

**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département des Sciences Biologique**



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine :** Science de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biotechnologie végétale

**Présenté par :** ZIDI Oum-Elkhir

**Thème :**

*Etude de l'activité antifongique des extraits aqueux chaud et froid de  
Curcuma sur quelques moisissures contaminants le blé dur stocké*

**Soutenu publiquement**

**Le : 27 / 06 /2018**

***Devant le jury :***

<b>Président :</b> Mme OUELD ELHADJ-KHELIL Aminata	<b>Professeur</b>	<b>U.K.M. Ouargla</b>
<b>Examineur :</b> Melle HADJADJ Soumia	<b>M.C.B</b>	<b>U.K.M. Ouargla</b>
<b>Encadreur :</b> Mme DJERBAOUI Amina Nesrine	<b>M.A.A</b>	<b>U.K.M. Ouargla</b>

**Année universitaire : 2017/2018**

# *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,*

*L'amour, le respect, la reconnaissance...*

*Aussi, c'est tout simplement que*

*Je dédie ce thème...*

A mon très cher **père** l'homme le plus parfait dans le monde, le secret de ma réussite et mon grand

exemple qui a rêvé toujours de me voir heureuse.

A ma très chère **idéale mère**, source de tendresse, en témoignage de ma reconnaissance pour son amour,

sa patience et sa compréhension.

A

**Habiba, Ibtissem, Minoucha, Imane, Sabrina et Momo**

Merci...Pour leurs aides sacrifices, encouragements et leur patience pendant mes études

Mes très chères **sœurs**, mon très cher **frère** chaque un à son nom

A toute la famille **Zidi** et **Meddah**.

Que Dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de

Bonheur et de santé.

A tous **mes amis** qui sont toujours à mon coté dans les bons moments.

A mes copines, Saida, Nawel, Nabila et Zahra et à tous **mes amies** de la promotion de master

**biotechnologie végétale**

2017/2018

Et à tous que j'aime dans ma vie

*Zidi Oumelkhir*

# *Remerciements*

*Avant tout je remercie « Dieu » le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.*

*Tout d'abord un grand merci pour l'encadreur **Mme DJERBAOUI Amina Nesrine**, Maître-Assistant « A » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université d'Ouargla, pour sa présence et sa disponibilité permanente, pour ses conseils et son soutien, et pour m'avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté le présent travail. J'ai l'honneur de lui exprimer mes très profondes reconnaissances et mes sentiments les plus sincères.*

*Je tiens à exprimer également ma profonde reconnaissance aux membres de jury ;*

***Mme OULD EL HADJ- KHELIL- Aminata**, Professeur au Département des Sciences Biologique Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Ouargla, pour avoir accepté de présider ce jury.*

***Melle HADJADJ Soumia**, Maître de Conférences « B » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements vont également à **Melle SALHI Nesrine**, Maître de Conférences « A » au Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Ouargla, pour sa bienveillance, ses conseils, ses aides moral et scientifique, et la confiance qu'elle m'a accordée.*

*Mes vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement à notre Université Kasdi Merbah Ouargla, qui nous a procuré une bonne formation.*

*Je remercie aussi toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail, ainsi tous mes amis de notre promotion Master II biotechnologie végétale 2017/2018.*

## Liste des abréviations

<b>Abréviations.</b>	<b>Signification</b>
<b>Eq</b>	Extrait Aqueux
<b>C</b>	Concentration
<b>R</b>	Rendement
<b>T</b>	Témoin
<b>TI</b>	Taux d’Inhibition
<b>VC</b>	Vitesse de Croissance
<b>TS</b>	Taux de production de Spore
<b>NT</b>	Nombre Total
<b>NI</b>	Nombre des graines germées
<b>CF</b>	Charge Fongique
<b>UFC</b>	Nombre d’Unités Formant Colonies
<b>Fr</b>	Fréquence des isolats
<b>D</b>	Diamètre
<b>J</b>	Jour
<b>H</b>	Heurs
<b>CR</b>	Croissance Radial
<b>PMG</b>	Poids de Mille Grains
<b>CC</b>	Cinétique de Croissance
<b>CCLS</b>	Centre national de Contrôle et de certification des semences et plants

## Liste des figures

N de figure	Titre de figure	Page
1	Structure histologique du grain de blé à maturité	06
2	Les étapes de préparation de l'extrait aqueux froid	15
3	Les étapes de préparation de l'extrait aqueux chaud	16
4	Protocole expérimentale des différentes concentrations des extraits aqueux de <i>Curcuma Longa</i> .	20
5	Préparation Les différentes concentrations des extraits aqueux	23
6	Cinétique de croissance des souches en fonction de temps et de concentration en extrait aqueux froid de <i>Curcuma Longa</i>	29
7	Cinétique de croissance des souches en fonction de temps et de concentration en extrait aqueux chaud de <i>Curcuma Longa</i>	31
8	Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différente concentration en extrait aqueux froid	33
9	Vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différente concentration en extrait aqueux chaud	34
10	Détermination de diamètre mycélien final des souches étudiées en extrait aqueux froid	34
11	Détermination de diamètre mycélien final des souches étudiées en extrait aqueux chaud	35
12	Taux d'inhibition des souches fongiques en fonction de la concentration d'extrait aqueux froid	36
13	Taux d'inhibition des souches fongiques en fonction de la concentration d'extrait aqueux chaud	37
14	Taux d'inhibition de la production de spores sous l'effet de l'extrait aqueux froid	38
15	Taux d'inhibition de la production de spores sous l'effet de l'extrait aqueux chaud	39
16	Taux d'inhibition de germination de spores sous l'effet de l'extrait aqueux froid	40
17	Taux d'inhibition de germination de spores sous l'effet de l'extrait aqueux chaud	41

## Liste des tableaux

<b>N° Tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
1	Paramètres physiques caractérisant les extraits aqueux de <i>Curcuma Longa</i>	25
2	Tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux de <i>Curcuma Longa</i>	26
3	L'effet de l'extrait aqueux froid de <i>Curcuma Longa</i> de différentes concentrations sur les souches testées.	27
4	L'effet de l'extrait aqueux chaud de <i>Curcuma Longa</i> de différentes concentrations sur les souches testées	28

## Liste des annexes

<b>N° de l'annexe</b>	<b>Titre de l'annexe</b>	<b>Page</b>
1	Composition du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)	53
2	Extraits aqueux de curcuma froid/chaud	53
3	Criblage de tests Phytochimique	53
4	Inhibition de la sporulation	54

## Liste des photos

<b>Photo</b>	<b>Titre de photo</b>	<b>Page</b>
1	Aspect de la partie aérienne	11
2	Rhizome curcuma	13



## Table des matières

Introduction .....	1
--------------------	---

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur le blé dur .....	4
I.1.1. Blé dur et facteurs d'altération .....	4
I.1.1.2. Description du blé dur variété simeto (sersou) .....	4
I.1.1.3. Structure du grain de blé dur .....	5
I.1.1.4. Stockage de blé dur.....	6
I.1.1.5. Utilisation du blé dur.....	7
I.1.1.6. Facteurs d'altération de blé dur.....	7
I.1.1.7. Utilisation des conservateurs chimiques.....	8
I.2. Généralités sur le curcuma .....	9
I.2.1. Description morphologique.....	9
I.2.2. Origine et répartition géographique .....	9
I.2.3. Classification botanique .....	10
I.2.4. Utilisation du rhizome de curcuma .....	10
I.2.5. Composition chimique.....	11

### Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétale .....	13
II.1.1. <i>Curcuma Longa</i> .....	13
II.1.1.2. Description de rhizome de curcuma .....	13
II.2. Matériel fongique .....	14
II.3. Activation des souches .....	19
II.4. Préparation de la suspension sporale .....	19
II.5. Préparation des extraits aqueux .....	14
II.5.1. Préparation de l'épice (le curcuma) .....	14
II.5.2. Extrait aqueux froid.....	14
II.5.3. Extrait aqueux chaud.....	15
II.5.4. Analyses physiques des extraits aqueux.....	16

a. Mesure du pH.....	16
b. Mesure du conductivités électriques.....	16
c. Indice de réfraction.....	16
II.5.5. Détermination du rendement des extraits secs.....	17
II.6. Tests phytochimiques des extraits aqueux.....	17
II.7. Essais d'activité antifongique des extraits aqueux froid et chaud.....	19
II.7.1. Souches fongiques testées .....	19
II.7.2. Préparation des différentes concentrations des extraits aqueux chaud et froid ...	19
II.7.3. Paramètres étudiés .....	21
II.7.3.1. Croissance radiale .....	21
II.7.3.2. Test production de spores .....	22
II.7.3.3. Test germination de spore .....	22
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1. Résultat.....	26
III.1.1. Paramètres physiques des extraits aqueux.....	26
III.1.2. Tests phytochimiques .....	27
III.1.3. L'effet de l'extrait aqueux froid de <i>Curcuma Longa</i> de différentes concentrations sur les souches testées.....	28
III.1.4. L'effet de l'extrait aqueux chaud de <i>Curcuma Longa</i> de différentes concentrations sur les souches testées.....	29
III.1.5. Activité Antifongique des extraits aqueux.....	29
III.1.5.1. Effet de différentes concentrations d'extrait aqueux froid sur la cinétique de croissance mycélienne .....	29
III.1.5.2. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC) .....	34
III.1.5.2. Détermination du diamètre final (D) .....	35
III.1.5.3. Taux d'inhibition (TI) .....	37
III.1.6. Production de spores (TS).....	39
III.1.7. Germination de spores (TG).....	39
III.2. Discussion .....	43
Conclusion.....	47
Références bibliographiques .....	49
Annexe .....	54

# *Introduction*

## **Introduction**

La protection des cultures joue un rôle essentiel pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments en évidence que les maladies sont probablement la plus grande contrainte à augmenter la production et le rendement globale de la récolte et un du facteur majeur qui limite leur qualité (**MORCIA et al., 2015**).

Malheureusement, les céréales peuvent être contaminé par de nombreux pathogènes fongique, tel que *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Fusarium* ; l'origine de cette contamination est difficile de préciser (champ, transport, lieu de stockage ...) (**BENOUAER, 2015**).

Selon **MOLINIE et PFOHL-LESZKOWICZ (2013)**, l'origine est mal connue, mais les spores disséminées par l'air peuvent provenir du champ ou de la poussière présente dans les infrastructures de stockage.

Depuis la récolte jusqu'au son arrivé au stockage, plusieurs paramètres doivent être pris en compte tels que les moyens de transport, les conditions de stockage, le lieu de stockage, le nettoyage des grains, les traitements effectués au niveau des silos et enfin la durée de stockage. En général, la précaution doit être toujours maintenue et la démarche assurance qualité doit être suspectée lors de toutes les étapes de la production céréalières depuis la récolte jusqu'au produit fini et surtout au niveau du stockage, la phase la plus sensible et la plus longue favorisant le développement des champignons (**GASEM, 2011**).

Plus de 150 espèces des moisissures et des levures filamenteux ont été rendu compte dans les graines de céréales. La plupart des moisissures sont trouvés probablement sur les graines de céréales comme contaminants extérieures (**CHRISTENSEN, 1982**).

Face à cette contamination, des produits chimiques ont été employés pour empêcher la croissance fongique (**PHATTEYKORN et WANCHAITANAWONG, 2009**).

De même, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle a incité la recherche, le développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes (**BOUGUERRA, 2012**).

La recherche de nouvelles stratégies de prévention contre les infections et les maladies d'origine fongique, comporte un intérêt majeur, d'une part pour la sécurité sanitaire des aliments et la santé du consommateur et d'autre part, pour la protection de l'économie du pays (**GASEM, 2011**).

L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence de l'efficacité des extraits aqueux chaud et froid de l'épice « curcuma » sur la croissance et l'activité antifongique sur certains champignons toxigéniques responsable de l'altération des grains de blé dur stocké en poste récolte vase à mettre au point comme substances naturelles alternatives à la lutte chimique utilisée en agriculture.

Cette étude est structurée en deux parties ; la première partie est consacrée aux rappels bibliographiques sur le blé dur stocké et leurs facteurs d'altération, suivi d'une description botanique, classification systématique et l'utilisation traditionnel de l'épice sélectionnée « Curcuma ». La deuxième partie décrit les matériels et les méthodes réalisés pour l'extraction des extraits aqueux froid et chaud et leurs test phytochimique, et l'évaluation de leurs activités antifongiques sur les moisissures contaminants le blé dur stocké et présentation des résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

## **I.1. Généralités sur le blé dur**

### **I.1.1. Blé dur et facteurs d'altération**

#### **I.1.1.1. Définition de blé**

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, botaniquement parlant, à la famille des poacées dont les graines présentent par leur abondance et leur composition un intérêt majeur pour l'alimentation de l'Homme et des animaux (**REED, 1992**).

Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées sont : le blé, le maïs et l'orge (**REED, 1992**).

Le blé dur est une plante annuelle, monocotylédone, appartenant à la famille des *Poacées* (**FEILLET, 2000**).

Le choix de conditions convenables d'entreposage des graines de céréales pendant des périodes prolongées revêt une grande importance économique ; cela est particulièrement vrai dans les régions sous-développées, ou il n'est pas rare de perdre près de 30% de la récolte du fait des rongeurs, des insectes et d'autres facteurs de détérioration (**DRUVEFORS, 2004**).

De mauvaises conditions d'entreposage peuvent provoquer divers phénomènes indésirables. La germination, qui peut intervenir une fois terminée la période de dormance, entraîne une protéolyse et une amylolyse défavorable en panification. La prolifération de moisissures provoque non seulement une hydrolyse de glycolipides et de phospholipides, mais peut donner lieu aussi à la formation de mycotoxines (**CHEFTEL et CHEFTEL, 1977**).

#### **I.1.1.2. Description du blé dur variété simeto (sersou)**

**Origine :** Italie

**Année d'inscription :** 2001

**Pedigree :** capeti × valvona

**Caractéristique agronomique :** rendement élevé

**Caractéristique technologique :** cette variété à une qualité semoulière très bonne et la teneur en protéine est 15.80%

### I.1.1.3. Structure du grain de blé dur

#### a. Grain de blé

Le grain de blé se présente sous la forme d'un corps ovoïde dont les deux extrémités sont inégales, et qui offre sur l'une de ses faces un sillon. Sur la face dorsale de l'une des extrémités se trouve une légère dépression. Les membranes qui recouvrent le grain en ce point sont plus fines, plus blanches et plissées. Cette dépression, qui est plus ou moins étendue suivant les variétés de blé, correspond à l'embryon. A l'autre extrémité du grain se trouvent des poils plus ou moins nombreux et plus ou moins longs. Ces poils constituent la brosse (DECHAMBRE, 1874).

#### b. Structure du grain de blé

Le grain de blé (figure 01) est formé de trois parties distinctes : les enveloppes, l'albumen, et le germe (SMITH et HUI, 2004).

- **Enveloppes de la graine et du fruit :**

Les enveloppes représentent 13 à 17 % du poids du grain de blé, contiennent des quantités relativement élevées de cellulose, de protéines et de minéraux (AMENDOLA et REES, 2003).

Elles sont d'épaisseur variable et sont formées de tissus différents : Le péricarpe, le tégument séminal (testa) et les cellules nucellaires ou épiderme du nucelle.

- **Albumen :**

Il représente 80 % du grain de blé (ROUDAUT et LEFRANCQ, 2005). L'albumen constitue la réserve de stockage de la plante nécessaire pour la germination jusqu'à ce qu'elle émerge du sol et en mesure de commencer la photosynthèse (SALMAN et al., 2007).

