



Année Universitaire : 2009-2010

## Mémoire de fin d'études

Master Sciences et Techniques

# Gestion et Conservation de la Biodiversité

## ETUDE MICROBIOLOGIQUE "*D'Allium sativum*" EN STOCKAGE ET LA RECHERCHE D'UNE METHODE BIOLOGIQUE DE CONSERVATION

**Présenté par:**

**MOUSTAKIME Youssef**

**Encadré par:**

**IRAQI HOUSSEINI A. (FSDM Fès)**  
**RACHIQ Saâd (FST Fès)**

**Soutenu Le 23 Juin 2010 devant le jury composé de :**

- |                                  |          |           |
|----------------------------------|----------|-----------|
| - Pr. <b>RACHIQ S.</b>           | FST Fès  | Président |
| - Pr. <b>IRAQI HOUSSEINI A.</b>  | FSDM Fès | Encadrant |
| - Pr. <b>SQUALI HOUSSAINI H.</b> | FST Fès  | Examineur |
| - Pr. <b>FIKRI BENBRAHIM K.</b>  | FST Fès  | Examineur |
| - Pr. <b>BEKHTI K.</b>           | FST Fès  | Examineur |
| - Pr. <b>BENLEMLIH M.</b>        | FSDM Fès | Examineur |



---

## REMERCIEMENTS

Mes remerciements et toute ma reconnaissance à mon encadrant de recherche le professeur **IRAQI HOUSSEINI Abdelillah**, pour son soutien, son aide et son dévouement durant ce travail.

Toute ma gratitude à ma famille en particulier **mes parents** pour leur soutien aussi bien moralement que financièrement.

Mes sincères remerciements aux Pr. **RACHIQ Saâd**, Pr. **SQUALI HOUSSAINI Hakima**, Pr. **FIKRI BENBRAHIM Kaoutar**, Pr. **BEKHTI Khadija** et Pr. **BENLEMLIH Mohamed** pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie de jury qui le juge.

Enfin, mes remerciements aussi bien aux gens qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## RESUME



L'objectif de notre étude consiste à faire une analyse microbiologique de l'ail stocké à savoir : l'ail sain ; l'ail pourrit et l'ail lyophilisé. Cette analyse nous a permis d'isoler les agents de pourriture blanche d'ail : *Sclerotium Cepivorum* et *Stylopaga*.

Puis nous avons recherché des antagonistes bactériens ou fongiques susceptibles d'être utilisés pour lutter contre ces champignons parasites et nous avons pu révéler deux colonies antagonistes à la fois de *S. Cepivorum* et *Stylopaga* isolées au cours des analyses microbiologiques de l'ail stocké.

Enfin, nous avons essayé de chercher une méthode de conservation biologique et/ou intégrée d'ail par application des traitements suivants :

- Le mélange cendre + sel + eau ;
- Les margines salées et non salées ;
- La culture liquide d'une colonie antagoniste.

La mise au point de ces techniques de conservation biologique, notamment celles utilisant le mélange cendre+sel+eau et la culture liquide d'une colonie antagoniste non encore identifiée, testées seulement pour deux mois se montrent prometteuses.

## **TABLE DES MATIERES**

REMERCIEMENTS.....	i
RESUME.....	ii
TABLE DES MATIERES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	ix
INTRODUCTION GENERALE.....	1



---

<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	3
<b>I- Systématique d'ail</b> .....	4
<b>II- Données techniques sur la culture de l'ail au Maroc</b> .....	4
II-1- Plante et importance de la culture au Maroc.....	4
II-2- Préférences pédo-climatiques .....	5
II-3- Variétés, travail de sol et semis.....	5
II-4- Irrigation.....	6
II-5- Récolte et manipulation du produit.....	6
<b>III- Production, rendement et surface cultivée en ail</b> .....	6
<b>IV- Propriétés chimiques et physiques de l'ail</b> .....	7
IV-1- Propriétés chimiques et la teneur en minéraux.....	8
IV-2- Propriétés physiques.....	9
<b>V- Composition d'ail en acides gras</b> .....	9
<b>VI- Les bienfaits de l'ail</b> .....	10
VI-1- Principes actifs et propriétés.....	10
VI-2- Principes actifs bénéfiques.....	11
<b>VII- Les principaux ennemis des Alliums</b> .....	13
<b>VII- <i>Sclerotium Cepivorum</i> (La pourriture blanche)</b> .....	14
VIII-1- Origine de l'inoculum.....	15
VIII-2- Ecologie et cycle de vie.....	15
VIII-3- Les symptômes.....	16
VIII-4- La levée de la microbiostase.....	17
<b>PREMIERE PARTIE : Analyse microbiologique de l'ail (<i>Allium sativum</i>) en stockage</b> .....	18
<b>I- INTRODUCTION</b> .....	19
I-1- Généralités.....	19
I-2- Objectif du travail.....	20
<b>II- MATERIELS ET METHODES</b> .....	21
II-1- Numération de la microflore d'ail en stockage.....	21
II-1-1- Préparation des solutions de base.....	21
II-1-2- Préparation des milieux de cultures.....	22
II-1-3- Préparation des suspensions-dilutions d'ail.....	22
II-1-4- Ensemencement et incubation.....	22
II-1-5- Lecture des résultats.....	23
II-1-6- Purification des souches isolées.....	23
II-1-7- Identification préliminaire des souches isolées.....	23
II-1-8- Stockage et conservation des souches.....	24

---



---

<b>III- RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	25
III-1- Numération de la microflore d'ail en stockage.....	25
III-2- Identification des souches isolées.....	27
<b>IV- CONCLUSION</b> .....	29
<b>DEUXIEME PARTIE : Recherche des antagonistes des champignons « Sclerotium et Stylopaga » de la pourriture blanche de l'ail</b> .....	30
<b>I- INTRODUCTION</b> .....	31
I-1- Généralités.....	31
I-2- Objectif du travail.....	32
<b>II- MATERIELS ET METHODES</b> .....	33
II-1- Conditions optimales de croissance des champignons parasites.....	33
II-1-1- Milieu de culture optimal.....	33
II-1-2- pH et température optimal.....	33
II-2- Criblage sélectif.....	34
II-2-1- Criblage sélectif de champignons parasites.....	34
II-2-2- Criblage sélectif de bactéries, levures et actinomycètes antagonistes.....	35
II-3- Purification des souches et évaluation du pouvoir antagoniste.....	36
II-3-1- Purification des souches.....	36
II-3-2- Etude du pouvoir antagoniste de chaque souche séparément.....	36
<b>III- RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	38
III-1- Conditions optimales de croissance des champignons parasites.....	38
III-1-1- Milieu de culture optimal.....	38
III-1-2- pH et température optimal.....	38
III-2- Criblage sélectif de microorganismes antagonistes.....	41
III-3- purification des souches et évaluation du pouvoir antagoniste.....	46
<b>IV- CONCLUSION</b> .....	50
<b>TROIXIEME CHAPITRE : Recherche d'une méthode de conservation biologique et/ou intégré de l'ail</b> .....	51
<b>I- INTRODUCTION</b> .....	52
I-1- Généralités.....	52
I-2- Objectif du travail.....	53
<b>II- MATERIELS ET METHODES</b> .....	54
II-1- Préparation des traitements.....	54
II-2- Conservation des gousses d'ail.....	55
II-2-1- Conservation des gousses d'ail par le mélange cendre+sel+eau.....	55
II-2-2- Conservation des gousses d'ail par les margines.....	55

---



---

II-2-3- Conservation de l'ail par la culture liquide de la colonie -I-.....	56
II-3- Etude du pouvoir décomposeur des champignons parasites de l'ail traité.....	56
<b>III- RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>57</b>
III-1- Conservation des gousses d'ail.....	57
III-2- Etude du pouvoir décomposeur des champignons parasites de l'ail traité.....	62
<b>IV- CONCLUSION.....</b>	<b>68</b>
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>69</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>70</b>
<b>ANNEXE I.....</b>	<b>76</b>
<b>ANNEXE II.....</b>	<b>79</b>

## LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1:** Production en tonnes. Chiffres 2003-2004  
Données de FAOSTAT (FAO).
- Tableau 2 :** les propriétés chimiques de l'ail. (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).
- Tableau 3 :** La teneur en minéraux de l'ail (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).
- Tableau 4 :** Caractéristiques dimensionnelles de l'ail (entier et segments) à 66,32% m.c.d.b. (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).
- Tableau 5 :** Dénombrement de la microflore isolée à partir d'ail sain, d'ail pourrit et d'ail lyophilisé en UFC par gramme poids sec d'ail.
- Tableau 6 :** poids moyen initial, final des gousses traités 15mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.



---

**Tableau 7** : poids moyen initial, final des gousses traités 30mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

**Tableau 8** : poids moyen initial, final des gousses traités 1h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

**Tableau 9** : poids moyen initial, final des gousses traités 2h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

**Tableau 10** : le poids moyen initial et le poids final des gousses traitées (pendant 15mn ; 30mn ; 1h et 2h) par la culture liquide de la colonie -I- et les pertes de poids engendré après 30 jours de stockage.

**Tableau 11** : poids moyen initial, final des caïeux traités 15mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40jours de stockage.

**Tableau 12** : poids moyen initial, final des caïeux traités 1h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40jours de stockage.

**Tableau 13** : poids moyen initial, final des caïeux traités 30mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40jours de stockage.

**Tableau 14** : poids moyen initial, final des caïeux traités 2h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40jours de stockage.



## LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : représentations graphiques de la surface cultivée (Ha) et le rendement (Hg/Ha) en ail au Maroc 1961-2008 (FAOSTAT).
- Figure 2** : représentation graphique des estimations sur la production (tonnes) en ail au Maroc 1961-2008 (FAOSTAT).
- Figure 3** : Chromatogramme représentant les lipides totaux de l'ail. (Michael C. Tsiaganis, Katerina Laskari, Efi Melissari, 2005).
- Figure 4** : les symptômes foliaires d'une attaque de *S. Cepivorum* (Courtesy E. A. Kurtz. Reproduced from Compendium of Onion and Garlic Diseases and Pests, 2nd ed., 2008, American Phytopathological Society, St. Paul, MN).
- Figure 5** : mycélium de *S. Cepivorum* couvrant l'ensemble des bulbes (Courtesy Paul Koepsell. Oregon State University Extension. White Rot).
- Figure 6** : Sclérotés de *S. cepivorum* (Courtesy Mike Davis, Plant Pathology Dept, University of California at Davis).
- Figure 7** : broyeur utilisé pour la préparation d'extrait d'ail.
- Figure 8** : les bactéries isolés à partir d'ail sain, pourrit et lyophilisé.
- Figure 9** : les levures isolés à partir d'ail sain, pourrit et lyophilisé.
- Figure 10** : les champignons isolés à partir d'ail pourrit sur milieu -I- et -II-.
- Figure 11** : les champignons isolés à partir de l'ail sain sur milieu -I- et -II-.
- Figure 12** : les champignons isolés à partir d'ail lyophilisé sur milieu -II- et milieu pour levures.
- Figure 13** : Criblage sélectif de champignons antagonistes.
- Figure 14** : Témoin du criblage sélectif de champignons antagonistes.
- Figure 15** : Criblage sélectif de bactéries antagonistes.



---

**Figure 16** : Témoin du criblage sélectif de bactéries antagonistes.

**Figure 17** : test de confrontation.

**Figure 18** : témoin du test de confrontation.

**Figure 19** : croissance moyenne du diamètre mycélien de *S. Cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar, milieu Malt-agar et milieu Synthétique enrichis en extrait d'ail en fonction du temps (j).

**Figure 20** : croissance radial de *S. Cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 15°C pendant 10 jours.

**Figure 21** : croissance radial de *S. Cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 20°C pendant 10 jours.

**Figure 22** : croissance radial de *S. Cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 25°C pendant 10 jours.

**Figure 23** : croissance radial de *S. Cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 30°C pendant 10 jours.

**Figure 24** : (a) confrontation entre la colonie -I- et *S. Cepivorum* et le témoin.

(b) confrontation entre la colonie -I- et *Stylopage* et le témoin.

**Figure 25** : (a) confrontation entre la colonie -II- et *S. Cepivorum* et le témoin.

(b) confrontation entre la colonie -II- et *Stylopage* et le témoin.

**Figure 26** : confrontation entre la colonie B2 et *S. Cepivorum* (a) et son témoin (b).

**Figure 27** : confrontations entre la colonie B6 et *S. Cepivorum* (a) et son témoin (b) et la colonie B6 et *Stylopage* (c) et son témoin (d).

**Figure 28** : représentation graphique de la croissance moyenne en 1<sup>ier</sup> sens (a) et en 2<sup>ème</sup> sens (b) de *S. Cepivorum* confronté à la colonie B2 et la croissance moyenne du témoin (*S. Cepivorum*) (c).

**Figure 29** : (1) Caïeux d'ail traités et confrontés aux champignons parasites.

(2) Témoin non traité confronté aux champignons parasites.

**Figure 30** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 15mn par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

**Figure 31** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 30mn par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

**Figure 32** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 1h par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.



- 
- Figure 33** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 2h par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.
- Figure 34** : Evolution du poids moyen (g) des gousses trompés dans la boue de cendre salée et le témoin pendant 10 semaines de stockage.
- Figure 35** : Evolution du poids moyen des gousses traitées (pendant 15mn ; 30mn ; 1h et 2h) par la culture liquide de la colonie -I- et le témoin durant 30 jours de stockage.
- Figure 36** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 15mn par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.
- Figure 37** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 1h par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.
- Figure 38** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 30mn par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.
- Figure 39** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 2h par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.
- Figure 40** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités par la boue de cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.



---

## INTRODUCTION GENERALE

L'ail (*Allium sativum* L.) est l'une des épices alimentaires la plus courante, largement utilisée dans de nombreuses régions du monde. Pendant plusieurs siècles, différentes espèces du genre *Allium* ont été utilisées comme des légumes et des épices, et intégrées dans des médicaments traditionnels pour la guérison de diverses maladies.

Les arômes puissants et inhabituels de plusieurs de ces plantes et de leurs possibles applications médicales ont attiré l'attention des physiologistes végétaux et des chimistes (Akgul, 1993; Baytop, 1984; Carson, 1987; Graham & Graham, 1987; Parry, 1962). Il a été cultivé pendant des siècles, partout dans le monde, en raison de ses propriétés culinaires et médicinales (Baruchin, Sagi, Yoffe & Ronen, 2001; Sharma & Prasad, 2001). La plupart des épices et des herbes utilisées aujourd'hui ont été connus de la population des anciennes cultures à travers le monde, et elles ont été évaluées pour leurs pouvoirs conservateurs et médicinaux ainsi que des qualités de leurs saveurs et de leurs odeurs (Zaika, 1988).

En général, les *Alliums* possèdent un éventail d'ennemis naturelles (VII) et parmi ces ennemis, l'agent causal de la pourriture blanche « *Sclerotium cepivorum* ». L'ail semble l'espèce la plus sensible à ce champignon dévastateur (OEPP, 2000) et sa conservation constitue une préoccupation primordiale car il figure parmi les épices les plus recommandées et demander dans le monde entier.

La durée d'entreposage d'ail ne dépasse pas 8 mois à cause de la germination des sclérotés (formes de résistance de *S. cepivorum*) stimulée par les exsudats émis par les rhizomes des bulbes aux quels sont attachés, ce qui engendre d'énormes pertes.



---

La recherche d'une méthode de conservation biologique et/ou intégré constitue l'objectif de ce travail, et ceci nécessite une analyse microbiologique d'ail afin d'avoir une idée sur sa microflore phyllosphérique et d'isoler l'agent causal puis la recherche d'éventuels antagonistes microbiens ou fongiques de cet agent parasite.



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah  
Faculté des Sciences et Techniques  
Département de Biologie  
[www.fst-usmba.ac.ma](http://www.fst-usmba.ac.ma)

---



# ***REVUE BIBLIOGRAPHIQUE***

---

Faculté des Sciences et Techniques - Fès

☒ B.P. 2202 – Route d’Imouzzer – FES

☎ 212 5 35 60 29 53 Fax : 212 5 35 60 82 14



## I-Systématique de l'ail

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Liliopsida
Sous-classe	: Liliidae
Super ordre	: Lilianae
Ordre	: Amaryllidales
Famille	: Alliaceae
Sous-famille	: Allioideae
Genre	: <i>Allium</i>
Espèce	: <i>Allium sativum</i> L.



(Stavelikova, 2008)

## II-Données techniques sur la culture de l'ail au Maroc

Selon le bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA) réalisé à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat en Septembre 2002, le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural a publié des données techniques concernant la culture de l'ail au Maroc.

### II-1- Plante et importance de la culture au Maroc

L'ail (*Allium sativum*) est une plante bisannuelle, originaire de l'Asie et de la Méditerranée. Elle appartient à la famille botanique des Alliacées. La partie consommée est le bulbe constitué de caïeux. Le légume est nutritif et utilisé en médecine traditionnelle contre la diarrhée, les maux digestifs, l'hyper-tension artérielle et contre un certain nombre de toxines et venins dont le venin des scorpions et de certaines espèces de serpents. Il est riche en vitamines et en sels minéraux.



---

Au Maroc, les principales régions de production sont Taounate, Saïs, le littoral et les régions montagneuses.

## II-2- Préférences pédo-climatiques

La plante est de saison froide. Elle a de faibles exigences en température. Elle résiste au gel et présente une forte faculté d'enracinement en conditions difficiles de froid (1-2°C) et de sécheresse. La température optimale de germination des caïeux est de 15°C. L'optimum pour la croissance est de 18-22°C. La bulbaison exige des jours longs (dépassant la photopériode critique variétale); il faut alors être attentif pour ne pas importer des variétés dont la photopériode critique est longue (du Nord de l'Europe ou du Canada).

Les exigences en sol sont faibles; la culture préfère un sol sableux, bien enrichi de fumures organique et minérale. Il faut éviter les sols trop lourds qui drainent mal; la culture craint l'asphyxie permanente. Le pH optimal du sol est de 6-6,8.

## II-3- Variétés, travail de sol et semis

Les principales variétés utilisées au Maroc sont de deux types: *Allium sagittatum* et *Allium vulgare*. Le premier type donne une hampe florale en Mai-Juin et des graines (exemples de variétés: Roja, German, Red, Valencia). La hampe florale doit être éliminée dès son apparition afin d'éviter une chute de rendement. Le 2ème type est utilisé pour la production de bulbes, sans risque de montée à graines (exemples de variétés: California early, California late).

La multiplication se fait exclusivement par plantation directe en place définitive des caïeux. Il est préférable de choisir les caïeux de la périphérie puisque ceux du centre sont de petite vigueur et donnent des plantules chétives. La date de plantation



pour une culture récoltée au printemps (sur le littoral) est Octobre-Novembre. Pour une culture récoltée en fin d'été-automne, la plantation se fait en Décembre-Janvier. L'arrangement des plantes sur le terrain est de 50-60 cm entre cuvettes de 1-1,2 m, avec 4 lignes par cuvette. Le besoin en semence est de 700-1000 kg/ha.

## **II-4- Irrigation**

La phase végétative est sensible au stress hydrique. La phase de grossissement des bulbes est moins sensible à un déficit en eau. Plus les besoins en eau de la culture sont satisfaits, plus le rendement est meilleur. Il faut arrêter l'irrigation un à deux mois avant la récolte afin de ressuyer les bulbes.

