isolated from durum wheat, soft wheat and barley belong to five different genera; *Alternaria* (82.92%), *Fusarium* (7.31%), *Penicillium* (4.87%), *Clodosporium* (2.43%) and *Uloclodium sp.* (2.43%). As well as extracting polyphenols from *C. spinosa* roots shows that the yield of the methanolic extract is more than the hydromethanic extract. The results of the antibacterial activity show that the EHMR extract has an interesting antibacterial activity against *B. subtilus* and *S. aureus* (Gram +), and the same extract has no activity against Gram-; *Klebsiellasp*, *P.aerugenosa* and *E. coli*. While the antifungal test reveals that the EMR has a more antagonistic effect (69.41%) against *Uloclodium sp.* than EHMR extract. In fact, the EHMR has demonstrated less antifungal efficacy against *Candida albicans* with an inhibition zone equal to 8mm. *Penicillium sp.* strain is resistant to both extracts.

**Key words:** Cereal fungi, *Calycotome spinosa*, polyphenols, antifungal activity, antibacterial activity.

### ملخص

الهدف من هذا العمل هو إجراء تقييم في المختبر للنشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للمستخلصان الهيدروميثانولي والميثانولي من جذور نبات مستوطن في شرق الجزائر "*Calicotomespinosa*" حيث تم عزل وتنقية وتحديد اجناس الفطريات من أوراق وجذور القمح الصلب والقمح اللين والشعير. بالإضافة إلى ذلك ، تم استخلاص polyphenols من جذور *C. spinosa* باستخدام نظام hydromethanol و الميثانول. وأخيرا ، تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصان المحصل عليهما بطريقة النشر علي الأجار لسلاطات الجرام + و الجرام - .

تم عزل 41 سلالة فطرية من القمح الصلب والقمح اللين والشعير تنتمي إلى خمسة أجناس مختلفة *Alternaria* . *Uloclodium* sp. *Clodosporium* (2.43 %، *Penicillium* (4.87 %، *Fusarium* (7.31 %، *C. spinosa* (82.92 %). (بالإضافة إلى استخراج polyphenols من جذور *C. spinosa* تبين أن العائد من المستخلص الميثانولي أكثر من المستخلص الهيدروميثانولي. تظهر نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أن مستخلص EHMR له نشاط مضاد للبكتيريا مثير للاهتمام ضد *S. aureus* و *B. subtilis* (Gram +) ، ونفس المستخلص ليس له أي نشاط ضد *P.aerugenosa* and *E. coli* ، Gram-. *Klebsiellasp* له تأثير مضاد للفطريات كبير (69.41%) ضد *Uloclodium* sp من المستخلص الآخر EHMR . في الواقع ، أظهرت EHMR فعالية أقل ضد الفطريات *Candida albicans* مع منطقة تثبيط 8mm. إن سلالة *Penicillium sp* مقاومة لكل المستخلصات.

**الكلمات المفتاحية** *Calicotome spinosa* فطريات الحبوب، بوليفينول، النشاط مضاد للفطريات، النشاط المضاد للبكتيريا



Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : Charouana Nabila et Brel  
Romaissa

Isolement, purification et identification des moisissures du champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et Biotechnologie Fongique

## Résumé

Ce travail s'inscrit dans l'objectif d'une évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits hydrométhanolique et méthanolique des racines d'une plante endémique appartient de l'East d'Algérie « *Calycotome spinosa* ». L'isolement, la purification et l'identification des moisissures à partir des feuilles et des racines du blé dur, blé tendre et l'orge ont été réalisées. De plus, l'extraction des polyphénols à partir de la partie sous terrain de *C. spinosa* en utilisant le système hydrométhanolique et le méthanol a été faite. Enfin, l'activité antimicrobienne des extraits obtenus a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose pour les souches bactériennes Gram+ et Gram-, et l'ensemencement d'extrait dans le milieu pour les souches fongiques. 41 souches fongiques ont été isolées à partir du blé dur, blé tendre et de l'orge appartiennent à cinq genres différents; *Alternaria* (82.92%), *Fusarium* (7.31%), *Penicillium* (4.87%), *Clodosporium* (2.43%) et *Uloclodium sp* (2.43%). Ainsi que l'extraction des polyphénols des racines de *C. spinosa* montre que le rendement de l'extrait méthanolique est plus que l'extrait hydrométhanolique. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que l'extrait EHMR possède une activité antibactérienne intéressante contre *B. subtilis* et *S.aureus* (Gram+), et le même extrait ne possède aucune activité contre les Gram- ; *Klebsiella sp*, *P.aeruginosa* et *E. coli*. Alors que le test antifongique révèle que l'EMR a un effet plus antagoniste (69,41%) contre *Uloclodiumsp* que l'autre extrait EHMR. En effet, l'EHMR a démontré une efficacité antifongique moins importante contre *Candida albicans* avec une zone d'inhibition de 8mm. La souche *Penicillium sp* est résistante aux deux extraits.

**Mots clés:** Moisissures des céréales, racines de *Calycotome spinosa*, polyphénols, activité antifongique, activité antibactérienne.

**Laboratoire de recherche:** Laboratoire de Zoologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri- Constantine I

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b> Pr. Dehimat Laid	Pr - UFM Constantine I
<b>Rapporteur :</b> Mme. CHERFIA Radia	M.A.A- UFM Constantine I
<b>Examineur :</b> Mme. Milet Asma	M.A.B- UFM Constantine I

**Date de soutenance :** 28/05/2018