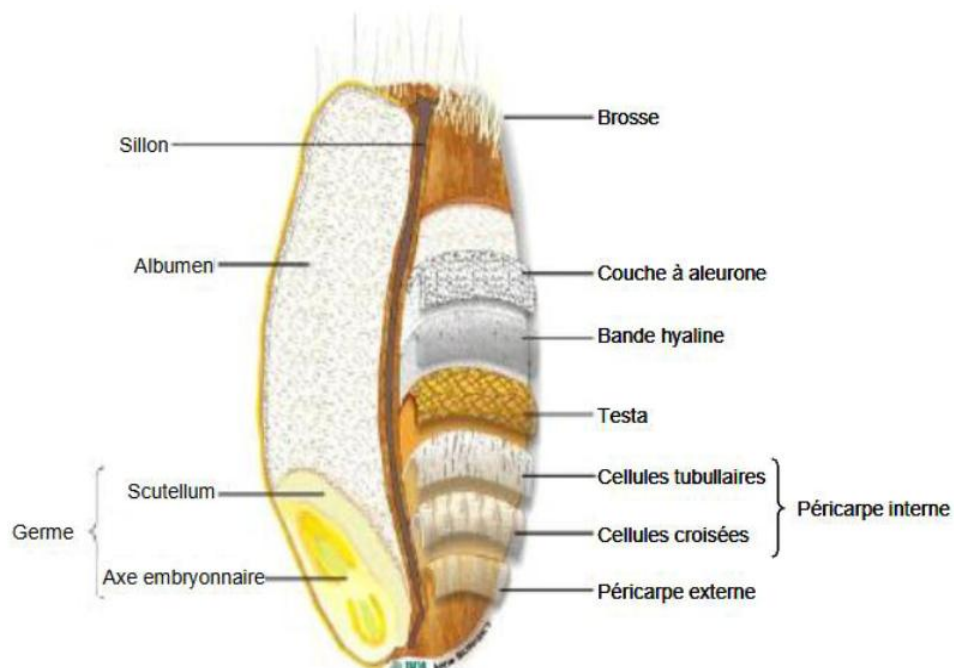
Il se compose d'un mélange intime de protéines et d'amidon. Les protéines sont présentes sous forme de particules discrètes et comme un matériel interstitiel. Différentes protéines sont présentes dans l'albumen mais les quatre principaux groupes des protéines sont les gliadines, les glutamines, les albumines et les globulines (CAUVAIN, 2003).

L'albumen est constitué de deux tissus bien distincts : la couche à aleurone et l'albumen amylic plus interne. La couche à aleurone, riche en protéines et en lipides, renferme en outre d'importantes quantités de micronutriments (minéraux).



- Germe :

Le germe est partiellement incorporé dans l'albumen. Il est situé à la base du grain (**CHICHESTER et STEWART, 1977**). Cette partie est composée d'un embryon (lui-même formé de la coléoptile de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum. Le germe est très riche en matières grasses, en matières azotées et en vitamines E et B (**SOLTNER, 1987**).



**Figure 01** : Structure histologique du grain de blé à maturité (**SURGET et BARRON, 2005**).

#### I.1.1.4. Stockage de blé dur

Les grains stockés sont utilisés pour la consommation durant l'année, ou comme des semences en attendant la saison suivante (**DRUVEFORS, 2004**).

Leur stockage est une opération complexe qui demande la prise en compte de multiples paramètres (température, humidité, etc.) lors des différentes étapes, entre la récolte et l'expédition (**ZOUAOUI, 2011**). Plus l'humidité des grains est importante à la récolte, plus les conditions sont favorables au développement des microorganismes.

De bonnes pratiques de conservation consistent à éviter son altération en contrôlant les principaux facteurs de détérioration (**MOLINIE et al., 2005**).

#### **I.1.1.5. Utilisation du blé dur**

Il est utilisé dans différentes parties du monde pour plusieurs produits alimentaires tels que les pâtes, le couscous, les pains sans levain...etc. (**NACHIT, 1992**).

Le blé dur est la seule espèce tétraploïde de blé d'importance commerciale qui est aujourd'hui largement cultivée, il renferme une forte teneur en protéines (13%). Cette espèce est utilisée d'une part par les semouleries et les industries de pâtes alimentaires et d'autre part, pour en faire des aliments pour les animaux (**DURON, 1999**).

#### **I.1.1.6. Facteurs d'altération de blé dur**

##### **a. Altération par les moisissures**

Le stockage des céréales pose de nombreux problèmes de conservation quant à la préservation de la qualité nutritionnelle, sanitaire et germinative des grains. Parmi les microorganismes qui attaquent les céréales au cours de leur stockage les moisissures qui sont des champignons microscopiques. Ce sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif « le thalle », est formé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Lorsque la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu qui se présente comme une sorte de feutrage à la surface colonisée (**NICKLIN et al., 2000**).

Les moisissures ne peuvent se développer que sur des substrats organiques car ils sont non photosynthétiques. La structure filamenteuse du thalle les rend particulièrement aptes à coloniser des substrats solides. En raison de leurs aptitudes écologiques et physiologiques, les moisissures sont de loin les microorganismes les plus redoutables pour les grains stockés (**MULTON, 1982**).

Les grains de céréale forment un excellent milieu de culture pour les moisissures (**MILLS, 1990**). Les moisissures constituent la cause essentielle des altérations d'origine microbienne dans les graines stockées, provoquant le brunissement et la mort des embryons. Les moisissures ont une activité lipolytique souvent importante et entraînent une augmentation de l'acidité.

Les espèces prédominantes dépendent de l'importance de la contamination initiale, de la composition chimique du grain et de la température des stocks. (**BOUDREAU et MENARD, 1992**).

Pendant le stockage, les céréales subissent généralement une perte de qualité, assurée par une infection des mycètes, des insectes et des acariens. Cette détérioration est caractérisée par une diminution de la germination, une décoloration, des changements chimiques et nutritionnels, un durcissement et de mauvais goûts qui ont comme conséquence le rejet du produit (MILLS, 1990).

Les mycotoxines sont produites par 5 genres de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Plusieurs sortes de mycotoxines peuvent se retrouver dans les denrées alimentaires (MILLER et TRENHOLM, 1994).

### **b. Mycotoxines**

Les mycotoxines sont des substances chimiques issues du métabolisme secondaire d'un certain nombre de moisissures qui se développe sur une large variété de denrées alimentaires (CASTEGNARO et al., 2002).

Certaines cultures sont moins favorables par rapport à d'autres pour la production d'une ou plusieurs mycotoxines par les champignons. Ceci est probablement dû à des facteurs génétiques. D'autres cultures comme les céréales offrent aux champignons de très bonnes conditions de développement vu leur richesse en glucides reconnus comme principales sources d'énergie (ZINEDINE, 2004).

La présence de moisissures ne signifie pas nécessairement la formation des mycotoxines, Il existe des souches produisant des mycotoxines et des souches qui n'en produisent pas ou peu (PFOHL-LESZKOWICZ, 1999).

La contamination fongique des plantes et la synthèse de toxines dépendent de conditions environnementales : état sanitaire de la plante précédant une récolte, conditions météorologiques, techniques de récolte, délais et conditions hydro-thermiques avant la stabilisation pour une bonne conservation (YIANNIKOURIS et JOUANY1, 2002).

#### **I.1.1.7. Utilisation des conservateurs chimiques**

La multiplication des micro-organismes dans les produits alimentaires entraîne des modifications indésirables de ces produits et les rend impropres à la consommation par altération du goût, de l'aspect et de l'odeur, sans forcément de risque sanitaire (OUDOT, 1999).

L'essor de la chimie a permis l'apparition et l'application de nouvelles substances chimiques en tant qu'additif conservateurs alimentaires synthétiques (MOLL, 1998).

Un additif conservateur est défini comme étant une substance non consommée normalement en tant que denrée alimentaire, que l'on incorpore à un aliment en vue d'accroître sa sécurité et sa stabilité microbiologique (**BOURGEOIS, 1992**).

Il s'agit en principe de substances capables de retarder ou d'arrêter la fermentation et l'acidification des aliments en inhibant la prolifération de micro-organismes (conservateurs proprement dites) ou d'empêcher des réactions chimiques dues à la présence d'oxygène (antioxydants), aussi ils ont été employés couramment pour empêcher la détérioration des aliments (**NAKAHARA et al., 2003**).

Par la suite, plusieurs conservateurs synthétiques ont été limités dans plusieurs pays, en raison de leurs effets toxicologiques indésirables à long terme, y compris la cancérogénicité (**HO et al., 2009 ; CHAHARDEHI et al., 2010**).

A cet effet, L'utilisation d'extraits de plantes naturelles fournit une occasion d'éviter les risques engendrés par les conservateurs chimique, donc la recherche de nouvelles sources naturelles de substances antifongiques pour une conservation alimentaire saine sera très recommandée (**SOLIMAN et BADEA, 2002 ; IRKIN et KORUKLUOGLU, 2007**).

Parmi les sources naturelles utilisés dans ce domaine de recherche « les plantes médicinales » et « les épices » qui ont prouvés déjà une grande activité biologique. Dans ce concept, notre étude sera basée sur l'utilisation d'un épice très utile qui est « le Curcuma ».

## **I.2. Généralités sur le curcuma**

### **I.2.1. Description morphologique**

*Curcuma longa* est une plante vivace atteignant un mètre, pérenne par son rhizome (**CHEIKH, 2012**). Les rhizomes représentent la partie consommée comme épice. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (**CHEIKH, 2012**). Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. À l'aisselle des quelles, naissent les fleurs de couleur blanche ou jaunâtre (**BOULLARD, 2001**). Le fruit, rarement produit, est une capsule à trois loges, contenant de nombreuses graines arillées (figure 2) (**CHEIKH, 2012**).

### **I.2.2. Origine et répartition géographique**

Cette plante est cultivée et utilisée dans nombreux pays tropicaux, ou elle est réputée pour conserver la fraîcheur, la saveur et les qualités nutritives des aliments. Ce que l'on traduit en langage moderne : bactéricide et antioxydant (**FAIVRE, 2007**).

Le curcuma fait l'objet de cultures importantes aux Indes, au Sri-Lanka, en Indonésie, en Chine mais aussi dans Caraïbe et certaines îles du Pacifique où il est très prisé comme épice en cuisine et aussi en médecine traditionnelle (HURTEL, 2007).

### I.2.3. Classification botanique

**Règne :** Plantae

**Classe :** Liliopsida (Monocotylédones)

**Ordre :** Scitaminales ou zingibérales (FAIVRE *et al.*, 2006).

**Famille :** Zingibéracées.

**Genre :** Curcuma

**Espèce :** *Curcuma longa* (WICHTL *et ANTON*, 2003).

**Nom commun :** Curcuma

### I.2.4. Utilisation du rhizome de curcuma

Le rhizome est la partie utilisée de la plante. Le rhizome réduit en poudre est utilisé tant qu'épice alimentaire pour renforcer la saveur des aliments et les conserver, et comme colorant des aliments et des textiles. Cependant, on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise. La poudre a une saveur poivrée et amère (MENAA, 2015).

Le curcuma fait l'objet de multitude de préparations thérapeutiques (HOMBOURGER, 2010). C'est un traitement efficace pour diverses affections respiratoires ainsi que les troubles hépatiques, l'anorexie, les rhumatismes, les rhumes, les sinusites (ARAUJO *et al.*, 2001). Par exemple, dans la tribu Jaintia au Nord-Est de l'Inde, des pilules fabriquées à partir de rhizome écrasé sont prises avant les repas pour contrecarrer la dyspepsie (SAJEM *et al.*, 2006).

En médecine traditionnelle chinoise, le curcuma est utilisé pour traiter les maladies associées aux douleurs abdominales (ARAUJO *et al.*, 2001).

A travers l'Orient, il est utilisé comme anti-inflammatoire. Des enquêtes ont montré également que le cancer du côlon est beaucoup moins fréquent dans les pays où l'on consomme beaucoup de curcuma (HOMBOURGER, 2010).



**Photo 1** : A. aspect de la partie aérienne (SHIYOU, 2011). B. Rhizome frais de *Curcuma longa*

### I.2.5. Composition chimique

Une portion de 100 g en curcuma, fournit une énergie de 354 kcal. Comme elle renferme 11,4 g de l'eau, 7,8g de protéine, 9,9g de lipide, 64,9 g de glucides dont l'amidon représente 45 à 55% de la composition totale des glucides. Elle renferme également 21,1g de fibres alimentaires 183 mg de calcium, 193 mg de magnésium, 268 mg de phosphore, 41,4 mg de fer, des traces en vitamine A, 0,15 mg de thiamine, 0,23 mg de riboflavine, 5,14 mg de niacine, 39 mg de folate, 25,9 mg de l'acide ascorbique et 44 mg de zinc (JANSEN et al., 2005).

L'huile essentielle de curcuma qui représente de 3 à 5 %, est riche en sesquiterpènes, zingiberène et turmérone. Comme il renferme des principes amers, résine, et des composés phénoliques dérivés de l'acide caféique. L'extraction du rhizome à l'alcool éthylique, à l'acétone ou au chlorure de méthylène donne 6 à 10% d'oléorésine, qui contient 35 à 45% de curcumine et de ses dérivés, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine, connues sous le nom collectif de curcuminoïdes. Ces composés donnent au curcuma sa couleur jaune orangé, alors que l'huile essentielle lui confère son arôme et sa saveur typiques (JANSEN et al.,2005).

# *Chapitre II*

## *Matériel et méthodes*

Ce travail a pour objectif d'étudier l'activité antifongique des extraits aqueux froid et chaud de curcuma en vue de leur utilisation comme alternatifs de fongicides chimiques dans les structures de stockage de blé dur.

## **II.1. Matériel biologique**

### **II.1.1. Matériel végétale**

Notre étude est portée sur les rhizomes de *Curcuma longa*.



**Photo 2 :** Rhizome de *Curcuma longa*

#### **II.1.1. *Curcuma longa***

Le curcuma est une plante herbacée vivace (FAIVRE, 2007), originaire d'Asie tropicale, d'Afrique et des Antilles (WICHTEL et ANTON, 2007).

##### **II.1.1.1. Origine de rhizome de curcuma utilisé**

Le curcuma a été acheté d'un herboriste de la région de Touggourt. Lors de l'achat on s'est basé dans son choix sur l'odeur forte et de la couleur éclatante caractéristique de Curcuma.

##### **II.1.1.2. Description de rhizome de curcuma**

A la mise en place de la culture, la germination des plants de *Curcuma* est achevée en deux à quatre semaines ; après quoi intervient une période de croissance végétative active. La floraison et le développement des rhizomes débutent environ cinq mois après la plantation (JANSEN et al., 2005).

Les rhizomes continuent de se développer activement pendant à peu près sept à dix mois en fonction du cultivar et des conditions climatiques ; puis les feuilles inférieures jaunissent et la récolte est prête à être arrachée (JANSEN et al., 2005).



**II.1.2. Souches fongique**

Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité biologique de l'extraits aqueux chaud et froid de la cannelle ont été isolées à partir du blé dur stockée, par **KEMASSI et AZOUZI (2017)**. Les souches ont été isolées, purifiées (sur le milieu de culture PDA) et identifiées (L'identification des isolats se fait sur différents milieux de culture). Il s'agit d'*Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus terreus*.