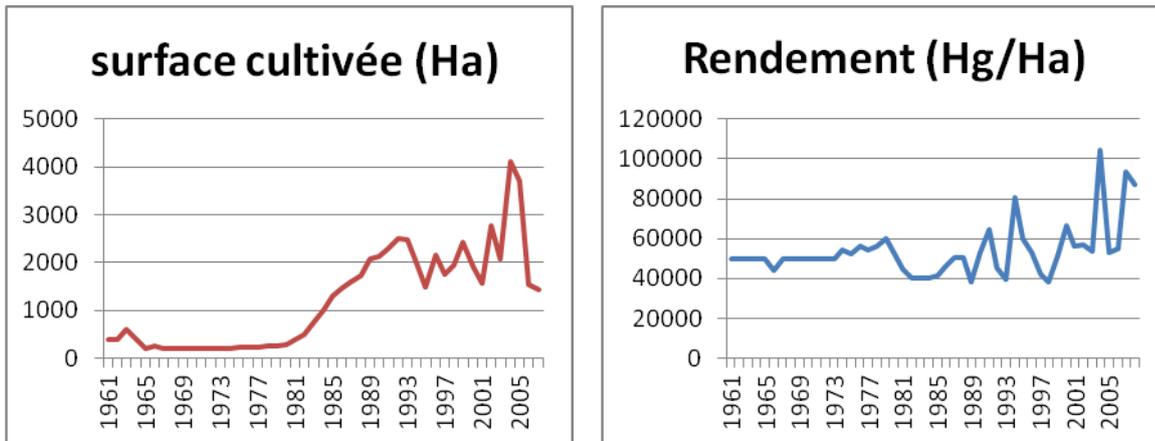
## **II-5- Récolte et manipulation du produit**

La récolte commence au stade ramollissement et jaunissement des feuilles. Il faut laisser les bulbes sur le terrain après arrachage des plantes (c'est le ressuyage) afin qu'ils perdent l'excès d'eau qu'ils contiennent. Le rendement moyen national est de 12-15 T/ha pour les récoltes de printemps; 4-5 T/ha pour les récoltes d'automne (utilisées comme semence) et 8-10 T/ha pour la culture de saison.

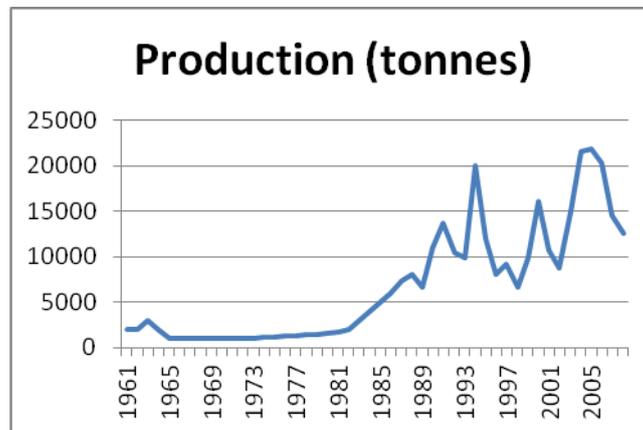
## **III-Production, rendement et surface cultivée en ail**

Depuis 1990, la surface cultivée (Fig.1) en ail au Maroc a augmenté de 400 Ha en 1961 à 2000 Ha, et par conséquent la production (Fig.2) a évolué de 2000 à 10000 tonnes. Mais le rendement Hg/Ha (Fig.1) n'a pas évolué et a été au alentour de 50000 Hg/Ha à part quelques années où le rendement a atteint son maximum (105000 Hg/Ha) en 2003.

D'après le tableau 1, la Chine représente le pays leader dans la production d'ail avec 1000000 tonnes en 2003 ce qui vaut 22% de la production mondiale. Suivi de l'Inde et la Corée du Sud avec 11% et 9% successivement de la production mondiale.



**Figure 1 :** Représentations graphiques de la surface cultivée (Ha) et le rendement (Hg/Ha) en ail au Maroc 1961-2008 (FAOSTAT).



**Figure 2 :** Représentation graphique des estimations sur la production annuelle (tonnes) en ail au Maroc 1961-2008 (FAOSTAT).

**Tableau 1: Production en tonnes. Chiffres 2003-2004**  
 Données de FAOSTAT ([FAO](http://www.fao.org))

	2003		2004	
<a href="#">Chine</a>	1 000 000	22 %	1 057 800	24 %
<a href="#">Inde</a>	500 000	11 %	500 000	11 %
<a href="#">Corée du Sud</a>	378 846	9 %	378 846	9 %
<a href="#">États-Unis</a>	283 090	6 %	283 090	6 %
<a href="#">Russie</a>	218 830	5 %	220 000	5 %
<a href="#">Égypte</a>	216 000	5 %	216 000	5 %
<a href="#">Espagne</a>	188 900	4 %	157 600	3 %



---

Autres pays	1 659 434	38 %	1 612 011	37 %
<b>Total</b>	<b>4 445 100</b>	<b>100 %</b>	<b>4 425 347</b>	<b>100</b>

## IV-Propriétés chimiques et physiques de l'ail

Selon une étude faite sur l'ail de la région de Kastamonu (TaşkÖprü) province de Turquie, les propriétés chimiques et physiques de l'ail ont été établies à la Faculté de l'agriculture -Selçuk University- 2004.

### IV-1- Propriétés chimiques et la teneur en minéraux

**Tableau 2** : les propriétés chimiques de l'ail. (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).<sup>a</sup> N × 6,25

Propriétés	Valeurs
Humidité (%)	66,32
Protéines brutes <sup>a</sup> (%)	9,26
Huile brute (%)	0,34
Energie brute (kcal/100g)	410,7
Cellulose brute (%)	2,17
Cendre (%)	2,30
Eau soluble extrait (%)	18,4
pH	6,05
Acidité (%)	0,172
Dimethyl sulfite (µcg/kg)	1779
Huile essentielle (%)	0,14

**Tableau 3** : La teneur en minéraux de l'ail (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).

Minéral	Valeur (ppm)	minéral	valeur (ppm)
Al	25,15 ± 0,601	K	21,378.84 ± 395,39
B	17,63 ± 0,021	Li	0,029 ± 0,001
Ba	21,68 ± 5,728	Mg	1056,15 ± 25,618
Bi	1,41 ± 0,321	Mn	12,41 ± 0,205
Ca	363,61 ± 0,020	Na	532,78 ± 77,902



Cd	0,08 ± 0,018	Ni	1,41 ± 0,053
Co	0,28 ± 0,035	P	6009,37 ± 54,744
Cr	18,35 ± 1,739	Pb	0,153 ± 0,074
Cu	9,12 ± 0,781	Sr	4,85 ± 0,003
Fe	52,91 ± 2,874	Zn	27,42 ± 1,329
Ga	0,35 ± 0,117		

## IV-2- Propriétés physiques

**Tableau 4** : Caractéristiques dimensionnelles de l'ail (entier et segments) à 66,32% m.c.d.b. (Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2004).

Caractéristiques dimensionnelles	Valeurs
Diamètre de l'ail entier (mm)	46.51 ± 0.577
Poids de l'ail entier (g)	32.81 ± 1.098
Nombre de segment de l'ail entier	17.56 ± 0.402
Longueur du segment d'ail (mm)	27.24 ± 0.302
Largeur du segment d'ail (mm)	14.46 ± 0.437
Épaisseur du segment d'ail (mm)	9.25 ± 0.240
Masse du segment d'ail (g)	2.25 ± 0.124
Diamètre moyen géométrique du segment d'ail (mm)	15.15 ± 0.284
Sphéricité du segment d'ail	0.559 ± 0.010

## V-Composition de l'ail en acides gras

Quatre acides gras (AG) caractérisent le genre *Allium* à un pourcentage supérieur à 80%. L'acide linoléique est l'AG majeur dans toutes les espèces de près de 50% classant *Allium* dans la grande famille de plantes où l'acide linoléique est prédominant. L'acide palmitique représente jusqu'à 20% du total des AG et est le seul acide gras saturé trouvé chez ce genre. En outre,  $\alpha$ -linoléique et acide oléique



présentent une variation comprise entre 3-13%. Tous les acides mineurs ont un pourcentage inférieur à 1-2%, et ils ne semblent pas être présents dans toutes les espèces (Michael C. Tsiaganis, Katerina Laskari, Efi Melissari, 2005).

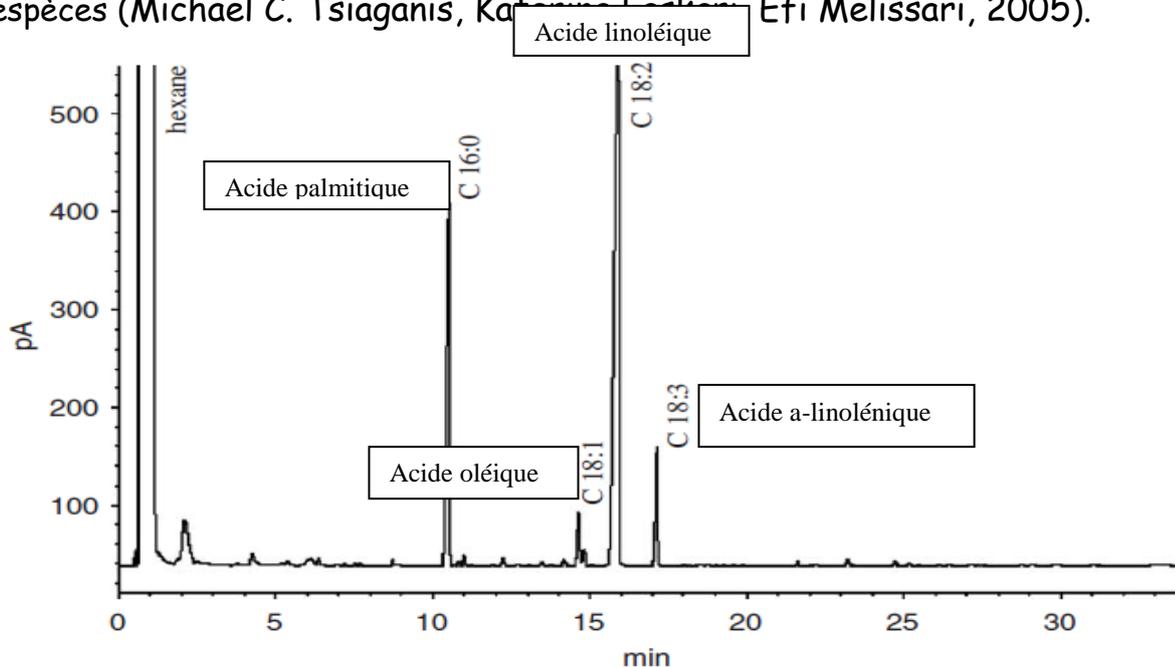


Fig. 3 : Chromatogramme représentant les lipides totaux de l'ail. (Michael C. Tsiaganis, Katerina Laskari, Efi Melissari, 2005).