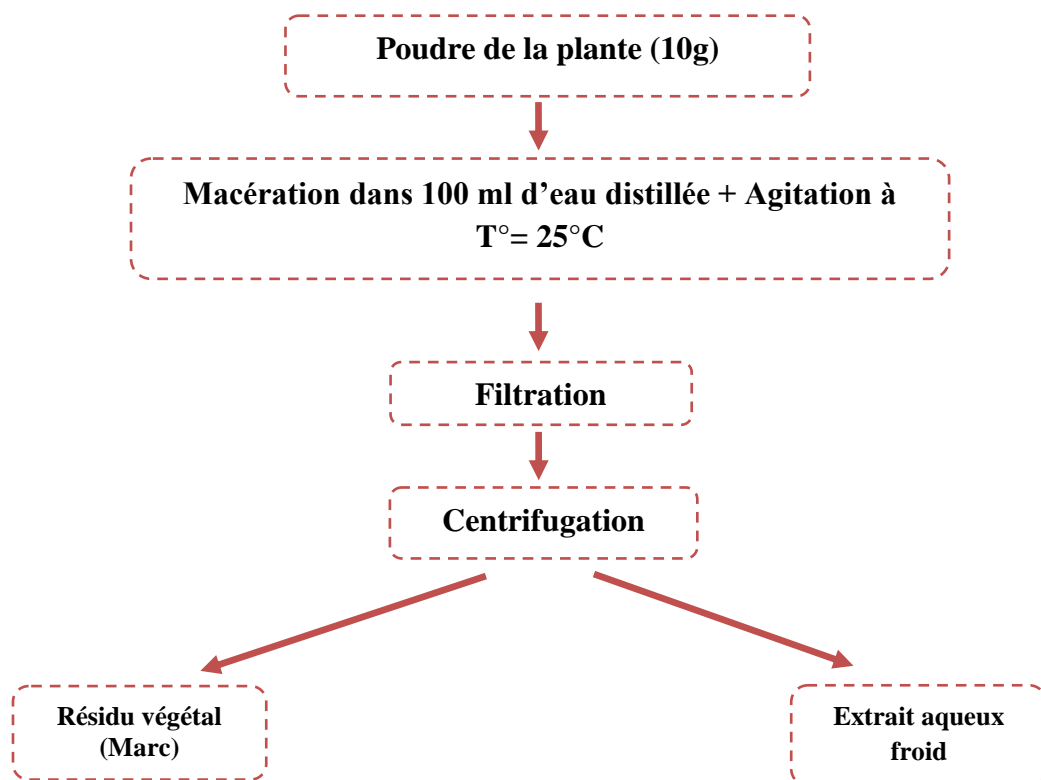
**II.2.Méthodologie****II.2.1.Préparation des extraits aqueux****II.2.2.Préparation de l'épice (le curcuma)**

L'épice à utiliser (le rhizome de curcuma) est nettoyé, lavé rapidement dans l'eau de robinet puis dans de l'eau distillé et on le dépose dans un endroit aéré pour s'asséchés. Après séchage l'épice est broyée grossièrement dans un mortier.

**II.2.3. Extrait aqueux froid**

Après le séchage et le broyage de l'épice on procède à la macération pendant 24 heures ; où une quantité de 10 g de curcuma est prise dans un Erlenmeyer, à laquelle nous avons ajouté 100 ml d'eau distillé stérile à température ambiante. Après 24 heures, on faire une agitation (200 rpm /min) pendant 2 heures à une température de 25°C (**RAZAK et al., 2009**). Le mélange est filtré sur papier filtre Wattman et ensuite centrifugé à 3000 t/min pendant 20 min.

On récupère le surnageant et on procède à une micro filtration à l'aide d'un micro-filtre de 0,22 µm pour sa stérilisation. Cet extrait obtenu est conservé dans un flacon stérile à 4°C à l'abri de la lumière (figure 2).



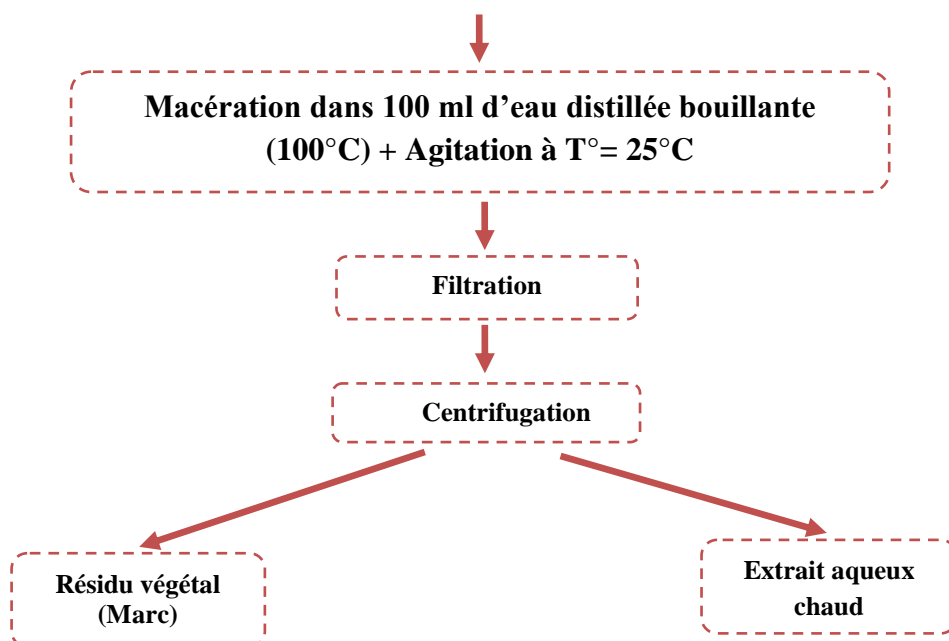
**Figure 2 :** Les étapes de préparation de l'extrait aqueux froid

#### II.5.4. Extrait aqueux chaud

Une quantité de 10 g de curcuma est prise dans un Erlenmeyer, à laquelle nous avons ajouté 100 ml d'eau distillé stérile bouillante à 100 °C. Après environ 24 heures de macération sous agitation continuant à 200 rpm/min, le mélange est filtré sur papier filtre Wattman N° 01, ensuite centrifugé à 3600 t/min pendant 20 min. On récupère le surnageant et on procède à une micro filtration à l'aide d'un micro-filtre de 0,22 µm pour sa stérilisation.

Cet extrait obtenu est conservé dans un flacon stérile à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leurs utilisations (Figure 03).

Poudre de la plante (10g)



**Figure 3 :** Les étapes de préparation de l'extrait aqueux chaud

### II.5.5. Analyses physiques des extraits aqueux

#### a. Mesure du pH

Pour l'estimation de l'acidité ou l'alcalinité des extraits aqueux chaud et froid obtenus, la mesure du pH est réalisée à l'aide du pH mètre.

#### b. Mesure du conductivités électriques

La mesure de la conductivité électrique des extraits aqueux chaud et froid obtenus est réalisée à l'aide du conductimètre.

#### c. Indice de réfraction

L'indice de réfraction des extraits aqueux chaud et froid du curcuma est obtenu par la réalisation du rapport entre le sinus de l'angle incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant par l'air dans l'extrait aqueux maintenue à une température constante. Cet indice est déterminé par une lecture directe à l'aide d'un réfractomètre classique.

### II.5.5. Détermination du rendement des extraits secs

Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir de la poudre végétale. Il est exprimé en pourcentage ou sans unité. En pratique, on a fait le rapport de la masse de l'extrait sur la masse de la poudre végétale qui a servi pour l'extraction qu'on a multiplié par 100. Ceci se traduit par la formule suivante :

$$r = (m \times 100) / M$$

(**r** : rendement d'extraction ; **m** : masse de l'extrait ; **M** : masse de la poudre végétale )  
(DJENEBA *et al.*, 2016).

### II.6. Tests phytochimiques des extraits aqueux

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux groupes : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

#### a. Détection des polyphénols

##### a.1. Détection des tanins

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub> (1% préparé au méthanol). Après agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (KARUMI *et al.*, 2004).

##### a.2. Détection des coumarines

Les coumarines sont révélées à partir de 5 ml d'extrait placé dans un tube porté à ébullition jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 ml, ce volume est ajouté à 1ml d'eau chaude. Après l'agitation, le volume total est divisé en deux volumes, l'un sert de témoin et l'autre est ajouté à 0.5ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis examiné sous lampe UV. L'émission de la fluorescence indique la présence des coumarines (BRUNETON, 1999).

### **a.3. Détection des anthocyanes**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5 ml d'extrait dans un tube auquel on ajoute 15 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à (10%) (milieu acide), après agitation, le mélange est ajouté à 5 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  à (10%) (milieu basique). La présence d'anthocyanes est affirmée par une coloration bleu-violacée en milieu basique (BRUNETON, 1999).

### **a.4. Détection des flavonoïdes**

Un mélange de quelques gouttes de  $\text{Mg}^{2+}$  et de gouttes d'HCL concentré et  $\text{FeCl}_3$ , placé dans un tube, est ajouté à 2 ml d'extrait. L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes (MALEC et PAMELIO, 2003).

### **a.5. Détection des anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, 10 ml d'extrait sont ajoutés à 5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinone (OLOYEDE, 2005).

### **a.6. Détection des Saponosides**

Pour la détection des saponosides, 10 ml d'extrait placé dans un tube à essais sont agités pendant 15 secondes puis déposés durant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (KOFFI *et al.*, 2009).

## **b. Détection des terpènes**

### **b.1 Détection des stéroïdes**

Les stéroïdes sont révélés après addition de 5 ml d'anhydride acétique à 5 ml d'extrait à chaud. Le mélange est ajouté à 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après agitation l'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, indique une réaction positive (BRUNETON, 1999).

## **c. Détection des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner. 10 ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0,2 ml, sur lequel 1,5 ml de HCl à (2%) sont ajoutés. Après agitation de la solution acide, 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer ou Wagner sont ajoutés. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes (MOJAB *et al.*, 2003).

Toutes les expériences des tests phytochimiques sont réalisées en triplicata pour vérifier la reproductibilité des résultats.

## **II.7. Essais d'activité antifongique des extraits aqueux froid et chaud**

### **II.7.1. Souches fongiques testées**

L'activité antifongique des extraits chaud et froid a été réalisée sur trois souches *A.ochraceus*, *A.niger* et *A.terreus*. Ces derniers vont être testée *in vitro* par la méthode du contact direct, sur milieu gélosé « PDA » pour déterminer les taux d'inhibition, en comparant leurs actions à diverses concentrations sur la croissance mycélienne.

### **II.3. Activation des souches**

Les souches fongiques isolées préalablement ont été conservés pendant une année en milieu solide PDA. L'activation des souches fongiques est effectuée par prélèvement d'un fragment mycélien pour faire un nouvel ensemencement sur le même milieu de culture sans agent sélectif (PDA). Ce fragment mycélien est ensemencé au centre de la boîte pour obtenir des souches actives après leurs incubations.

### **II.4. Préparation de la suspension sporale**

Pour la conservation des isolats on a préparé ainsi des suspensions sporales, Elle consiste en l'inoculation de quelques spores d'une culture jeune (de chaque espèce) dans des tubes d'Eppendorf contenant une suspension semi solide à base de 0,1% d'Agar et quelques gouttes de Tween 80 (PITT, 1973 ; RAMIREZ, 1982). A partir de cette suspension, on facilite la réalisation de la méthode de contact direct utilisé pour l'activité antifongique de nos extraits aqueux.

### **II.7.2. Préparation des différentes concentrations des extraits aqueux chaud et froid**

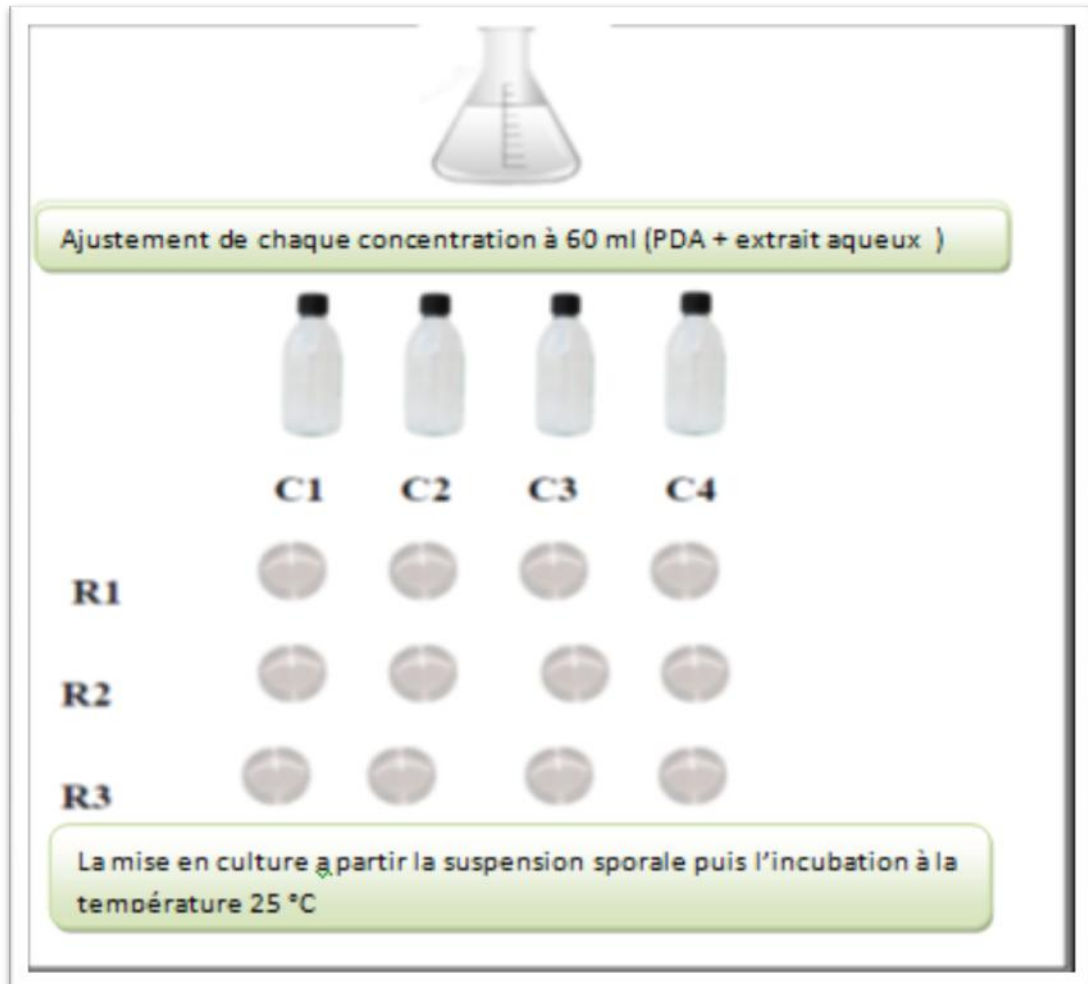
Nous avons préparé 04 concentrations d'extraits aqueux (Eq) ajustées à l'aide de milieu PDA, comme suit :

- \* **Concentration 1 (0%)** = 0ml Eq + 60 ml PDA.
- \* **Concentration 2 (20%)** = 12 ml Eq + 48 ml PDA.
- \* **Concentration 3 (25%)** = 15 ml Eq + 45 ml PDA.
- \* **Concentration 4 (30%)** = 18 ml Eq + 42 ml PDA

Les mélanges sont agités jusqu'à leur homogénéisation, puis coulés dans des boîtes Pétrie de (53 mm). Après solidification du milieu (PDA+ Eq), l'inoculation se fait par une suspension sporale, en mettant une goutte au centre de boîte à l'aide d'une micropipette a embout stérile.

Nous opérons de la même façon pour chaque champignon et chaque concentration d'extrait aqueux.

Les boîtes de pétri sont ensuite fermées hermétiquement par le parafilm et incubées à l'obscurité à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Chaque concentration d'extraits aqueux chaud et froid est répétée trois fois. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions d'obscurité et de température, se fait une observation quotidiennement.



**Figure 4 :** Protocole expérimentale des différentes concentrations des extraits aqueux de *Curcuma Longa*.

### II.7.3. Paramètres étudiés

Pour évaluer l'effet des extraits aqueux sur les souches testées nous avons choisis certains paramètres et critère macroscopique et microscopique tel que :

#### II.7.3.1. Croissance radiale

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions.

##### a. Cinétique de croissance mycélienne

La cinétique de la croissance mycélienne correspond aux variations dans le temps de diamètre mycélien sous l'effet des différentes concentrations d'extrait aqueux. La cinétique de croissance mycélienne a été évaluée toutes 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins dans les mêmes conditions.

##### b. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

Selon CAHAGNIER et MOLARD (1998), la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule suivante :

$$VC = [D1/Te1] + [(D2-D1) /Te2] + [(D3-D2) /Te3] +... + [(Dn-Dn-1) /Te$$

**D** = Diamètre de la zone de croissance du chaque jour (mm).

**Te** = Temps d'incubation (jour)

##### c. Détermination du diamètre final

La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience, à savoir au bout de l'arrêt de croissance de témoin ou le témoin remplit la boîte de Pétré, en mesurant la moyenne de trois diamètres sans prendre en compte le diamètre du disque. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins ayant démarré le même jour et dans les mêmes conditions.



#### d. Taux d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons testés est calculé selon la formule suivante (LEROUX *et al.*, 1978) :

$$Ic (\%) = (D0 - Dc) / D0 \times 100$$

**D0** : étant la croissance diamétrale du témoin

**Dc** ; la croissance diamétrale du champignon en présence d'une concentration (c) du fongicide.

#### II.7.3.2. Test production de spore

La méthode utilisée pour détection de l'inhibition de sporulation est la méthode de LEROUX *et al.*, (1978) : premièrement il faut prélever un disque fongique à partir de centre de la colonie de chaque boites Pétri puis à l'aide des embouts stériles, on va transférer le disque dans un Eppendorf contenant 1 ml d'eau physiologique stérile, on agite pendant 10 min pour déloger les spores. Le nombre de spores a été déterminé à l'aide d'une cellule de Malassez. Unité de concentration sera (spore/ml). Le pourcentage de réduction de la sporulation provoquée par les extraits aqueux chaud et froids de curcuma a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$Is = (No - N) / No \times 100$$

**No** : le nombre moyen de spores estimé chez le témoin

**N** : le nombre moyen de spores estimé en présence de l'extrait

#### II.7.3.3. Test germination de spore

Pour tester l'inhibition de la germination des spores par 20% et 50% des extraits aqueux de curcuma, la méthode a été réalisé selon MLAIKI (1970) avec modification :

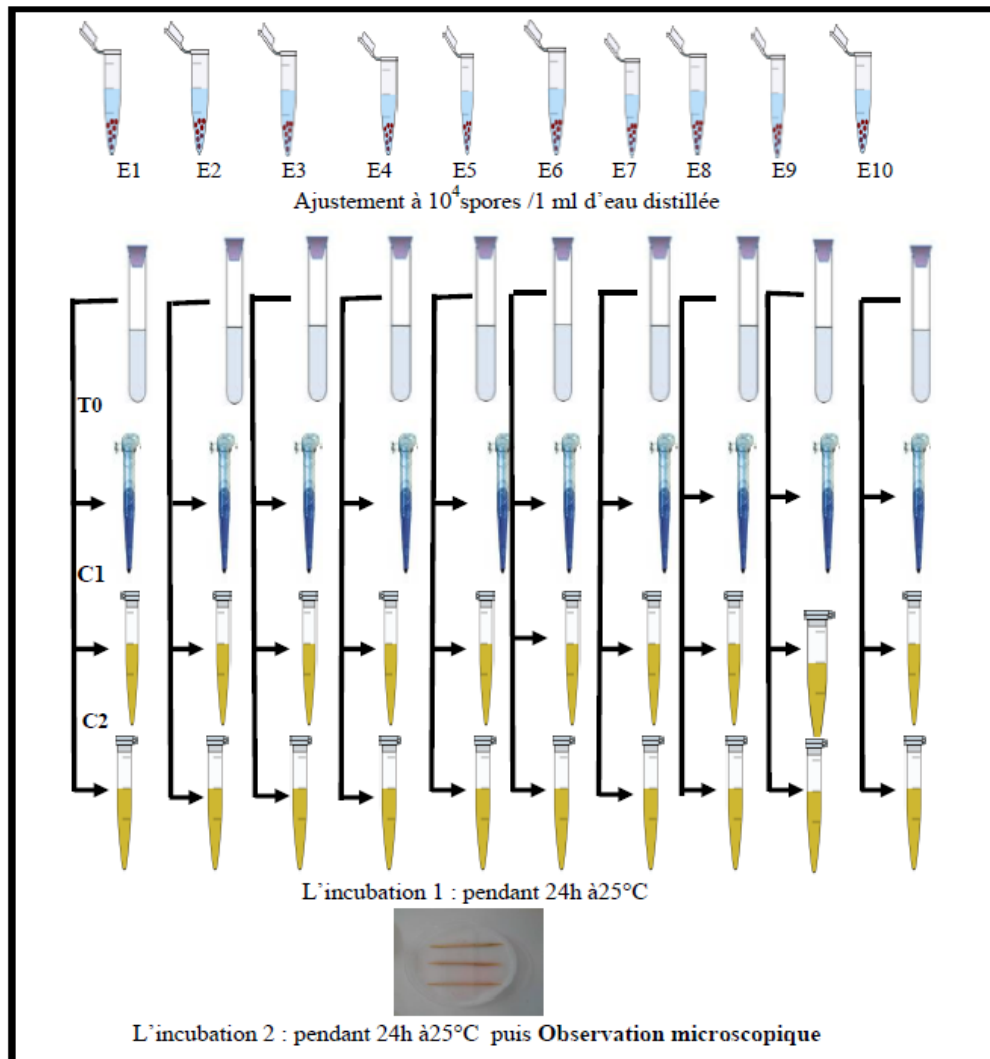
La suspension sporale témoin récoltée de test précédant est ajustée par dilution à  $10^4$  spores / ml avec d'eau distillée. Puis dans des tubes d'Eppendorf on met 300  $\mu$ l de suspension sporale avec 300  $\mu$ l de l'extrait aqueux, On a préparé deux concentrations 40% et 100% pour avoir après ce mélange les concentrations 20% et 50% de test, Le témoin contient 300  $\mu$ l

d'eau distillée stérile et 300 µl de suspension sporale, l'incubation est pendant 24 heures dans 25°C.

L'étape suivante consiste à étaler 50 µl de chaque Eppendorf sur des lames recouvertes par un milieu à base d'extrait de malt (15 g d'extrait de malt, 15 g d'agar, compléter à 1 l avec de l'eau distillée). L'incubation se fait à 25°C et à l'obscurité pendant 24 heures. Le comptage des spores, germées ou non germées est déterminé sous microscope. Une spore est considérée germée si la longueur du tube germinatif est supérieure à plus petit diamètre de spores (MLAIKI,1970).

On compare le pourcentage de germination pour chaque concentration par la formule suivante (AMADI et al., 2014) :

$$\text{(Nombre de spore germé / nombre total des spore) x 100}$$



**Figure 05** : détermination de l'inhibition de la germination des spores

# *Chapitre III*

## *Résultats et discussion*

## III.1. Résultat

## III.1.1. Paramètres physiques des extraits aqueux

Tableau 01 : Paramètres physiques caractérisant les extraits aqueux de *Curcuma Longa*

Eq \ Param	pH	Conductivité électrique (ms/cm)	Indice de réfraction	Rendement en (%)
Extraits aqueux froid	5.56	05.6	1,511	12.10
Extraits aqueux chaud	5.86	06.0	1,511	11.70

A partir de tableau ci-dessus on remarque que le pH est acide et il y a aucune différence dans toutes les paramètres dans les deux extraits aqueux chaud et froid sauf qu'aux rendements qui on obtient la valeur élevée dans l'extraits aqueux froid de 12.10 % par rapport à celui d'extrait aqueux chaud qui n'est que de 11.70%.

### III.1.2. Tests phytochimiques

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur les extraits constitués à partir de la poudre de l'échantillon végétale étudiée.

**Tableau 02** : Tests phytochimiques effectués sur les extraits aqueux de *Curcuma Longa*.

Groupes chimiques	Extraits aqueux	
	Froid	Chaud
Flavonoïdes	(+)	(+)
Stéroïdes	(+)	(+)
Alcaloïdes	(+)	(+)
Tanins	(+)	(+)
Coumarines	(+)	(+)
Saponosides	(-)	(-)
Anthocyanes	(-)	(-)
Anthraquinones	(+)	(+)

(-) : Absence

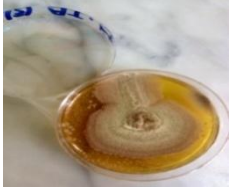

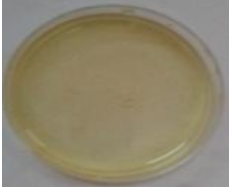
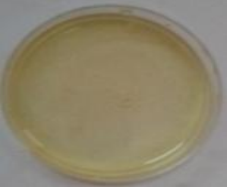
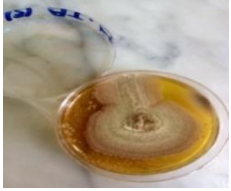
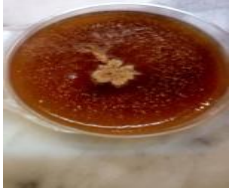
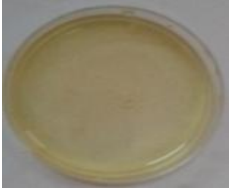
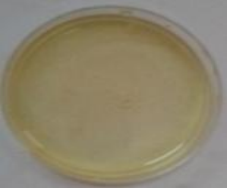
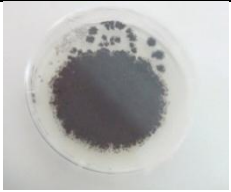
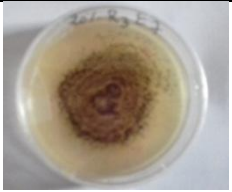

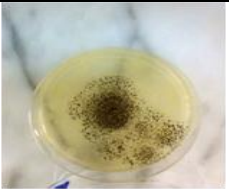
(+) : Présence

Les résultats obtenus révèlent que les deux extraits aqueux (Froid et Chaud) possèdent presque la même composition chimique. La caractérisation chimique de ces deux extraits aqueux a démontré la présence des polyphénols sous forme de flavonoïdes (Tableau 03).

Les résultats de ce criblage phytochimiques indiquent aussi la présence des Tanins, Coumarines, stéroïdes, Alcaloïdes et Anthraquinones, avec l'absence de anthocyanes et saponosides dans la composition des deux extraits aqueux.

### III.1.3. L'effet de l'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa* de différentes concentrations sur les souches testées.

**Tableau 03 :** Réaction des souches fongiques testées vis-à-vis l'extraits aqueux froid de *Curcuma Longa* en différentes concentrations

	T%	20%	25%	30%
<i>A. ochraceus</i>				
<i>A. terreus</i>				
<i>A. niger</i>				



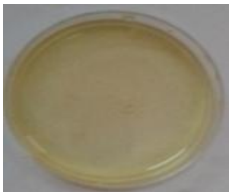
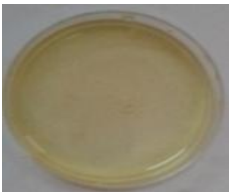
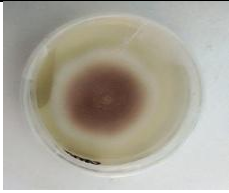
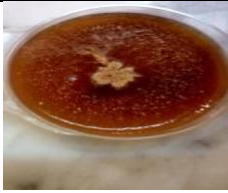
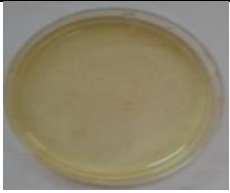
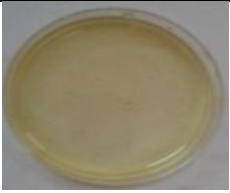
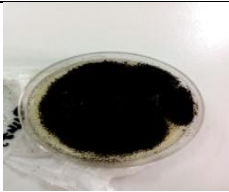
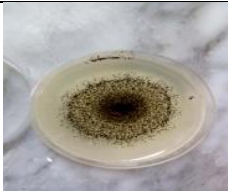
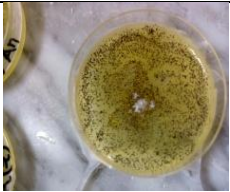
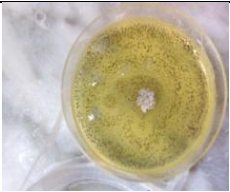
Le tableau 03 représente l'effet de l'extrait aqueux froid sur la morphologie des souches examinées au cours de temps d'incubation (10j). D'après les résultats obtenus, on remarque que la réponse des espèces sur l'extrait aqueux est variée d'une espèce à l'autre et d'une concentration à l'autre.

A la concentration minimale (20%) de cet extrait, on remarque que la croissance mycélienne pour les souches *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus terreus* est faible par rapport au témoin. Par contre, aux concentrations maximales (25 % et 30%) on remarque une inhibition totale de leurs croissances. Sauf *A.niger* qui a résisté à l'extrait aqueux froid utilisé

dans les différentes concentrations (20%.25%.30%). Donc de même *A. niger* est la seule espèce adaptée à la forte concentration de cet extrait.

### III.1.4. L'effet de l'extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa* de différentes concentrations sur les souches testées

**Tableau 04** : Réaction des souches fongiques testées vis-à-vis l'extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa* en différentes concentrations

	T%	20%	25%	30%
<i>A. ochraceus</i>				
<i>A. terreus</i>				
<i>A. niger</i>				

Le tableau 04 représente l'effet de l'extrait aqueux chaud sur la morphologie des souches examinées au cours de temps d'incubation (10j). D'après les résultats obtenus, on remarque que la réponse des espèces sur l'extrait aqueux est variée d'une espèce à l'autre et d'une concentration à l'autre.

Comme dans l'extrait aqueux froid de cette épice, l'utilisation de l'extrait aqueux chaud nous permettons d'observer les mêmes remarques ; A la concentration minimale (20%) de cet extrait, on remarque que la croissance mycélienne pour les souches *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus terreus* est faible par rapport au témoin. Par contre, aux concentrations maximales (25 % et 30%) on remarque une inhibition totale de leurs croissances. Sauf *A.niger* qui a résisté à l'extrait aqueux chaud utilisé dans les différentes concentrations (20%.25%.30%). Donc *A. niger* est la seule espèce adaptée à la forte concentration de cet extrait aussi.