## VI- Les bienfaits de l'ail

L'ail est utilisé depuis plusieurs centaines d'années pour traiter divers problèmes de santé. Un très grand nombre d'études ont été réalisées afin de mieux connaître les principes actifs de l'ail et leurs effets physiologiques. Dans ces études, l'ail est utilisé sous différentes formes : frais, déshydraté, ainsi que sous forme d'extrait, d'huile ou de teinture. Il est à noter que les données suivantes se consacrent uniquement aux effets de la consommation d'ail frais (cru ou cuit) tel qu'utilisé dans diverses préparations alimentaires.

### **VI-1- Principes actifs et propriétés**

Pour les légumes de la famille des alliacées, plusieurs études prospectives et épidémiologiques ont démontré qu'une consommation élevée de légumes et de fruits



diminuait le risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques (Bazzano LA, Serdula MK, Liu S., 2003 ; Lampe JW., 1999). Plus spécifiquement, des études ont démontré que la consommation de légumes de la famille des alliacées (ail, oignon, échalote, ciboulette, ciboule, poireau) aurait un effet protecteur contre les **cancers de l'estomac et de l'intestin** (You WC, Li JY, et al., 2005 ; Bianchini F, Vainio H., 2001). Par ailleurs, la consommation élevée d'ail a été faiblement associée à une diminution d'infections dues à la bactérie *Helicobacter pylori* (You WC, Zhang L, et al., 1998).

## VI-2- Principes actifs bénéfiques

L'ail contient de nombreux composés actifs, lesquels apportent différents bénéfices pour la santé. On attribue à certains de ces composés plusieurs rôles. C'est le cas entre autres des composés sulfurés, associés à la fois à la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires. Soulignons que les molécules phytochimiques de l'ail ne sont pas toutes actives dans l'organisme et que certaines restent encore à découvrir (Amagase H., 2006). Mentionnons que les principes actifs contenus dans l'ail frais travaillent de façon synergique afin de produire différents effets sur la santé.

### ➤ Composés sulfurés

Ces substances sont nommées ainsi car elles contiennent un ou des atomes de soufre dans leur structure chimique. Les composés sulfurés sont libérés lorsque l'ail est **coupé, broyé ou écrasé** (Tattelman E., 2005). À ce moment, l'alliine (une molécule inactive et inodore de l'ail) entre en contact avec un enzyme et se transforme en **allicine**, qui est la molécule responsable de l'odeur caractéristique de l'ail. Par la suite, l'allicine est transformée en d'autres composés sulfurés tels que le **diallyl sulfide**, le **diallyl disulfide** et l'**ajoène**. Ce sont principalement ces composés qui pourraient



empêcher certaines **cellules cancéreuses** de se multiplier et ainsi protéger l'organisme contre de potentiels agents cancérigènes (Béliveau R, Gingras D., 2005 ; Wildman REC., 2001).

Dans certaines études, l'**allicine** a été proposée comme étant le principal composé actif associé à l'**effet cardio-protecteur** de l'ail (Gardner CD, Messina M, *et al.*, 2003), entre autres par sa capacité de réduire les plaques d'**athérosclérose** chez l'animal (Gonen A, Harats D, *et al.*, 2005). Par contre, lorsqu'on tient compte du fait que l'allicine n'est pas absorbée dans le sang durant la consommation d'ail, il est peu probable qu'elle contribue en tant que tel à l'effet sur la santé cardiovasculaire (Amagase H., 2006). L'allicine serait plutôt un composé transitoire rapidement transformé en d'autres composés sulfurés qui, eux, sont actifs dans l'organisme (Amagase H., 2006). Finalement, l'**ajoène** serait un composé capable d'empêcher la synthèse (formation) du cholestérol in vitro (Jakubowski H., 2003) et pourrait ainsi jouer un rôle dans l'**effet hypocholestérolémiant** attribué à l'ail.

### ➤ Les Antioxydants

Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les **radicaux libres**. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des **maladies cardiovasculaires**, de certains **cancers** et d'autres maladies liées au **vieillessement** (Willcox JK, Ash SL, Catignani GL., 2004). L'ail contient différents composés antioxydants tels des **flavonoïdes** (Miean KH, Mohamed S., 2001) et des **tocophérols** (Gorinstein S, Drzewiecki J, *et al.*, 2005), en plus des **composés sulfurés** qui contribueraient aussi à son activité antioxydante (Leelarungrayub N, Rattanapanone V, *et al.*, 2006). La consommation d'ail frais (cru ou cuit) **augmenterait l'activité**



antioxydante dans le plasma chez des rats (Gorinstein S, Leontowicz H, *et al.*, 2006), mais la consommation quotidienne de 3 g à 6 g d'ail cru pendant sept à huit jours chez l'humain n'a pas confirmé cette observation (Munday JS, James KA, *et al.*, 1999 ; Hageman G, Krul C, *et al.*, 1997). On sait tout de même qu'à poids équivalent, l'ail possède une **capacité antioxydante plus élevée** qu'une large sélection de légumes (Cao G, Sofic E, Prior RL., 1996 ; Vinson JA, Hao Y, *et al.*, 1998). Par contre, lorsque la fréquence et la grosseur de la portion habituellement consommée sont prises en considération, l'impact de la consommation d'ail sur la capacité antioxydante totale demeure limité, comparativement à d'autres légumes consommés en plus grandes quantités (Vinson JA, Hao Y, *et al.*, 1998).

#### ➤ **Autres composés**

Les **saponines** sont des composés présents dans l'ail qui ont la capacité de diminuer le cholestérol sanguin chez l'animal (Matsuura H., 2001) et la coagulation du sang in vitro (Lanzotti V., 2006), deux effets recherchés pour la prévention des maladies cardiovasculaires. De plus, il a été démontré chez l'animal que la **protéine d'ail** isolée pourrait avoir un effet **hypolipémiant** (Rajasree CR, Rajamohan T, Augusti KT., 1999). Ces composés prometteurs pourraient donc être associés à l'**effet cardio-protecteur** de l'ail, mais davantage d'études seront nécessaires afin de mieux connaître leurs rôles.

## **VII-Principaux ennemis des Alliums**

La directive sur la bonne pratique phytosanitaire (BPP) des cultures d'*Allium* décrite en Septembre 2000 par l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) détermine les principaux ennemis et les stratégies qui doivent être prises pour la BPP des cultures d'*Allium*.



Le produit récolté d'une culture d'*Allium* est généralement un bulbe qui se forme dans le sol. Les organismes nuisibles transmis par le sol qui attaquent les bulbes ont donc une importance particulière.

Les principaux organismes nuisibles des *Allium* traités dans cette directive sont les suivants :

- fontes des semis;
- *Sclerotium cepivorum* (pourriture blanche);
- *Botryotinia squamosa* (brûlure des feuilles);
- *Peronospora destructor* (mildiou de l'oignon);
- *Phytophthora porri* (mildiou du poireau);
- *Alternaria porri* (alternariose);
- *Cladosporium* spp. (Cladosporiose);
- *Puccinia allii* (rouille) ;
- *Urocystis cepulae* (charbon);
- *Colletotrichum dematium* f.sp. *Circinans* (anthracnose);
- *Pyrenochaeta terrestris* (maladie des racines roses) ;
- *Fusarium culmorum* (fusariose basale du poireau);
- *Fusarium oxysporum* f.sp. *Cepae* (fusariose du bulbe d'oignon);
- *Aspergillus niger* (pourriture noire);
- *Penicillium* spp. (pourriture bleue);
- *Burkholderia gladioli* pv. *Alliicola* (pourriture bactérienne du collet);
- viroses;
- *Thrips tabaci* (thrips);
- *Delia antiqua* (mouche de l'oignon);
- *Ceutorhynchus suturalis* (charançon de l'oignon);



- 
- *Delia platura*, *Delia florilega* (mouches des semis);
  - *Acrolepiopsis assectella* (teigne du poireau);
  - *Liriomyza* spp. (mouches mineuses);
  - pucerons;
  - chenilles;
  - *Ditylenchus dipsaci* (nématode des tiges);
  - adventices.

### **VIII- *Sclerotium cepivorum* (La pourriture blanche)**

*Sclerotium cepivorum* est l'agent causal de la maladie communément appelée pourriture des racines d'*Allium*, il est rencontré partout dans le monde. Une fois un champ d'*Allium* spp. est colonisé par *Sclerotium cepivorum*, il est difficile et coûteux de poursuivre sa croissance. Ce champignon est favorisé par un temps frais et survit dans le sol sous forme de petites structures rondes appelées **sclérotés**. Ces sclérotés peuvent survivre dans le sol pendant des décennies (Courtesy F. J. Crowe, 2008).

La germination des sclérotés dormants dans le sol est stimulée par le passage des racines d'*Allium*, du fait des substances volatiles qu'elles émettent, jusqu'à 1cm de distance. Ainsi, les températures cardinales pour l'infection des racines sont 10°C, 18°C et 24°C (C. M. Messiaen, D. Blancard, F. Rouxel, R. Lafon, 1991).

#### **VIII-1- Origine de l'inoculum**

Les sclérotés présents dans le sol peuvent avoir pour origine les racines de plantes malades des cultures précédentes ou leurs déchets, mais aussi peuvent être amenés par les eaux de ruissellement ou par des pratiques culturales (fumiers ou compost n'ayant pas suffisamment chauffé). Chez l'Ail et l'Echalote, des contaminations discrètes des semences peuvent être à l'origine des dégâts



---

automnaux, et entrainer la contamination de parcelles jusque-là indemnes (C. M. Messiaen, D. Blancard, F. Rouxel, R. Lafon, 1991).

### **VIII-2- Ecologie et cycle de vie**

Les sclérotés qui se forment sur l'hôte en décomposition se mettent en dormance jusqu'à la germination stimulée par les exsudats uniques émis par la plante hôte, en particuliers des exsudats racinaires uniques à *Allium spp.* Le temps froid est également nécessaire pour la germination des sclérotés et la croissance des hyphes. Ainsi le mycélium va se développer à travers le sol, et une fois il rencontre la racine de l'hôte, le champignon forme un appressorium, structures dont leur but est d'aider à la fixation et à la pénétration de l'hôte. Le mycélium peut se développer vers l'extérieur à partir des racines d'une plante aux racines d'une autre plante voisine, et c'est par cette méthode que l'agent pathogène peut se déplacer dans une allée plantée. Les sclérotés se forment sur les tissus de l'hôte en décomposition, et une fois l'hôte se désintègre complètement, les sclérotés sont libres dans le sol. Si les bulbes sont placés en stockage, l'agent pathogène peut poursuivre à pourrir les bulbes s'il y a une forte humidité et des températures basses (Crowe, F.J. 2008).

### **VIII-3- Les symptômes**

Les premiers symptômes qui vont probablement attirer l'attention sont les symptômes foliaires. Les plantes peuvent être rabougries ou il y aura jaunissement et flétrissement des feuilles. Finalement, les feuilles meurent en commençant par les plus vieilles feuilles.



**Fig. 4** : Les symptômes foliaires d'une attaque de *S. cepivorum* (Courtesy E. A. Kurtz, 2008).

Le mycélium est favorisé par un sol frais et humide, et dans de bonnes conditions le mycélium peut couvrir l'ensemble des bulbes (Fig. 5). Sur le tapis du mycélium, des sclérotés (Fig. 6) noirs d'environ la taille d'une graine de pavot se forment.



mycélium de *S. cepivorum* couvrant  
l'ensemble des bulbes (Courtesy Paul  
Koepsell, 2008)



**Fig.5** :

**Fig.6** : Sclérotés de *S. cepivorum*  
(Mike Davis, 2008)

#### VIII-4- La levée de la microbiostase

*Sclerotium cepivorum* peut se maintenir plusieurs années dans le sol, sous formes de petits sclérotés qui germent seulement à proximité des racines d'*Allium* ou de quelques espèces apparentées. On peut provoquer expérimentalement la germination des sclérotés en introduisant un broyat de racines d'*Allium* dans le sol. L'effet s'exerce à distance (quelques centimètres), suggérant qu'il est dû à des composés volatils (Pierre Davet, 1996). Plusieurs expériences ont cependant montré que broyat ou exsudats n'avaient pas d'action directe sur *S. cepivorum*. Pour que la germination ait lieu, il faut que les Alkyl et les Alkényl-cystéine sulfoxydes non volatils exsudés



---

par les racines soient d'abord transformés par la microflore rhizosphérique en thiols et en sulfures organiques volatils (Coley-Smith, 1987) : ce sont eux qui agissent sur les sclérotés. Le disulfure de diallyle est un des plus actifs de ces métabolites.

## PREMIER CHAPITRE

# Analyse microbiologique de l'Ail (*Allium sativum*) en stockage



## I- INTRODUCTION

### I-1- Généralités

Les propriétés culinaires et médicinales de l'ail, ont rendu ce condiment parmi les produits les plus recommandés et demandés dans le monde entier. Par conséquent, sa conservation a été et reste une préoccupation des agriculteurs, chercheurs, et des industries pharmaceutiques et alimentaires, etc.

Au Maroc, deux variétés d'ail sont connues :

-La variété blanche qui ne se conserve pas, est récoltée au printemps.

-La variété jaune ou rouge se conserve plus ou moins longtemps selon les conditions de stockage. Ceci après récolte et ressuyage des bulbes en été.

Il a été annoncé par Elattir H. et col. 2002, qu'une température comprise entre 0 et 6°C, et une atmosphère sèche (60-70%RH°) constituent les meilleures conditions de stockage de l'ail.

Plusieurs autres méthodes de stockage de l'ail existent, on peut citer :

**La fermentation** : est une technologie facile est simple mais le risque d'altération est toujours à craindre. L'accumulation de l'acide lactique libéré par les bactéries lactiques, responsables de la fermentation, provoque la chute du pH à une valeur ultime entre 4 et 4,5 (Faid M., 2002). En effet, le rôle de la fermentation est une conservation de l'aliment par une acidification biologique naturelle qui inhibe les microorganismes autres que les bactéries lactiques en général.

**La lyophilisation** qui est une méthode de conservation des aliments. Elle consiste à retirer l'eau d'un aliment afin de le rendre stable à la température ambiante et de



---

faciliter sa conservation (ROUX, Jean-L., 1994). On peut décomposer la lyophilisation en trois étapes principales :

- Congélation ;
- Dessiccation primaire ou sublimation ;
- Dessiccation secondaire ou séchage final.

Il faut toutefois noter qu'il y a parfois une étape préliminaire à la lyophilisation, soit la réduction en poudre ou purée des aliments et des médicaments.

Toutes les méthodes de conservation ont pour but d'éliminer ou de bloquer le développement des microorganismes altérant l'ail en stockage.

## **I-2- Objectif du travail**

Le but de cette partie de notre recherche, vise à effectuer une analyse microbiologique de l'ail stocké à savoir : l'ail sain, l'ail pourrit et l'ail lyophilisé. Cette analyse consiste à faire la numération et l'isolement des microorganismes associés aux différents types d'ail. Les microorganismes connus pour un quelconque intérêt seront purifiés puis identifiés et/ou stockés.

## **II- MATERIELS ET METHODES**

### **II-1- Numération de la microflore d'ail en stockage**

#### **II-1-1- Préparation des solutions de base**



Les milieux de culture utilisés en microbiologie sont généralement enrichis avec une ou plusieurs solutions de base. En ce qui nous concerne, nous avons préparé les solutions suivantes :

-solution d'oligo-élément (voir annexe I) préconisée dans les analyses microbiologiques environnementales.

-solution **d'extrait d'ail** dont la préparation et l'utilisation sont optimisées au début de notre recherche.

Cet extrait d'ail a été préparé selon le protocole suivant :

- A l'aide d'un broyeur (fig.7), 100g d'ail ont été broyé dans 400ml d'eau distillée stérile ;
- Le broyat obtenu a été hydrolysé à l'autoclave pendant 20mn à 120°C ;
- Après 24h, le broyat hydrolysé a été filtré par un entonnoir **Büchner**;
- Le jus obtenu a été ensuite centrifugé à 10°C pendant 15mn à 4500 t/min afin d'éliminer les grosses particules.

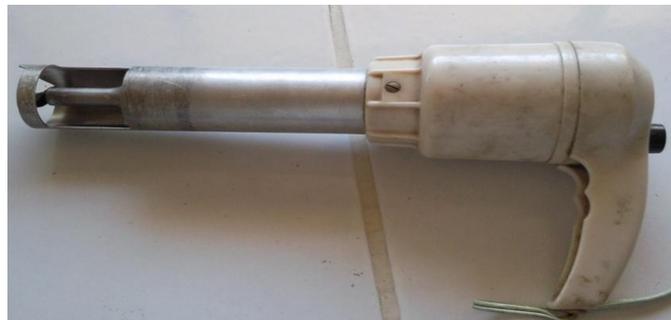


Figure 7 : broyeur utilisé pour la préparation d'extrait d'ail.

## II-1-2- Préparation des milieux de culture

### a) Milieux Pour champignons

- Milieu -I-, synthétique gélosé (Iraqi housseini, 2001) modifié par enrichissement en extrait d'ail à 5% (v/v) (annexe I).



- 
- Milieu -II-, utilisé pour la 1<sup>ère</sup> fois. Il est composé d'extrait d'ail à 8% (v/v) et de gélose à 2% (p/v) (annexe I).

**b) Milieux Pour bactéries totales, levures et actinomycètes**

Il s'agit de milieux électifs classiques entrepris par Iraqi housseini (2001), mais que nous avons modifiés par enrichissement en extrait d'ail (annexe I).

**II-1-3- Préparation des suspensions-dilutions d'ail**

En utilisant le broyeur (fig.7), 10g de chaque type d'ail ont été broyés séparément et aseptiquement dans 100ml d'eau distillée stérile, puis des dilutions  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  ont été préparées à partir de chaque broyat selon les conditions standards en microbiologie.

**II-1-4- Ensemencement et incubation**

0,1ml (en trois répétitions) de chaque dilution et de chaque type d'ail, ont été séparément déposés au centre de trois boîtes de Pétri de 90mm de diamètre de chaque milieu de culture gélosé solide. Après étalement, les boîtes ont été incubées (position retournée), à 25°C, à l'obscurité et dans une atmosphère saturée d'eau.

Les rhizomes d'ail sain, d'ail pourrit et d'ail lyophilisé ont été déposés directement sur les milieux de culture dans des boîtes de Pétri (trois boîtes pour chaque type d'ail et chaque milieu).

Ne n'oublions pas de mentionner que chaque expérience a été répétée trois fois pour vérifier la reproductibilité des résultats obtenus.