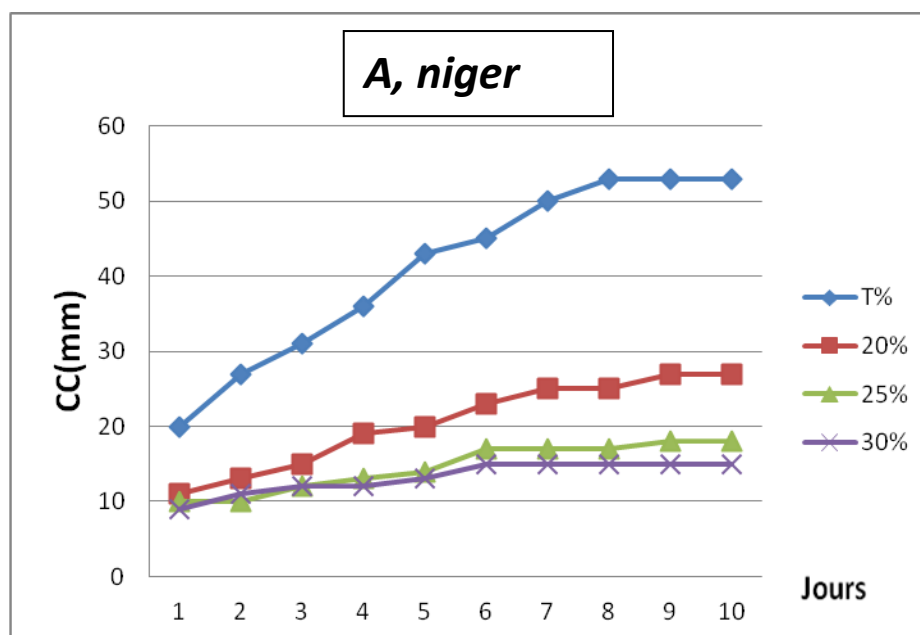
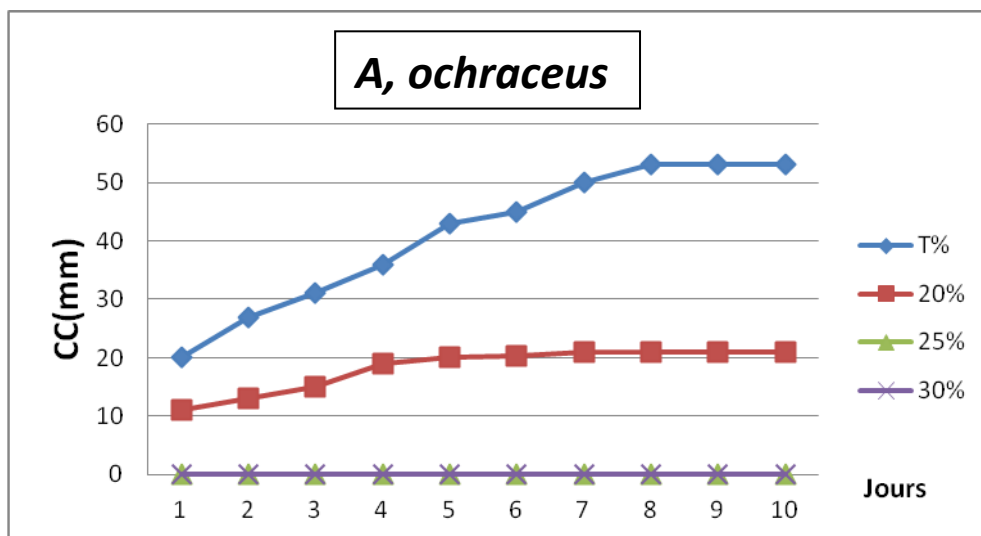


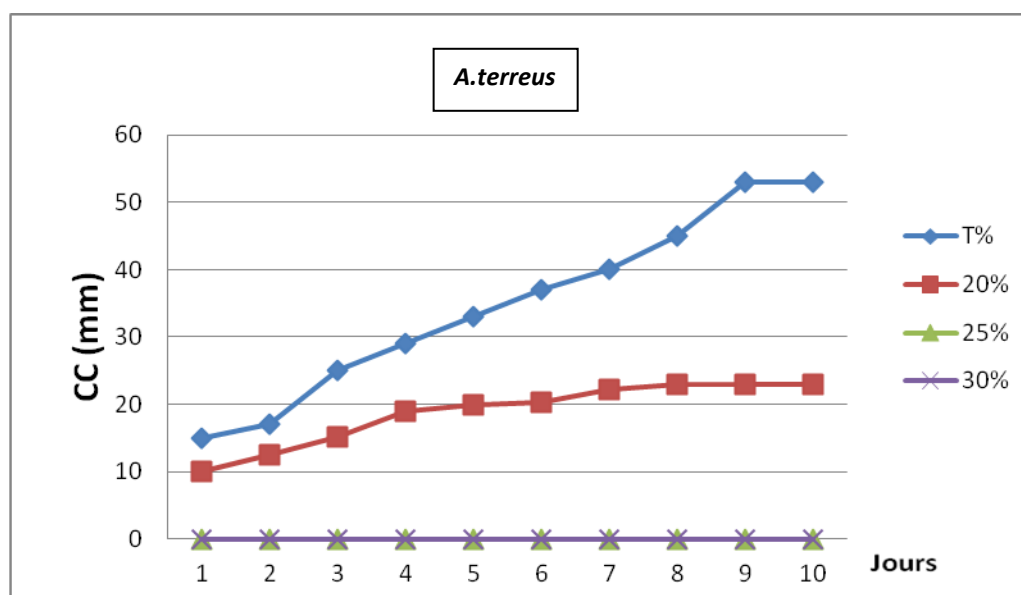
III.1.5. Activité Antifongique des extraits aqueux

III.1.5.1. Effet de différentes concentrations d'extrait aqueux froid sur la cinétique de croissance mycélienne

a. Extrait aqueux froid

La figure suivante résume les résultats de la croissance mycélienne (en mm) des souches fongiques testées en fonction du temps d'incubation et de la concentration d'Eq froid :





**Figure 6 :** Cinétique de croissance des souches en fonction de temps et de concentration en extrait aqueux froid de *Curcuma Longa*

D'après la figure 6 on remarque que la croissance mycélienne été signalée chez toutes les souches fongiques à la concentration 0% et 20% après 24h d'incubation.

Chez *A. niger*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 20 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation. Pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 11 mm et après 240 h est de 27 mm. Concernant la concentration 25% le diamètre après 24 h est 10 mm et après 240 h est de 18 mm. Alors que en utilisant la concentration 30 % le diamètre après 24 h est 9 mm et après 240 h est de 15 mm.

Chez *A. terreus*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 15 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation et pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 10 mm et après 240 h est de 23 mm.

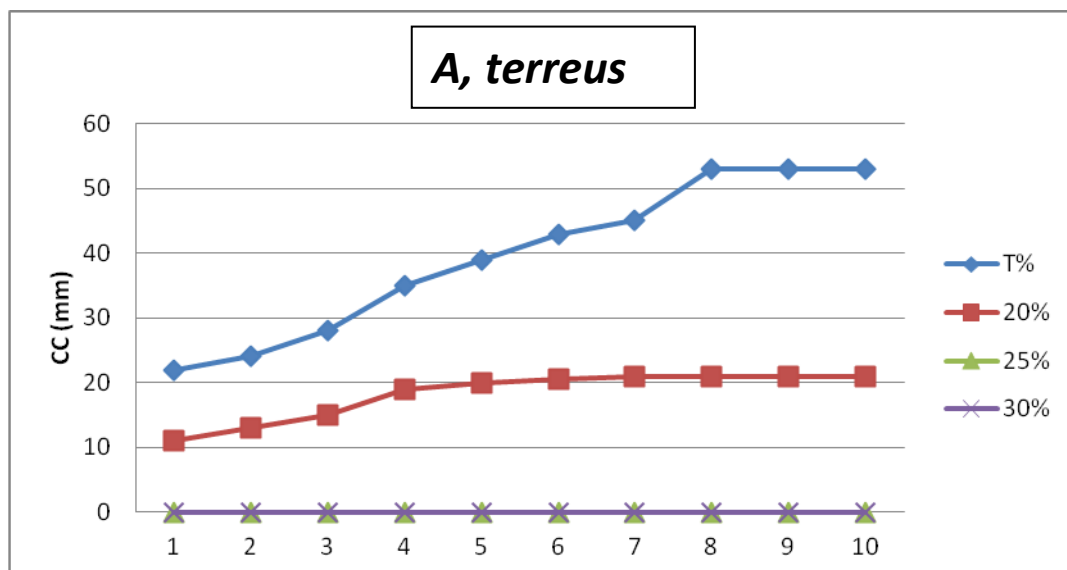
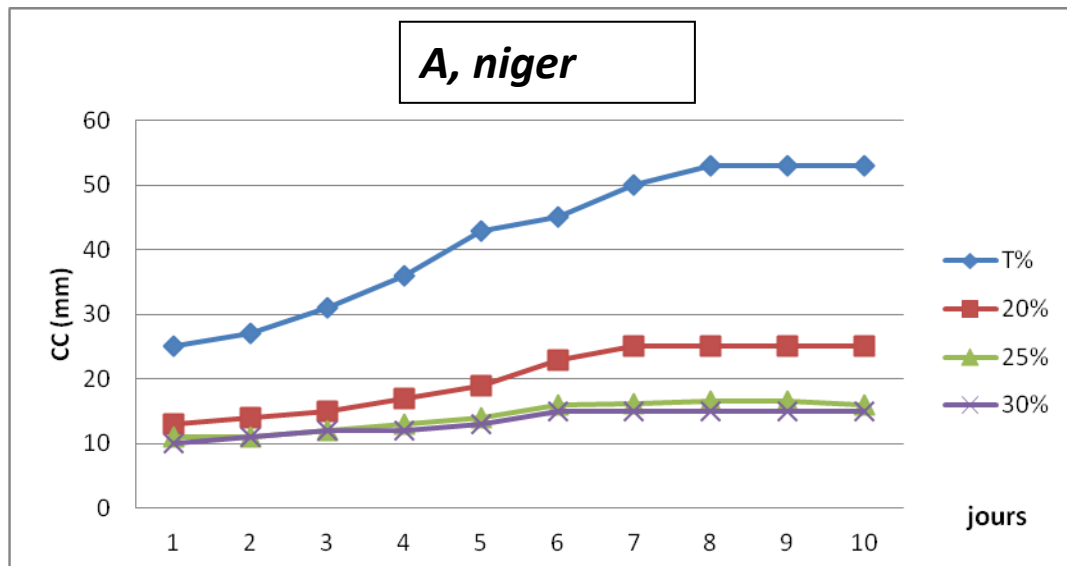
Chez *A. ochraceus*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 20 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation et pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 11 mm et après 240 h est de 21 mm.

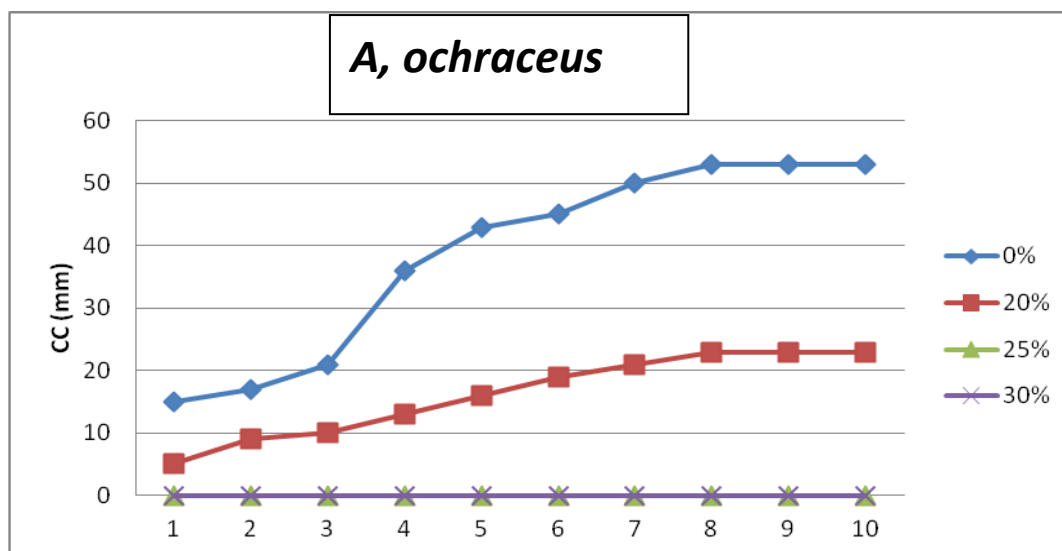
Concernant les concentrations 25% et 30 % on n'observe aucune croissance signalée chez *A. terreus* et *A. ochraceus*, par contre l'*A.niger* possède une croissance d'une façon un

peu importante dans ces deux concentrations ce qui explique que l'extrait aqueux froid a un effet fongicide et fongistatique variable selon l'espèce.

**b. Extrait aqueux chaud**

La figure suivante résume les résultats de la croissance mycélienne (en mm) des souches fongiques en fonction du temps d'incubation et de la concentration d'Eq chaud :





**Figure 7 :** Cinétique de croissance des souches en fonction de temps et de concentration en extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa*

D'après la figure 7 on remarque que la croissance mycélienne a été signalée chez toutes les souches fongiques à la concentration 0% et 20% après 24h d'incubation.

Chez *A. niger*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 25 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation. Pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 13 mm et après 240 h est 25 mm. Concernant la concentration 25% le diamètre après 24 h est 11 mm et après 240 h est de 16 mm. Alors que en utilisant la concentration 30 % le diamètre après 24 h est 10 mm et après 240 h est de 15 mm.

Chez *A. terreus*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 22 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation, et pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 11 mm et après 240 h est de 21mm.

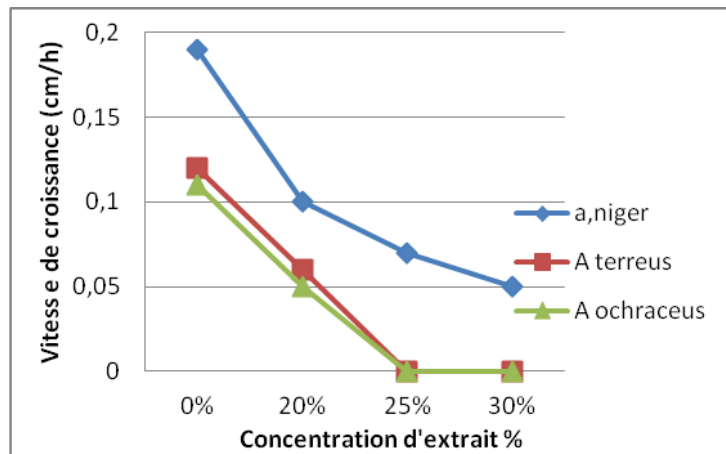
Chez *A. ochraceus*, dans son témoin on a enregistré un diamètre de croissance de 15 mm après 24 heures d'incubation, et qui augmente à 53 mm au bout de 240 heures d'incubation, et pour la concentration 20% le diamètre après 24 h est 5 mm et après 240 h est de 23 mm.

Concernant les concentrations 25% et 30 % on n'observe aucune croissance signalée chez *A. terreus* et *A. ochraceus*, par contre l'*A.niger* possède une croissance d'une façon un peu importante dans ces deux concentrations ce qui explique que l'extrait aqueux chaud a un effet fongicide et fongistatique variable selon l'espèce.

### III.1.5.2. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

#### a. Extrait aqueux froid

La Figure 8 représente la variation de la vitesse de croissance mycélienne des souches testées sous l'effet d'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa* :



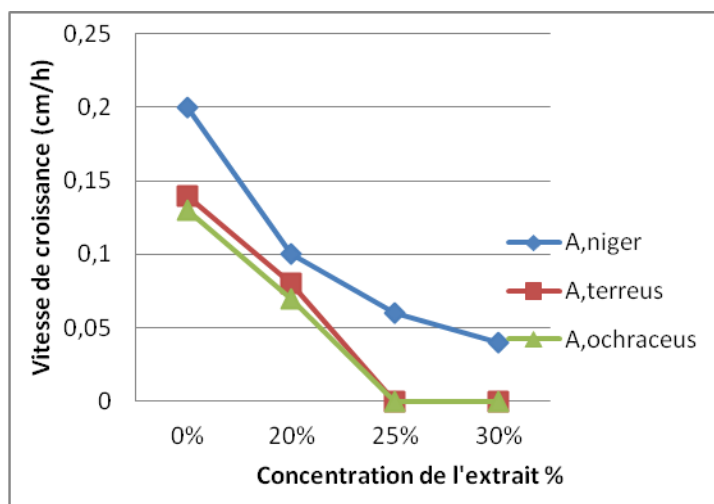
**Figure 8 :** Variation de la vitesse de croissance mycélienne des souches testées sous l'effet d'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa*

Selon le graphe ci-dessus, la plus haute vitesse de croissance mycélienne est remarquée chez *A. niger*, elle est de 0,19 cm/h en utilisant la concentration 0% d'extrait aqueux froid, puis cette vitesse a diminué jusqu'à 0,05 cm/h dans la concentration de 30%.

Pour les autres souches cette vitesse est de 0,12 cm/h pour *A. terreus* et 0,11 cm/h pour *A. ochraceus* au témoin, puis elle diminué jusqu'à atteindre 0 cm/h dans les concentration 25% et 30 % d'extrait aqueux froid.