**II-1-5- Lecture des résultats**

Des analyses macroscopiques ont été réalisées toutes les 24h pendant 10 jours. Elles ont consisté à dénombrer les colonies des groupes microbiens (bactéries, moisissures, levures et actinomycètes) qui sont apparues sur chaque milieu et pour



chaque type d'ail. Ces dénombrements permettent d'avoir une idée sur la biomasse de la microflore associée aux différents types d'ail. Chaque colonie est ensuite repiquée selon les règles microbiologiques sur un milieu vierge convenable dans des boîtes de Pétri de 45mm de diamètre. Après, chaque souche est purifiée pour une éventuelle identification et/ou étude.

### **II-1-6- Purification des souches isolées**

Les bactéries et les levures ont été purifiées par la méthode des stries sur le même milieu d'isolement. Alors que les champignons ont été purifiés en déposant un inoculum de la partie apicale de chaque colonie au centre de la boîte en position retournée sur même milieu d'isolement.

Les boîtes repiquées ont été incubées en position retournée à l'étuve à 25°C dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau et à l'obscurité continue.

Des observations microscopiques au bleu coton pour les champignons filamenteux, au bleu de méthylène pour les levures et au gram pour les bactéries, ont été effectuées pour vérifier si les germes microbiens ont été purifiés ou non.

### **II-1-7- Indentification préliminaire des souches isolées**

Au cours de ce travail, pour des contraintes de temps, seule la détermination des genres fongiques a été réalisée. Pour ce faire, des observations et des prises de photographies des colonies des champignons ont été effectuées tous les jours jusqu'à la colonisation de toute la boîte. Les caractères relevés à chaque lecture sont :

#### **II-1-7-1- Caractères macroscopiques**

- la croissance exprimée en cm par jour ou en nombre de jours qu'il a fallu pour envahir la boîte ;
- la présence des structures spéciales (cystides, cellules cuticulaires, etc.).



Tous ces caractères ont été rassemblés dans des fiches d'identification dans lesquelles, le numéro et l'origine de chaque souche sont notés.

### **II-1-7-2- Classification**

La détermination du genre pour chaque champignon a été faite selon le système adopté par Saccardo « in : Barnette & Hunter (1972) » pour la description des groupements de conidiophores ; de Kendrick & Nagraj (1979) pour les hyphales à conidiophores séparés et les conidiomales à conidiophores groupés en conidiomes, et de Subramanian (1983) pour l'ontogénie conidienne qui selon Minter et *al.* (1983) consiste à tenir compte de l'ontogénèse, la maturation, la délimitation, la sécession, la prolifération et la régénération conidiennes. En fin, la production de la collerette a été vérifiée pour chaque germe.

### **II-1-8- Stockage et conservation des souches**

Pour la conservation des bactéries et des levures, le protocole suivant a été adopté :

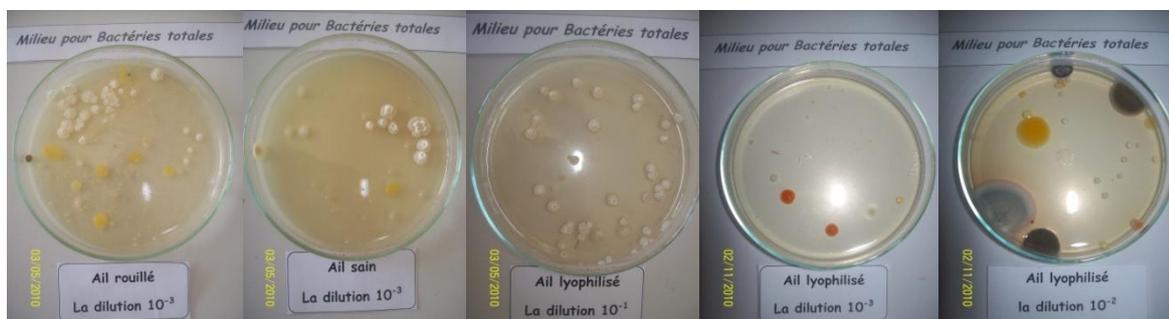
- Une culture liquide jeune de 24h à 48h a été préparée pour chaque souche de bactérie et de levure.
- Dans des tubes eppendorf stériles, nous avons mis 850 $\mu$ l de la culture liquide puis nous avons ajouté 150 $\mu$ l de glycérol stérile.
- Sur chaque tube eppendorf, nous avons noté la référence de la souche et la date de conservation.
- Les tubes eppendorf sont rapidement congelés à -20°C.

Les champignons ont été stockés à 4°C, sur milieu gélosé dans des tubes inclinés.

## **III- RESULTATS ET DISCUSSION**

### **III-1- Numération de la microflore d'ail en stockage**

Après 48h d'incubation des boîtes ensemencés par un inoculum de 0,1 ml de chaque échantillon d'ail à 25°C, nous avons remarqué la croissance des bactéries (fig.8) et des levures (fig.9) chez les différents types d'ail (ail sain, ail pourrit et ail lyophilisé). Mais nous n'avons pas révélé la croissance des actinomycètes, et ceci revient peut être à la nature de ce groupe microbien qui intervient normalement au dernier stade de dégradation de la matière organique.



**Figure 8** : Développement des colonies bactériennes isolés à partir d'ail sain, pourrit et lyophilisé.



**Figure 9** : Développement de levures isolés à partir d'ail sain, pourrit et lyophilisé.

Les champignons ont pris plus de temps (après 72h d'incubation) que les bactéries pour apparaître. Leurs colonies ont été bien développées après 5 jours d'incubation.

Chez l'ail pourrit (fig.10), il y a dominance d'un seul champignon sur le milieu -I- et le milieu -II-. Chez l'ail sain (fig.11), des champignons ont poussé sur milieu -I- et d'autres sur milieu -II-. Nous n'avons noté aucun développement fongique sur milieu I



pour l'ail lyophilisé, mais sur milieu pour levures (fig.12). Cependant, chez l'ail sain et lyophilisé nous avons obtenu une diversité fongique importante.



milieu -I- pour champignon

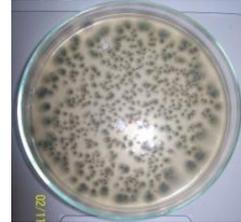


milieu -II- pour champignons

**Figure 10** : les champignons isolés à partir d'ail pourrit sur milieu -I- et -II-.



milieu -I- pour champignons



milieu -II- pour champignons

**Figure 11** : les champignons isolés à partir de l'ail sain sur milieu -I- et -II-.



milieu -I- pour champignons



milieu pour levure



**Figure 12** : les champignons isolés à partir d'ail lyophilisé sur milieu -II- et milieu pour levures.



Tableau 5 : Dénombrement de la microflore isolée à partir d'ail sain, d'ail pourrit et d'ail lyophilisé en UFC par gramme poids sec d'ail.

	Ail sain	Ail pourrit	Ail lyophilisé
Nombres de bactéries UFC/g poids sec	$1,22 \times 10^6$	$3,56 \times 10^6$	$9 \times 10^3$
Nombres de levures UFC/g poids sec	$15,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$
Nombre de champignons UFC/g poids sec	$3 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	$7 \times 10^4$

Nous avons constaté une charge importante de bactéries chez l'ail pourrit et l'ail sain par rapport à l'ail lyophilisé (tableau 5). Le nombre de levures est très faible chez l'ail sain et l'ail lyophilisé alors que la charge fongique d'ail pourrit et d'ail sain est plus importante par rapport à celle de l'ail lyophilisé. La faible charge en microorganismes d'ail lyophilisé par rapport aux autres types d'ail en stockage peut être due à la lyophilisation qui a éliminée un éventail de microorganismes.

### III-2- Identification des souches isolées :

Pour des contraintes de temps, nous n'avons pas procédé à l'identification des bactéries et des levures développées dans nos milieux de culture. Cependant, d'après une étude menée sur l'ail en Argentine la flore bactérienne a été composée de *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides* et des levures (Filsinger B., et al, 2004).

Les champignons isolés puis purifiés à partir de différents type d'ail appartiennent à différents genres et espèces. En effet, chez l'ail pourrit, nous avons identifié un seul champignon dominant appartenant au genre *Stylopage* avec une densité moyenne exprimée en UFC/g variait de  $3.10^5$  et  $3,4.10^5$  (annexe V). Les espèces identifiées appartiennent au genre *Penicillium* ( $2,1.10^4$  UFC/g), *Cladosporium*



---

( $2,6 \cdot 10^5$  UFC/g) et *Sclerotium* avec une densité moyenne de  $1,4 \cdot 10^4$  UFC/g chez l'ail sain (annexe V). Chez l'ail lyophilisé, les champignons ont été représentés par le genre *Cladosporium*, *Monilia*, *Ulocladium*, *Penicillium* et *Paecilomyces variotii* avec une densité moyenne de  $1,4 \cdot 10^4$  UFC/g chacun (annexe V).

Ces résultats ont montré une diversité importante par rapport à celle obtenue chez l'ail d'argentine (Filsinger B., et al, 2004) où a été révélée la présence que de *Penicillium spp.* et *Monilia Spp.* Cependant, Bertolini P. et Tian S. (1996) ont mis en évidence la présence de *Penicillium spp.*, *Helminthosporium allii*, *Botrytis spp.* et *Fusarium spp.*

Cette différence au niveau des résultats peut être due aux conditions environnementales de culture d'ail ou bien aux protocoles suivis pour l'analyse microbiologique d'ail.

La notion courante selon laquelle l'ail a des propriétés antifongiques et antibactériennes, semble être controversée par les résultats que nous avons obtenu, et ceux publiés par un grand nombre d'auteurs (J. C. Harris ; S. L. Cottrell ; S. Plummer · D. Lloyd, 2001). Il faut préciser que les différences entre ces résultats émanent essentiellement de l'utilisation de milieux de cultures et des techniques différentes. Au cours de notre étude, nous avons travaillé dans les conditions les plus proches de celles de l'ail. Ceci, en utilisant son extrait, soit tel-quel, mais gélosé, soit pour enrichir nos milieux connus par leur performance dans les études microbiologiques de l'environnement. Les milieux utilisés par les argentins sont valables dans les analyses microbiologiques courantes alimentaires et médicales.