#### b. Extrait aqueux chaud

La Figure 09 représente la variation de la vitesse de croissance mycélienne des souches testées sous l'effet d'extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa*. :

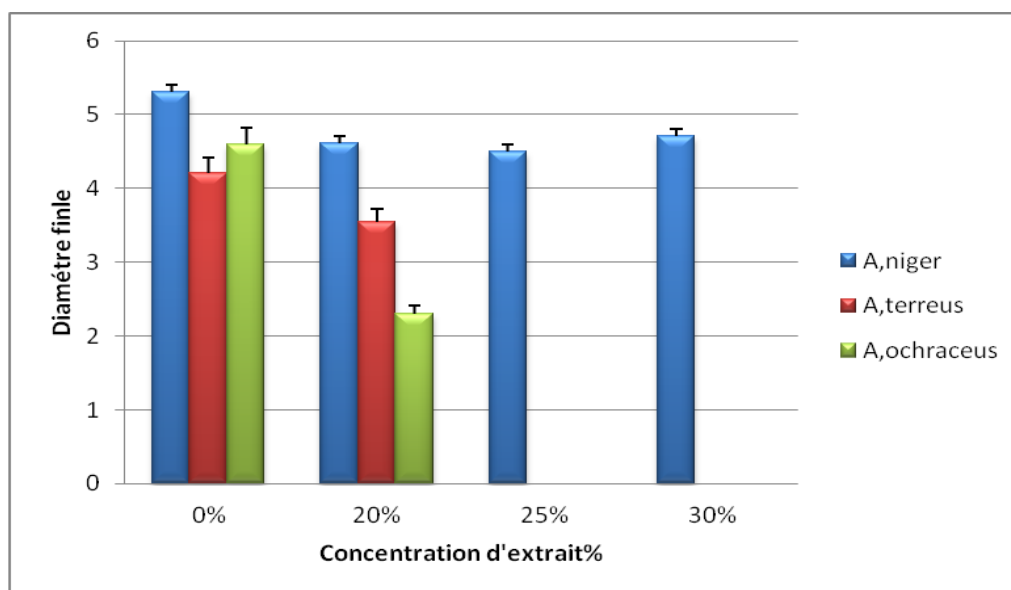


**Figure 9 :** Variation de la vitesse de croissance mycélienne des souches testées sous l'effet d'extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa*.

Selon le graphe ci-dessus, la plus haute vitesse de croissance mycélienne est remarquée chez *A. niger*, elle est de 0,21 cm/h en utilisant la concentration 0% d'extrait aqueux chaud, puis cette vitesse a diminué jusqu'à 0,04cm/h dans la concentration de 30%.

Pour les autres souches cette vitesse est de 0.14 cm/h pour *A. terreus* et 0.13 cm/h pour *A. Ochraceus* au témoin, puis elle diminué jusqu'à atteindre 0 cm/h dans les concentrations 25% et 30 % d'extrait aqueux chaud.

### III.1.5.2. Détermination du diamètre final (D)



**Figure 10 :** Variation de diamètre mycélien final de souches testées sous l'effet de l'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa*

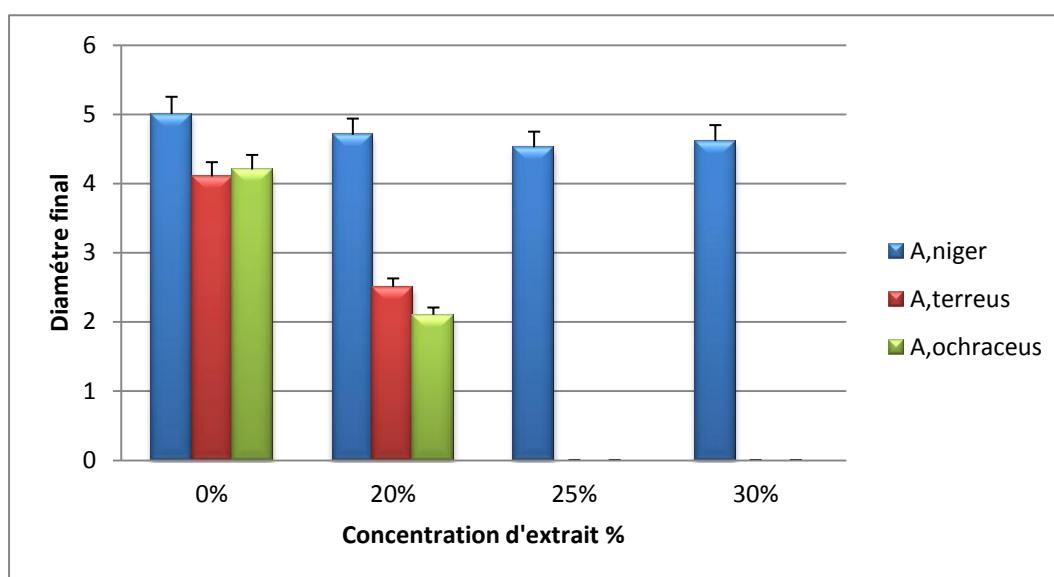
Les figures 10 et 11 résument les résultats du diamètre mycélien à la fin de l'expérience, à savoir au but de l'arrêt de croissance de témoin où le témoin remplit la boîte de pétri en comparaison avec les différentes concentrations sous l'effet de l'extrait aqueux froid et chaud de *Curcuma Longa*.

**a. Extrait aqueux froid :**

Dans la figure 10, on observe que le diamètre mycélien final est différent d'une espèce à une autre. Pour *A. niger* le diamètre final enregistrée est de 5.3 cm. Ce diamètre diminue en augmentant la concentration et il est de 4.61 cm. 4.5cm et 4.71cm pour les concentration 20%, 25% et 30% respectivement.

Pour *A. terreus*, et *A. Ochraceus*, leurs diamètres finals dans les témoins est aussi 5,3 cm, et ce dernier diminue à 3.55 cm et 2.3 cm respectivement à la concentration 20 %. Ainsi ce diamètre devient nul aux concentrations 25% et 30 % pour ces deux souches testées.

**b. Extrait aqueux chaud :**



**Figure 11 :** Variation de diamètre mycélien final de souches testées sous l'effet de l'extrait chaud de *Curcuma Longa*

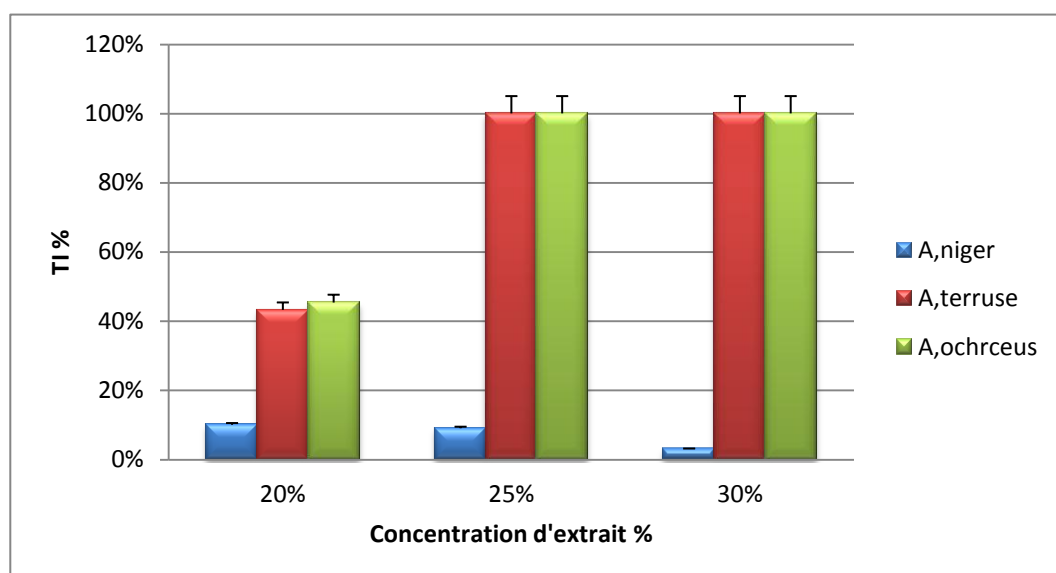
D'après la figure 11, on remarque que le diamètre mycélien final est différent d'une espèce à une autre, et il diminue en augmentant la concentration de l'extrait aqueux chaud.

Pour *A.niger* ce diamètre finale diminué de 5 cm à 0% de concentration jusqu'à 4,61 cm à la concentration maximale (30%). Alors que, pour l'*A.terreus* et *A. Ochraceus*, ce diamètre final a diminué jusqu'à 0 cm dans la concentration maximale (30%).

### III.1.5.3. Taux d'inhibition (TI)

#### a. Extrait aqueux froid :

La figure 12 représente les taux d'inhibition des souches fongiques testées en fonction des concentrations d'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa* :



**Figure 12 :** Taux d'inhibition des souches fongiques en fonction les différentes concentrations d'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa*.

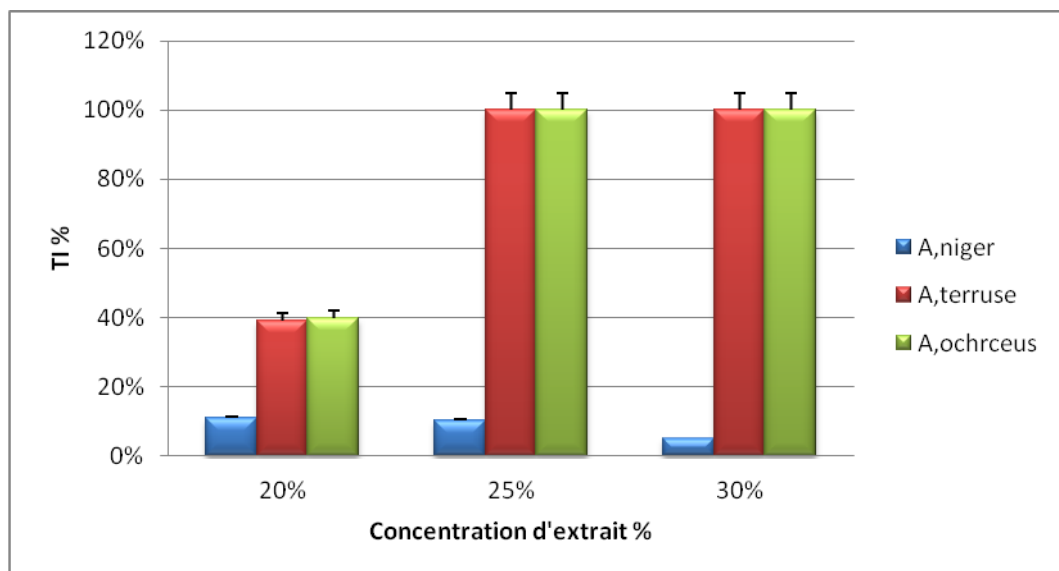
Selon le graphe de la figure 12, le taux d'inhibition s'accroît proportionnellement avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

On remarque que le taux d'inhibition chez *A. terreus* et *A. Ochraceus* atteignent des valeurs observables en fonction de graduation de concentration croissant qui sont de l'ordre de 43% ,100 % ,100% et de 45%, 100%, 100 % aux concentrations 20% 25% et 30% respectivement. Alors que *A. niger* présente un taux d'inhibition très faible qui est de l'ordre de 10%, 9% et 3% en utilisant les concentrations 20%, 25% et 30% respectivement.



**b. Extrait aqueux chaud :**

La figure 13 représente les taux d'inhibition des souches fongiques testées en fonction des concentrations d'extrait aqueux chaud de *Curcuma Longa* :



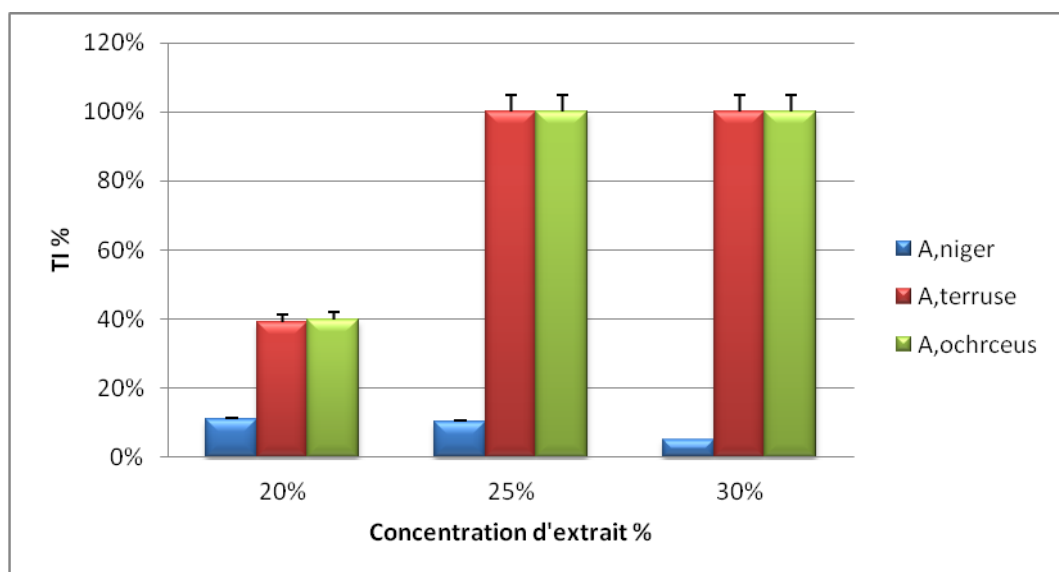
**Figure 13 :** Taux d'inhibition des souches fongiques en fonction des concentrations d'extrait aqueux froid de *Curcuma Longa*.

Selon le graphe de figure 13, on remarque que le taux d'inhibition chez *A. terreus* et *A. Ochraceus* atteignent des valeurs observables en fonction de graduation de concentration croissant qui sont de l'ordre de 39% ,100 % ,100% et de 40%, 100%, 100 % aux concentrations 20%, 25 % et 30% respectivement. Par contre, l'*A.niger* présente un taux d'inhibition très faible qui est de l'ordre de 11%, 10% et 5% en utilisant les concentrations 20%, 25% et 30% respectivement.

### III.1.6. Production de spores (TS)

#### a. Extrait aqueux froid :

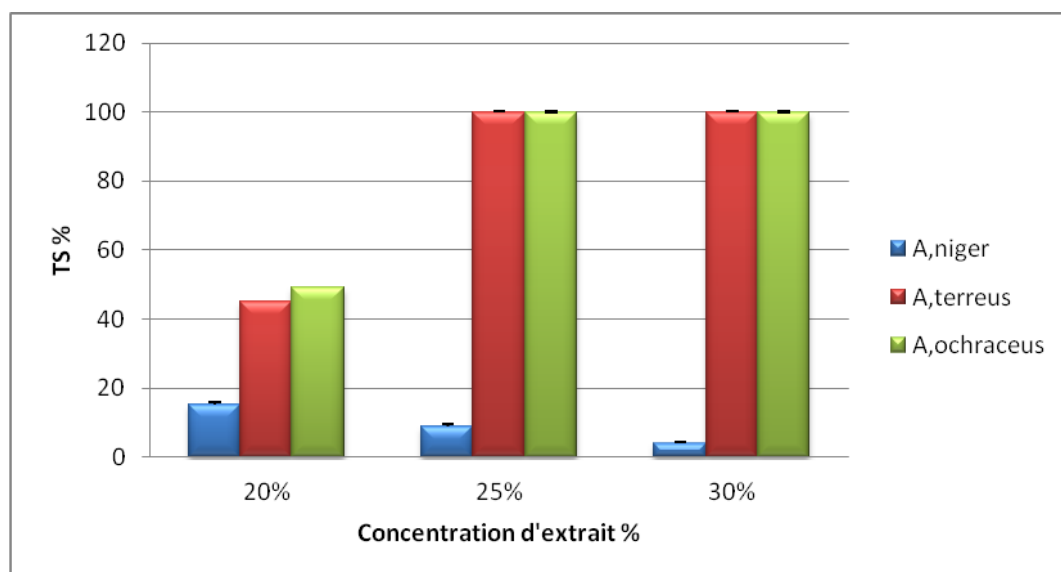
La figure 14 représente les Taux d'inhibition de la production de spore des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux froid en fonction de différentes concentrations :



**Figure 14 : Taux d'inhibition de la production de spore sous l'effet de l'extrait aqueux froid en fonction de différentes concentrations**

Selon le graphe ci-dessus, on observe une inhibition de sporulation très importante chez *A. terreus* et *A. ochraceus* qui est de l'ordre de 39 % et 40.12% respectivement en utilisant la concentration de 20% de cet extrait. Ainsi, cette inhibition est totale (100%) en utilisant les concentrations 25% et 30% pour ces deux souches fongiques. Par contre, l'*A. niger* a enregistré un faible taux d'inhibition de sporulation qui est estimé à 18%, 9.23% et 6% en fonction de gradient croissant de concentration d'extrait aqueux froid.

## c. Extrait aqueux chaud :



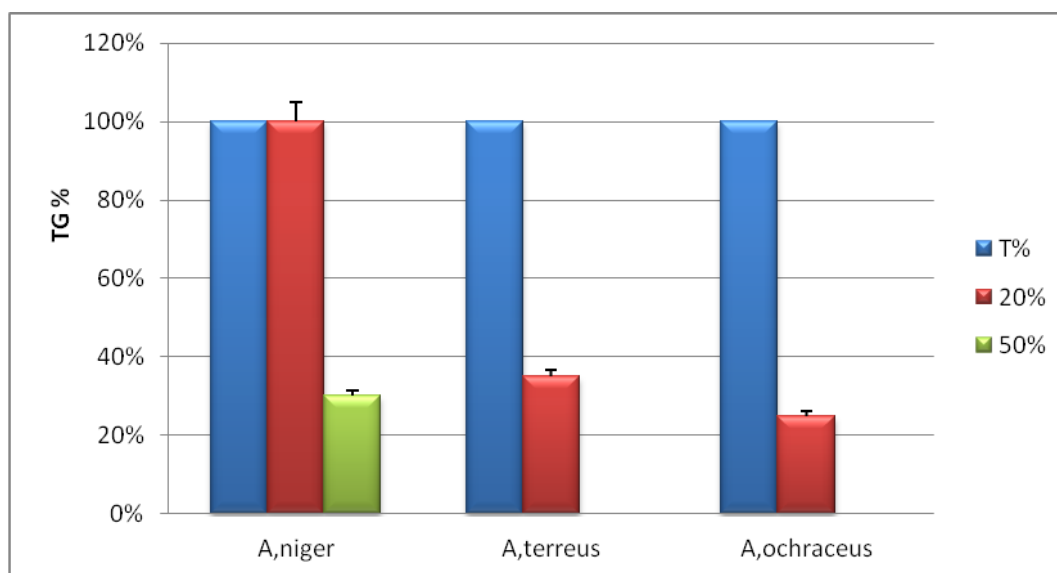
**Figure 15 :** Taux d'inhibition de la production de spore sous l'effet de l'extrait aqueux chaud en fonction de différentes concentrations

Selon le graphe ci-dessus, on observe une inhibition de sporulation très importante chez *A. terreus* et *A. ochraceus* qui est de l'ordre de 45% et 49.2% respectivement en utilisant la concentration de 20% de cet extrait. Ainsi, cette inhibition est totale (100%) en utilisant les concentrations 25% et 30% pour ces deux souches fongiques. Par contre, l'*A. niger* a enregistré un faible taux d'inhibition de sporulation qui est estimé à 15.5%, 9% et 4% en fonction de gradient croissant de concentration d'extrait aqueux chaud.

### III.1.7. Germination de spores (TG)

#### a. Extrait aqueux froid :

La figure 16 représente les taux de germination des spores des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux froid en fonction de différentes concentrations :



**Figure 16 :** Taux de germination des spores des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux froid en fonction de différentes concentrations

Selon le graphe de la figure 16, on observe dans le témoin qu'après 24h le taux de germination des spores est totale (100%) pour toutes les souches fongiques testées.

Pour l'*A. terreus* et l'*A. ochraceus*, à la concentration 20 % le taux de germination est estimé à 35 % et 25 % respectivement, alors qu'en utilisant la concentration 50% d'extrait, aucune germination a été signalée chez les deux espèces.

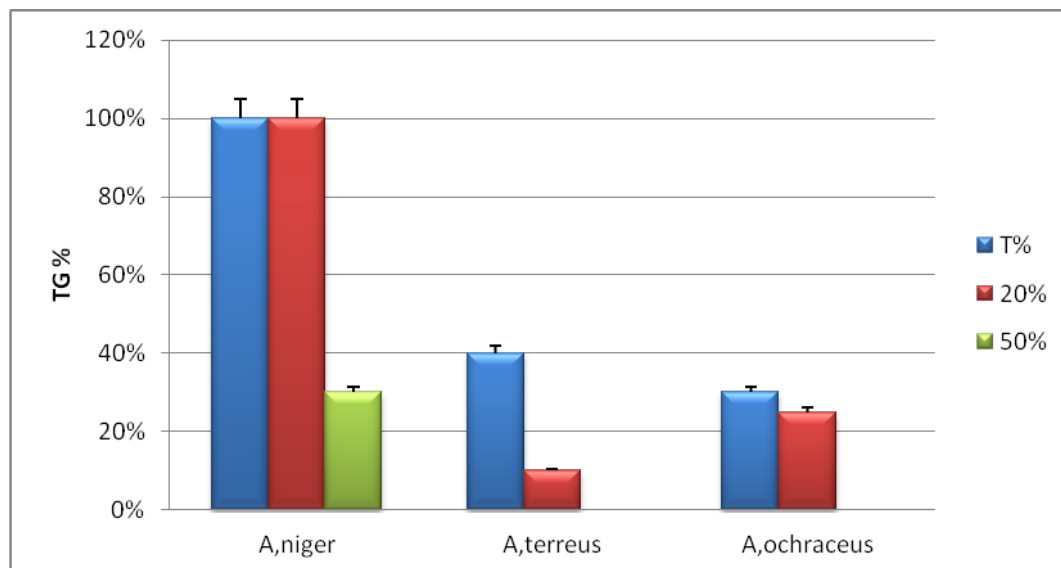
Concernant l'*A.niger*, à la concentration 20 % ce taux de germination est total (100 %) et en utilisant la concentration de 50 % le taux de germination est estimé à 30 %.

Si on compare le taux de germination de spores dans le témoin et en présence d'extrait on trouve une inhibition supérieure à 50 % dans la concentration 20% chez *A. terreus* et *A. ochraceus*, par contre avec la souche *A. niger* aucune inhibition de germination a été signalée.

Enfin, pour la concentration 50% d'extrait aqueux froid, l'inhibition de la germination est totale pour *A. terreus* et *A. ochraceus* alors que chez *A.niger* cette inhibition est partielle.

#### b. Extrait aqueux chaud :

La figure 19 représente les taux de germination des spores des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux chaud en fonction de différentes concentrations :



**Figure 17 :** Taux de germination des spores des souches fongiques testées sous l'effet de l'extrait aqueux chaud en fonction de différentes concentrations

Selon le graphe de la figure 17, on observe dans le témoin qu'après 24h le taux de germination des spores est totale (100%) pour toutes les souches fongiques testées.

Pour l'*A. terreus* et l'*A. ochraceus*, à la concentration 20 % le taux de germination est estimé à 45 % et 35 % respectivement, alors qu'en utilisant la concentration 50% d'extrait, aucune germination a été signalée chez les deux espèces.

Concernant l'*A.niger*, à la concentration 20 % ce taux de germination est total (100 %) et en utilisant la concentration de 50 % le taux de germination est estimé à 37 %.

Si on compare le taux d'inhibition de germination de spores dans le témoin et en présence d'extrait on trouve une inhibition supérieure de 50 % dans la concentration 20% chez *A. terreus* et *A. ochraceus*, par contre avec la souche *A. niger* aucune inhibition de germination a été signalée.

Enfin, pour la concentration 50% d'extrait aqueux chaud, l'inhibition de la germination est totale pour *A. terreus* et *A. ochraceus* alors que chez *A.niger* cette inhibition est partielle.

### III.2. Discussion

Les céréales sont la base de l'alimentation humaine, leur détérioration présente un danger menaçant la nutrition des hommes et des animaux domestiques. L'origine de la contamination des céréales par les moisissures est difficile de préciser (Champ, transport, lieu de stockage ...).

Selon, **MOLINIE, PFOHL-LESZKOWICZ, (2013)**, l'origine est mal connue, mais les spores disséminées par l'air peuvent provenir du champ ou de la poussière présente dans les infrastructures de stockage. Si les conditions de stockage sont défavorables, ces moisissures constituent des facteurs de bio-détérioration des céréales affectant la qualité technologique des matières premières, ou la qualité sanitaire par la sécrétion des mycotoxines.

Le parcours vers des nouvelles substances naturelles (extraits aqueux) comme des alternatives d'agents chimiques reste une solution prometteuse.

Selon **AVATO et al. (2000)**, L'activité antimicrobienne des épices est due à des substances chimiques spécifiques. Les principaux facteurs qui déterminent l'activité antimicrobienne sont le type et la composition de l'épice, la quantité utilisée, la valeur du pH et la température de l'environnement (**SAGDIC, 2003**).

Les rendements obtenus des extraits aqueux de curcuma (*Curcuma Longa*) sont 12.10% pour l'extrait aqueux froid et 11.70 % pour l'extrait aqueux chaud. Divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge de la plante, et la technique d'extraction peuvent influencer sur le rendement (**ZRIRA et BENJILALI, 1991 ; ZRIRA et BENJILALI, 1992**).

La mesure de pH des extraits aqueux de curcuma a donné des pH acides qui sont 5.56 et 5.86 pour Eq froid et Eq chaud respectivement. Selon **DURON, (1999)** les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6, de ce fait, les extraits obtenus constituent un milieu favorable pour le développement des champignons.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de rhizome de curcuma tels que :

flavonoïdes, tanins, coumarines, stéroïdes, alcaloïdes et anthraquinones, avec l'absence de anthocyanes et saponosides

Les composants des extraits tels que les terpènes (stéroïdes) affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autres fonctions dans les membranes cellulaires. Ces composés peuvent traverser les membranes cellulaires, pénètrent ainsi à l'intérieur de la cellule et interagissent avec des sites critiques intracellulaires tels que les enzymes et les protéines, ce qui conduit à la mort cellulaire (**BOUTALBI, 2013**).

Les flavonoïdes sont également responsables de l'inhibition des microbes résistants aux antibiotiques. Ils sont responsables des processus de balayage ou chélateurs et peuvent également perturber les membranes microbiennes (**BOUTALBI, 2013**).

Les plantes contenant des alcaloïdes ont des constituants organiques azotés élevés qui peuvent être attribués à leur capacité à devenir toxiques et même adductifs (**JACOB et al., 2016**).

Les tanins sont des agents antimicrobiens connus qui pourraient inhiber la croissance des microorganismes en précipitant la protéine microbienne et les privant ainsi de protéines nutritionnelles nécessaires pour leur croissance et leur développement (**SODIPO et al., 1991 ; JACOB et al., 2016**). Ainsi, Les travaux de **BANSO et ADEYEMO (2007)**, ont démontré que les tanins isolés des plantes médicinales possèdent une activité contre les champignons.

Les différentes concentrations d'extraits aqueux de curcuma utilisées ont influencé de façon significative la croissance radiale des moisissures ; les concentrations élevées étant plus inhibitrices vis-à-vis les souches fongiques testées.

En général les résultats obtenus avec les différentes concentrations d'extrait aqueux chaud et froid de curcuma révèlent que l'activité antifongique s'accroît au fur et à mesure que la concentration augmente ce qui a été confirmé par les travaux de **BENOUAER (2015)**. Cette activité est plus remarquable sur les deux souches *A. terreus* et *A. Ochraceus* avec un taux d'inhibitions 100% aux concentrations 25% et 30% des deux extraits aqueux chaud et froid utilisés.

De plus, il a été démontré que les composants chimiques de *Curcuma longa* ont des activités fongicides (**KIM et al., 2003**).

L'activité antifongique des extraits aqueux chaud et froid de curcuma pourrait être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés chimiques d'extrait. En effet,

les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette extrait (**GIORDANI et al., 2008**).

La recherche des effets antifongiques sur les souches rencontrées dans les champs de céréales a révélé une efficacité des extraits aqueux des plantes sur les souches fongiques testées, ce qui confirme que les substances bioactives des plantes sont considérées comme des composés potentiellement efficaces contre les champignons pathogènes (**PRABAVATHY et al., 2006 ; CHANG et al., 2008**).

L'inhibition de la sporulation a été indiquée chez *A. terreus* et *A. Ochraceus* en augmentant la concentration des extraits aqueux froid et chaud. Par contre on remarque une forte stimulation de la production des spores pour *A niger*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **AMEDI et al., 2014** qui ont montré que la réduction de la sporulation a augmenté avec la concentration croissante des extraits.

Concernant la germination des spores, elle a été très faible à nulle pour toutes les espèces à part *A niger* qui a été très importante. Par contre dans les travaux de **AMEDI et al., (2014)**, les extraits de gomme et de gingembre étaient efficaces pour inhiber la sporulation et la germination des spores d'*A. niger*.



# *Conclusion*

## **Conclusion**

L'enjeu de notre travail réside sur l'étude de l'activité antifongique des extraits aqueux « froid » et « chaud » d'une épice très connue ; le curcuma ou scientifiquement appelé *Curcuma Longa* vis-à-vis certaines moisissures isolées à partir de blé dur stocké en vue d'être utilisé comme alternative de fongicides chimiques. Les moisissures testées sont : *A. ochraceus*, *A. terreus* et *A. niger*.

Pour les extraits aqueux chaud et froid de curcuma ; la méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence leur pouvoir antifongique vis-à-vis les souches testées.

En effet, l'activité antifongique des extraits aqueux froid et chaud de *Curcuma Longa* s'est avérée en général efficace sur les trois souches testées, notamment avec la concentration de 30%.

Les souches testées sont plus sensibles vis-à-vis les extraits aqueux chaud et froid en même temps avec une inhibition totale de croissance mycélienne observée pour les deux concentrations 25% et 30% notamment pour *A. ochraceus* et *A. terreus*.

Sur le plan phytochimique, les résultats obtenus montrent que les extraits aqueux de *Curcuma Longa* sont riches en métabolites secondaires ; alcaloïdes, stéroïdes, tannins, flavonoïdes. Ces substances jouent un rôle déterminant dans l'activité antifongique.

L'activité antifongique des extraits aqueux de l'épice étudiée est avérée un agent antifongique efficace contre les souches fongiques testées. Cette activité antifongique peut être attribuée à la composition chimique des extraits aqueux.

L'activité antifongique s'accroît au fur et à mesure qu'augmente la concentration des extraits aqueux. Ce qui induit la diminution de la vitesse de croissance mycélienne. Ceci a été observé à l'œil nu par une diminution des diamètres de croissance mycélienne.