Dans cette étude, le résultat qui nous apporte le plus d'intérêt est celui de l'isolement et la purification des champignons (*Sclerotium* et *Stylopaga*) responsables



---

de la décomposition de l'ail stocké. Ces germes constituent le matériel pour la recherche d'une méthode biologique de conservation de ce condiment.

## **IV- CONCLUSION**

L'analyse microbiologique de l'ail en stockage a montré une diversité assez importante au niveau des champignons présents chez l'ail sain et l'ail lyophilisé. Cependant, un seul germe du genre *Stylopage* compose la flore fongique chez l'ail pourrit.

Les résultats de cette analyse microbiologique ne coïncident pas avec des études faites dans d'autres pays. Ceci serait dû essentiellement aux conditions de culture de l'ail et les méthodes utilisées pour l'analyse microbiologique.

Cette partie du travail, nous a permis d'atteindre notre objectif principal qui est l'isolement des agents de pourriture blanche d'ail à savoir *Sclerotium cepivorum* et *Stylopage*, sur lesquels reposent la suite de notre travail.



---

## DEUXIEME PARTIE

# Recherche des antagonistes des champignons « *Sclerotium et Stylopage* » de la pourriture blanche de l'ail.



## I- INTRODUCTION

### I-1- Généralité

En écologie, le terme « **antagonisme** » désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne mixte (Curl et Truelove, 1986). L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose.

La **compétition** entre deux ou plusieurs micro-organismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitant pour la croissance (Dommergues et Mangenot, 1970).

L'**hyperparasitisme** est l'attaque directe d'un micro-organisme **par** un autre dans un but nutritionnel (Gagné 1984). Le sol qui héberge une large variété de populations microbiennes, constitue un milieu favorable pour l'apparition du parasitisme.

Les **sidérophores** sont des molécules extracellulaires qui possèdent une grande affinité pour le fer ferrique (ce dernier est présent dans le sol à faible concentration sous forme de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ). Les champignons et toutes les bactéries aérobies et anaérobies facultatives produisent une grande variété de sidérophores (Lynch 1990; Kapulnik 1996). Les sidérophores en séquestrant le fer ferrique au niveau de la rhizosphère peuvent causer l'inhibition des autres micro-organismes y compris les phytopathogènes dont l'affinité pour le fer est faible (Kapulnik 1996). Cependant, le



---

mécanisme des sidérophores n'est opérable que lorsque la concentration du fer est faible.

L'**antibiose** est l'inhibition d'un micro-organisme par le produit métabolique d'un autre (Gagné 1984).

## **I-2- Objectif du travail**

L'objectif de cette partie consiste à chercher des antagonistes bactériens ou fongiques susceptibles d'être utilisés pour lutter contre les champignons *Sclerotium cepivorum* et *Stylopage*. Ces derniers sont isolés au cours des analyses microbiologiques de l'ail stocké (1<sup>ier</sup> chapitre). Le premier champignon est connu comme agent de pourriture blanche d'*Allium*, le second attire notre attention du fait qu'il a constitué le germe le plus dominant de la microflore de ce légume en décomposition.

Les antagonistes sont recherchés parmi la microflore du sol du jardin de la Faculté des Sciences Dhar El Mehraz Fès, du lait entier du détaillant et de l'ail en stockage.



## **II- MATRIELS ET METHODES**

### **II-1- Conditions optimales de croissance des champignons parasites**

#### **II-1-1- milieu de culture optimal**

Trois milieux de culture ont été utilisés pour déterminer le milieu optimal de croissance des champignons parasites (*S. cepivorum* et *Stylopage*) :

- Un milieu gélosé à 1,5% (p/v) à l'extrait de malt à 1,5% (p/v).
- Un milieu gélosé à 2% (p/v) à l'extrait d'ail à 8% (v/v).
- Un milieu synthétique gélosé à 2% (p/v) enrichis en extrait d'ail à 5% (v/v).

Les boites de pétri ont étéensemencées au centre avec un inoculum de 5mm prélevé de la partie apicale du champignon, puis elles ont été incubées à l'étuve à 25°C dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau et à l'obscurité.

Cette expérience a été répétée 3 fois avec 3 essais pour chaque échantillon.

**N.B** : voir composition des milieux de culture dans l'annexe I.

#### **II-1-2- pH et température optimal**

Le milieu de culture optimal de croissance des champignons parasites a été préparé à différents pH (4, 5, 6 et 7) ajusté avec une solution de NaOH<sub>N/5</sub> et HCl<sub>N</sub>. Les boites de pétri ont étéensemencées au centre avec un inoculum de 5mm prélevé de la partie apicale du champignon. Les boites sont ensuite incubées à différentes



---

température (15°, 20°, 25°, 30° et 35°C) dans une atmosphère saturée en eau et à l'obscurité.

La croissance du diamètre de *S. cepivorum* et *Stylopaga* a été quotidiennement suivie pendant 10 jours.

**N.B :** Cette expérience a été répétée 3 fois avec 3 essais pour chaque échantillon.

## **II-2- Criblage sélectif**

Le criblage sélectif nécessite la disponibilité d'un grand nombre de microorganismes que nous avons isolé à partir du sol du jardin de la faculté des Sciences Dhar El Mehraz, du lait entier de détaillant et la microflore d'ail en stockage selon les pratiques standards de microbiologie.

### **II-2-1- Criblage sélectif de champignons antagonistes**

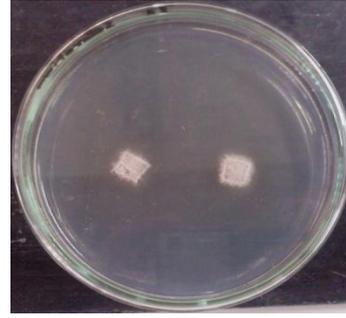
Sur milieu et sous conditions optimales de croissance des champignons parasites (*Sclerotium cepivorum* et *Stylopaga*), le criblage sélectif de champignons antagonistes a été effectué de la façon suivante :

L'inoculum du parasite (5mm de diamètre) a été déposé au centre de la boîte de pétri. A une distance de 3cm de l'inoculum et 1,3cm de la marge de la boîte, l'inoculum des champignons isolés du sol a été déposé (fig.13).

Afin de déterminer le comportement des champignons parasites, le témoin a été réalisé en déposant deux inocula du champignon parasites séparé de 3cm et 2,5 cm de la marge de la boîte (fig. 14). Ensuite, les boîtes ont été incubées dans les conditions optimales de croissance des champignons parasites. L'effet anti-fongique des champignons antagonistes s'est révélé par une inhibition partielle ou totale de la croissance radiale des champignons parasites.



**Figure 13** : Criblage sélectif de champignons antagonistes



**Figure 14** : Témoin

## II-2-2- Criblage sélectif de bactéries, levures et actinomycètes antagonistes

Le test du criblage sélectif de bactéries, levures et actinomycètes antagonistes a été réalisé sur le même milieu optimal de croissance des champignons parasites selon le procédé suivant :

La boîte de pétri a été divisé en quatre parties. Au centre, nous avons déposé l'inoculum du champignon parasite (5mm). Puis sur chaque partie, nous avons inoculé par des stries, les bactéries, levures et actinomycètes isolés du sol, du lait et les bactéries isolés d'ail stocké (fig. 15).

Un témoin a été réalisé en déposant l'inoculum (5mm) du champignon parasite au centre de la boîte de pétri (fig. 16).

Ensuite, les boîtes ont été incubées aux conditions optimales de croissance des champignons parasites. L'effet anti-fongique des bactéries, levures et actinomycètes antagonistes s'est révélé par une inhibition partielle ou totale de la croissance radiale des champignons parasites.

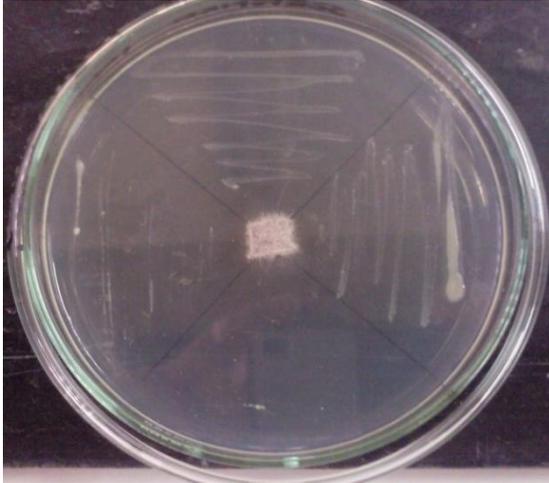


Figure 15 : Criblage sélectif de bactéries antagonistes.



Figure 16 : Témoin

## **II-3- Purification des souches et évaluation du pouvoir antagoniste**

L'examen microscopique de deux colonies présentant un pouvoir antagoniste aux champignons parasites (*Sclerotium cepivorum* et *Stylopage*) a montré qu'il s'agit d'une association de plusieurs microorganismes (bactéries et levures).

### **II-3-1- Purification des souches**

#### **II-3-1-1- Séparation des levures et des bactéries**

A partir d'une culture liquide, nous avons purifié les souches de chaque colonie :

- 0,1 ml de la culture liquide a été étalé sur milieu gélosé pour bactéries ;
- 0,1 ml de la même culture a été étalé sur milieu pour levures contenant l'antibiotique qui va bloquer le développement des bactéries ;
- Les boîtesensemencées ont été incubées à l'étuve à 25°C pendant 48h dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau et à l'obscurité.



---

### II-3-1-2- Purification des souches bactériennes

Sur milieu pour bactéries, nous avons constaté l'apparition de plusieurs colonies différentes de bactéries qui ont été purifiées par la méthode des stries sur milieu gélosé.