Enfin, les résultats obtenus indiquent que les extraits aqueux de *Curcuma Longa* ont des bonnes activités antifongiques pouvant être considérée comme un agent conservateur très prometteur pour les structures de stockage des céréales, ainsi de réduire la croissance mycélienne responsable de l'altération des céréales stockés.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

1. **Amendola, J., Rees, N., 2003.** Understanding baking: The Art and Science of Baking. John Wiley & Sons. INC; 288 P.
2. **Araujo c c., Leon LL., 2010-** biological activities of curcuma longa L.Mem Inst Oswaldo Cruz ; 96 :723-28.
3. **Madiha BENOUAER, 2015** L'activité antifongique des extraits aqueux et des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba sur des champignons potentiellement mycotoxigéniques du blé dur (*Triticum durum* var VITRON).
4. **Boudreau et Ménard, 1992. Botton, B., Breton, A., Fèvre, M ., Gauthier S., Guy ,Ph., Larpent, J .P., Reymond, P., Sanglier, J .J., Boudreau, A .,Ménard ,G., 1992** .Le Blé: éléments fondamentaux et transformation, pp. 65.
5. **Bouguerra, A., 2012.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire magister, univ mentouri constantine. p77
6. **Boullard B., 2001-** Dictionnaire des plantes médicinales du monde: Estem : 174.Chem Res toxicol 16:1642-51.
7. **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca, J., 1996.** Microbiologie Alimentaire. Tome1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Technique & doc Lavoisier, Paris, pp. 672.
8. **BRUNETON, J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3eme Edition , Tec&Doc Lavoisier, Paris, 1120 p
9. **CAHAGNIER B., RICHARD-MOLARD D., 1998.** Moisissures des aliments peu-hydratés, les moisissures. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Edition . Lavoisier. :39-41p.
10. **Castegnaro et al., 2002..** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animales et humaines. In : M. Moll, N. Moll (Eds) La sécurité alimentaire du consommateur, Tec & doc, Lavoisier, Londres, Paris, New York, 127-179
11. **Cauvain, S.P., 2003.** Bread making: improving quality.WoodheadPublishing in Food Science and technology; 589 P.
12. **CHEFTEL, J.C et CHEFTEL, H., 1977.** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp. 105-130.

13. **Cheikh Ali Z .**,2012- THÈSE doctorat. Études chimiques et biologiques d'Aframomum sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine. UNIVERSITÉ PARIS-SUD.p 46
14. **Chichester, C.O., Stewart, G.F., 1977.** Advances in Food Research. Academic Press. New York; 436P.
15. **CHRISTENSEN, CM. ;Meronuk, RA.and Sauer D.B 1982.**Microflora. Chapter 9.In :Storage of cereal grains and their product (Christensen, C .M.Ed), American Association of cereal chemist, St. Paul, pp 219-240.
16. **Dechambre , A., 1874.** Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales. Tome Neuvième. Paris p: 625.
17. **DJENEB CAMARA KOUADIO BENE , GOUEH GNAHOUE, N'GUESSAN BRA YVETTE FOFIE, GUEDE NOËL ZIRIHI .,2016.** Etude Ethnobotanique, Evaluation De L'activite Antifongique Sur *Candida Albicans* Et De La Toxicite Sur Des Cellules Hff De *Bersama Abyssinica* (Fresen.),Une Plante De La Pharmacopee Ivoirienne European Scientific Journal January 2016 edition vol.12, No.3 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431p
18. **Dohare P., Garg U.,2008 -** Neuroprotective efficacy and therapeutic window of curcuma oil: in rat embolic stroke model. BMC Complement Altern Med: 8-55.
19. **Druvefors U.A. (2004).** Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala* Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, Department of Microbiology. Agraria.p: 44 .
20. **FA IVRE C.(2007) :** LE CURCUMA: une racine à toutes les sauces. Art. Pratique Vét.- AnimComp.N34.
21. **Feillet, P., 2000.** Le grain de blé :Composition et utilisation INRA. Paris: p 312
22. **Gacem M.A. (2011.)** Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus*
23. **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
24. **Hombourger C.,2010-** Le Curcuma, De l'épice au médicament. Thèse doctorat. Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1 FACULTE DE PHARMACIE.
25. **Hurtel J.M. (2007) :** Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Art. Revue NAFAS.Edition de santé. 5(1 ).P3-26.
26. **Jansen P C M., Grubben G J H., Cardon D., 2005-**Ressources végétales de l'Afrique tropicale 3. Colorants et tanins. Wageningen. Pays-Bas : PROTA : 238.

27. **KARUMI, Y., ONYEYILI, P.A. et OGUGBUAJA, V.O., 2004.** Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Sci* 4, 179-182
28. **KOFFI, N., BEUGRÉ, K., GUÉDÉ, N., ZIRIHI, D. et LAURENT, A., 2009.**Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* 6 (1),P 1-15.
29. **MALEC, L.S. et PAMILIO, A.B., 2003.** Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromus pictus*. *Molecular Medicinal Chemistry* 1, P 30-38.
30. **Miller et Trenholm, 1994. Miller, J.D. & Trenholm, H.L., 1994.** Mycotoxins in Grain: Compounds other than Aflatoxins. Eagan Press, St Paul MN.
31. **Mills, 1990). Mills, J.T., 1990.** Mycotoxins and fungi on cereal grains in western Canada. *Can. J. Physiol. Pharmacol* 68, 982-986.
32. **MOJAB, F., KAMALINEJAB, M., GHADERI, N. et VAHIDIPOUR, H.R., 2003.**Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*,P 77-82
33. **Molinie A., Faucet V., Castegnaro M and Pfohl-Leszkowicz A. (2005).** Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *F. Chem.* p: 391-400.
34. **Moll, M., 1998.** Additifs alimentaires et auxiliaires technologique. Ed. DUNOD. Paris. pp. 89-99. Molyneux P., 2004. Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* Vol. 26 № 2. 212p
35. **MORCIA C., MEHANI M., SALHI N., NAZARI L.,KHALIL A., BARA A., GHIZZONI R.,TUMINO G., TERZI V.,2015.** On the role of natural compounds in mycotoxigenic fungi control. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (A. Méndez-Vilas, Ed.) .
36. **Multon, 1982). Multon, J.L., 1982.** Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. *Technique & Documentation Lavoisier, Paris*, pp. 576.
37. **Nakahara, K., Alzoreky, N.S., Yoshihashi ,T., Nguyen, H.T.T. and Trakoontivakorn ,G., 2003.** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass). *JARQ* 37 (4), pp. 249-25.
38. **OLOYEDE, O.I., 2005.** Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*, *Pakistan journal of nutrition* 4,P 379-381.

39. **Ouanzar, S., 2012.** Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de Magister Production Végétale et Agriculture de Conservation. Univ Ferhat Abbas Setif. P :03.
40. **Oudot, C., 1999.** Technique de stabilisation in la transformation des aliments, option génie alimentaire, Editions balleryTechniplus, France, 79 p.
41. **Pfohl-leszkowicz, 1999. Pfohl-leszkowicz, A., 1999.** Les mycotoxines dans l'alimentation, Évaluation et gestion du risque. Lavoisier.Paris. pp :478.
42. **Phattayakorn, K. and Wanchaitanawong, P., 2009.** Antimicrobial activity of thai herb extracts against coconut milk spoilage microorganisms. *Kasetsart J. Nat. Sci.* 43 : pp.752-759.
43. **Razak, M.F., Aidoo, K.E., Candlish, A.G., 2009.** Mixed herbs drugs inhibitory.effect on growth of the endogenous myclflore and afataxion production Mycopathologie p: 167-273-26.
44. **Roudaut, H., Lefrancq, E., 2005.** Alimentation théorique: Sciences des aliments. Doinéditeurs. France; 303 P.
45. **Sajem a I., Gosai k., 2006-** Traditional use of medicinal plants by the jaintia tribes in north cachar Hills district of Assam, northeast india. *J Ethnobiol Ethnomed* ;2 : 33.
46. **Salman, A.D., Ghadiri, M., Hounslow, M.J., 2007.** Particle breakage. Handbook of powder technology. Elsevier; 1240 P.
47. **Smith, S.J., Hui, Y.H., 2004.** Food processing: Principles and Application. Blackwell Publishing; 524 P.
48. **Soliman, K.M., Badea, B.I., 2002.** Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food ChemToxicol.* 40: 1669-1675
49. **Soltner, D., 1987.** Les grandes productions végétales « céréales-plantes sarclées-prairies ». 15<sup>ème</sup> Edition. Collection Sciences et techniques agricoles; 461 P.
50. **Surget, A., and Barron, C., 2005.** Histologie du grain de blé, Association pour le progrès des industries céréalières, Paris: pp 3.
51. **Yiannikouris et Jouany1, 2002. Yiannikouris, A., Jouany, J.P., 2002.** Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal.
52. **Zinedine, 2004). Zinedine, A., 2004.** Determination des mycotoxines dans les aliments et etude de la reduction des aflatoxines par les bacteries lactiques isolees des ferments panaires traditionnels.These de doctorat Microbiologie Univ sidi mohammed ben abdellahfaculte des sciences dhar el mahrez Fès. 05p.

# *Annexes*



**Annexe 01 : Composition du milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)**

- Pomme de terre.....200g
- Glucose .....20g
- Agar- Agar.....15g
- Eau distillée .....1000ml
- pH .....5.6±0.2

**Annexe 02 : Extraits aqueux de curcuma**



Chaud



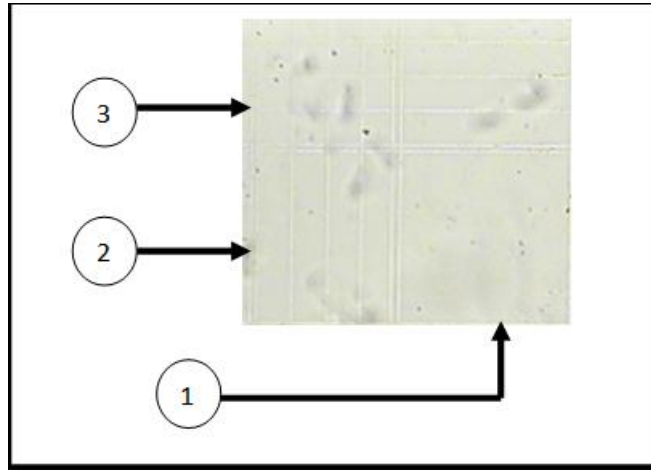
Froid

**Annexe 3 : Criblage de tests phytochimiques**



## Annexe 4 : Inhibition de la sporulation

### 1. Le choix de cadrage de calcul



Pour calculer la concentration sporale, on choisit le cadrage Si le nombre des spores dans les rectangles :

1. Inférieure a 5 spores ont utilisé 10 grandes cadres
2. Entre 5 et 40 spores ont utilisé 10 rectangles
3. Supérieure 40 spores ont utilisé 10 petites cadres

Puis on fait la moyenne de 10 mesures. Utilisé la relation pour chaque cadrage

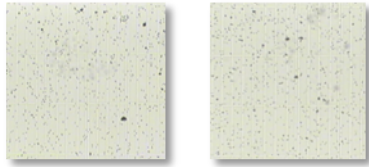
1. Si on a utilisé le grand cadre, la concentration sporale est la moyenne de spore  $\times 2.5 \times 10^5$
2. Si on a utilisé le rectangle, la concentration sporale est la moyenne de spore  $\times 10^6$
3. Si on a utilisé le petit cadre, la concentration sporale est la moyenne de spore  $\times 4 \times$

10

2. Production des spores

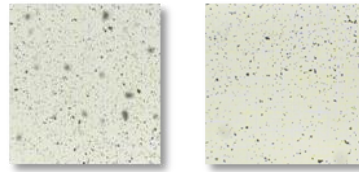
*A.niger* en extrait froid

T %                      20%



*A.niger* en extrait froid

T%                      20 %



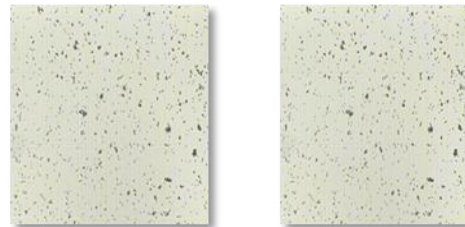
*A.terreus* en extrait froid

T                      %                      20%



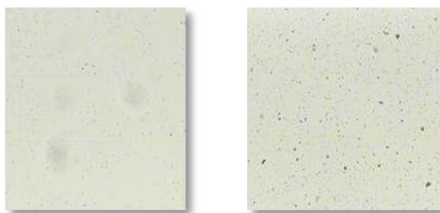
*A.terreus* en extrait chaud

T%                      20 %



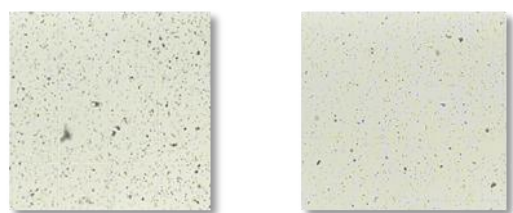
*A.ochraceus* en extrait froid

T %                      20%



*A.ochraceus* en extrait chaud

T%                      20 %



## Résumé :

### Etude de l'activité antifongique des extraits aqueux chaud et froid de *Curcuma Longa* sur quelques moisissures contaminants le blé dur stocké

Notre travail vise à étudier l'efficacité de différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Curcuma Longa* (0 %, 20, 25 et 30%) sur quelques moisissures isolées à partir des graines de blé dur stocké. Les souches fongiques testées sont : *A.niger*, *A ochraceus*, *A terreus*.

Les extraits aqueux ont été préparés par la méthode de macération avec agitation. Les rendements d'extraction obtenus sont pour l'extrait aqueux froid 12.10 % et 11.70 % pour l'extrait aqueux chaud.

L'examen phytochimique indique que les extraits aqueux de *Curcuma Longa* contient des métabolites secondaires tel que : des alcaloïdes, polyphénols et terpènes.

L'activité antifongique de différentes concentrations des extraits aqueux de *Curcuma Longa* sur les trois souche testées montrent une efficacité très significatif en particulier l'effet inhibiteur a été très visible, notamment sur *A.terreus* et *A. Ochraceus* avec un taux d'inhibitions 100% aux concentrations 25% et 30% des deux extraits aqueux chaud et froid utilisés.

**Mots clés :** Extraits aqueux, *Curcuma Longa*, métabolites secondaire, blé dur, moisissures, activité antifongique, *A.niger*, *A ochraceus*, *A terreus*.

## المخلص :

### دراسة تأثير المستخلصات المائية الساخنة والباردة للكركم على بعض الفطريات الملوثه لحبوب القمح الصلب المخزن

يهدف عملنا إلى دراسة فعالية لمختلف التراكيز للمستخلص المائي لنبات *Curcuma Longa* (0%, 20%, 25%, 30%) على بعض فطريات المعزولة من حبوب القمح الصلب المخزن. السلالات الفطرية التي تم اختبارها هي ثلاثة أنواع *A. terreus*, *A. ochraceus*, *A. niger*.

تم تحضير المستخلصات المائية عن طريق النقع والخلط. المرود المتحصل عليه من هذه العملية هو 12.10% للمستخلص المائي البارد و 11.70% للمستخلص المائي الساخن.

الاختبار الكيميائي للمستخلص المائي *Curcuma Longa* أظهر وجود بعض المركبات الكيميائية ( الالكالويدات، البيوليفينول، التربينات )

النشاط المضاد لمختلف التراكيز على للمستخلص المائي *Curcuma Longa* على 3 من العينات المختبره حيث يملك فعالية جد هامة في التأثير التثبيطي خاصة على *A. terreus* و *A. Ochraceus* بمعدل تثبيطي 100 % في تراكيز مختلفة % 25 30% للمستخلص البارد و الساخن.

**الكلمات الدالة:** المستخلص المائي، *Curcuma Longa*، الايضات الثانويه، التركيز الحبوب الفطريات، النشاط المضادة *A. niger*, *A ochraceus*, *A terreus*.

## Abstract:

### Study of the antifungal activity of hot and cold aqueous extract of *Curcuma Longa* on some fungi contaminating durum wheat stored.

Our work aims to study the effect of different concentrations of *Curcuma Longa* aqueous extract (0, 20, 25 and 30%) on some fungi of durum wheat ver. The fungi tested from the belong to 3 species: *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*,

Phytochemical screening confirmed the presence of important substances in aqueous extract of *Curcuma Longa* as: alkaloids, polyphones and terpan.

The antifungal activity of different concentrations of aqueous extracts of *Curcuma Longa* on the three strain tested show a very significant effectiveness especially the inhibitory effect was clearly visible, especially on *A.terreus* and *A. ochraceus* with an inhibition rate 100 % at concentrations 25% and 30% of both aqueous extracts hot and cold used.

**Key words:** Aqueous extract, *Curcuma Longa*, Concentration, Secondary metabolites, durum wheat, fungi, Antifungal activity. *A.niger*, *A ochraceus*, *A terreus*.