### II-3-2- Etude du Pouvoir antagoniste de chaque souche séparément

Le pouvoir antagoniste de chaque souche de bactérie et de levure purifiées à partir des deux colonies déjà présentant un pouvoir antagonistes aux champignons parasites (*Sclerotium cepivorum* et *Stylopage*) a été testé par des confrontations (fig. 17) selon le procédé suivant :

- Sur milieu optimal de croissance des champignons parasites, chaque souche a été inoculée en stries sur la moitié de la boîte de pétri ;
- Au centre de l'autre moitié, nous avons déposé un inoculum du champignon parasite ;
- Le témoin (fig. 18) a été réalisé en déposant un inoculum du champignon parasite au centre de la boîte de pétri.
- Les boîtes sont ensuite incubées aux conditions optimales de croissance des champignons parasites.

Après 48h, la croissance du diamètre des champignons parasites a été quotidiennement suivie. Le pouvoir antagoniste des souches s'est révélé par une inhibition ou un ralentissement de la croissance des champignons parasites.



Figure 17 : test de confrontation



Figure 18 : témoin

### **III- RESULTATS ET DISCUSSION**

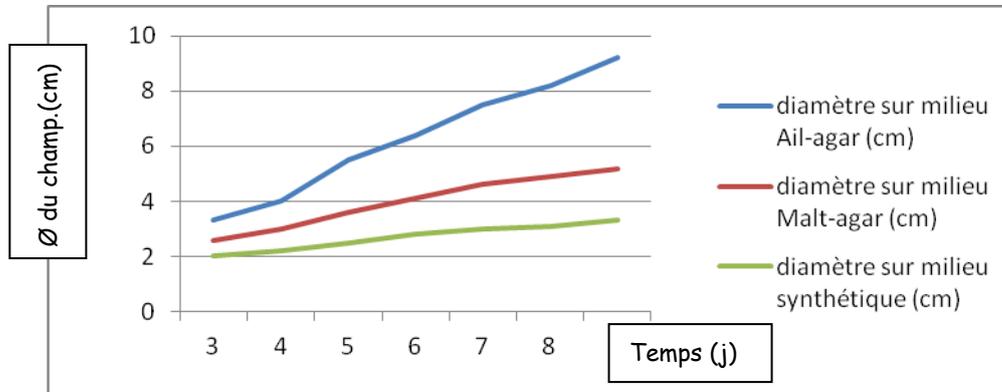
#### **III-1- Conditions optimales de croissance des champignons parasites**

##### **III-1-1- milieu de culture optimal**

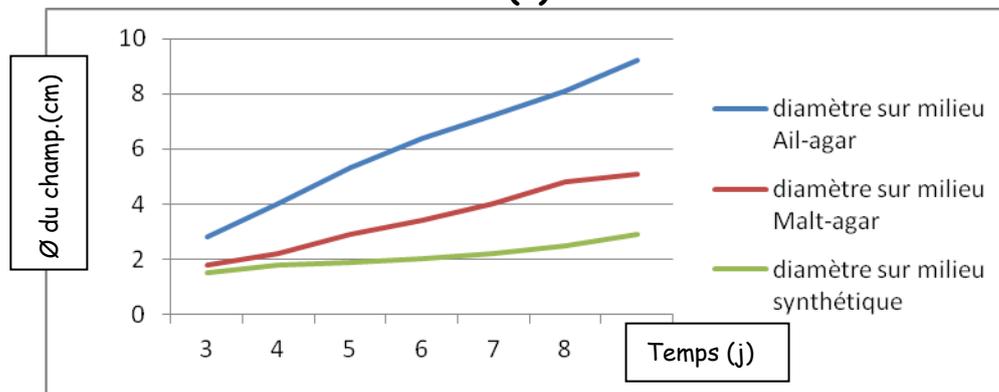
Le suivi de la croissance du diamètre des champignons parasites (*S. Cepivorum* et *Stylopage*) sur les trois milieux de culture (II-1-1) a montré que *S. cepivorum* et



*Stylopage* ont une meilleure croissance sur le milieu gélosé à 2% (p/v) et à l'extrait d'ail à 8% (v/v) (fig.19).



(a)



(b)

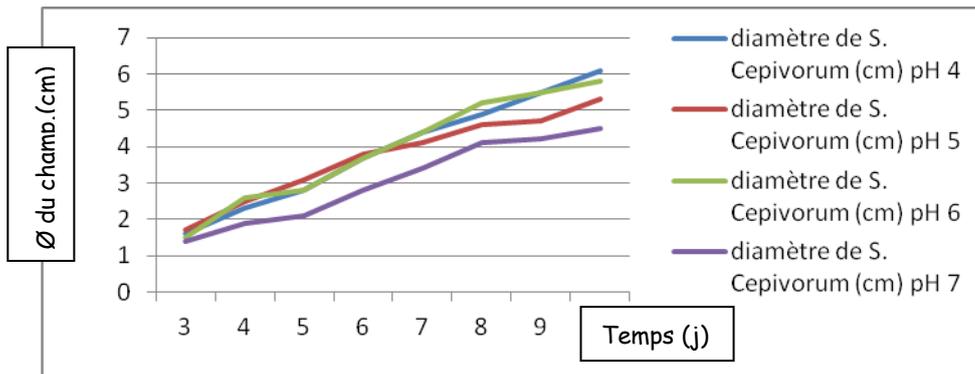
**Figure 19** : croissance moyenne du diamètre mycélien de *S. cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar, milieu Malt-agar et milieu Synthétique enrichis en extrait d'ail en fonction du temps (j).

### III-1-2- pH et température optimales

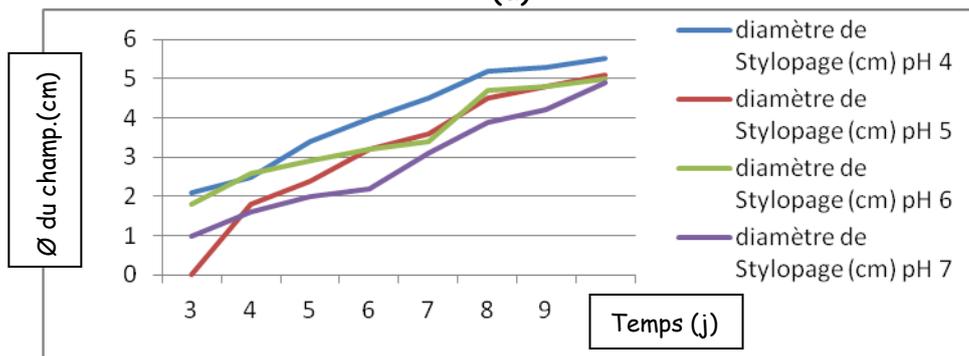
Le suivi de la croissance du diamètre de *S. cepivorum* et *Stylopage* sur le milieu gélosé à l'extrait d'ail à différents pH (4, 5, 6 et 7) et à différentes températures (15°, 20°, 25°, 30° et 35°C) a montré que le pH optimal de croissance des deux champignons parasites se situe entre 4 et 6 sachant que le pH<sub>0</sub> du milieu est 6. On a constaté aussi que la croissance de *S. cepivorum* et *Stylopage* est favorisée par une température située entre 20° et 30°C avec un optimum à la température 30°C où



l'occupation de la boîte s'est effectuée au bout de 8 jours d'incubation (fig.23) au lieu de 9 jours à la température 25°C (fig. 22) et 10 jours à la température 20°C (fig. 21). A 15°C (fig.20), les deux champignons n'ont pas pu occuper leurs boîtes durant les 10 jours d'incubation et à 35°C, les deux champignons n'ont pas pu se développer.

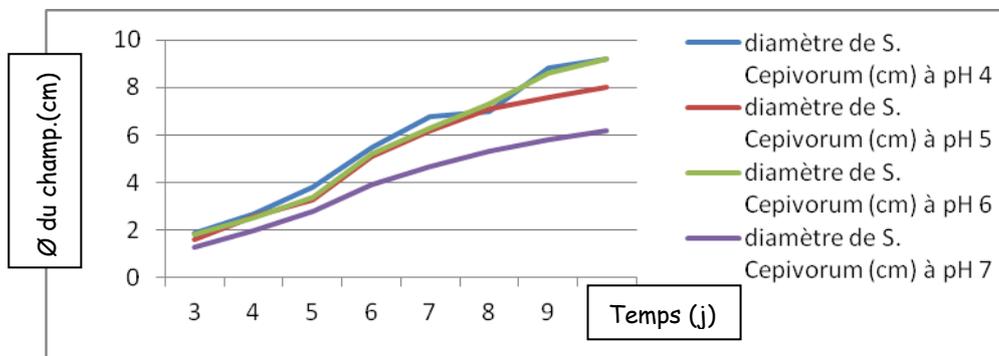


(a)

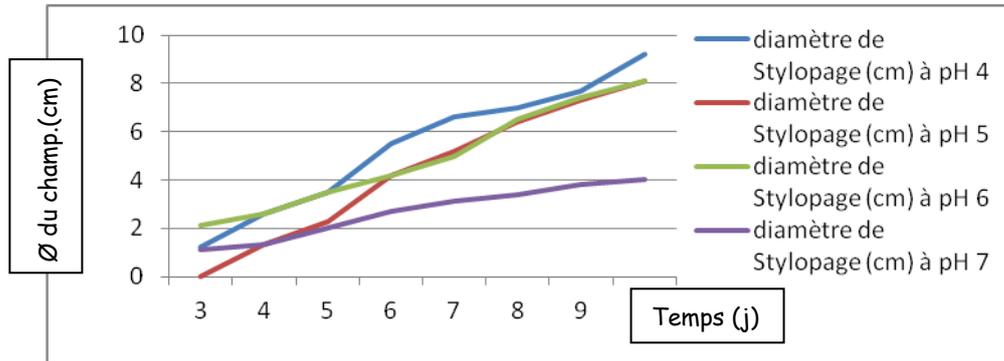


(b)

Figure 20 : croissance radiale de *S. cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 15°C pendant 10 jours.

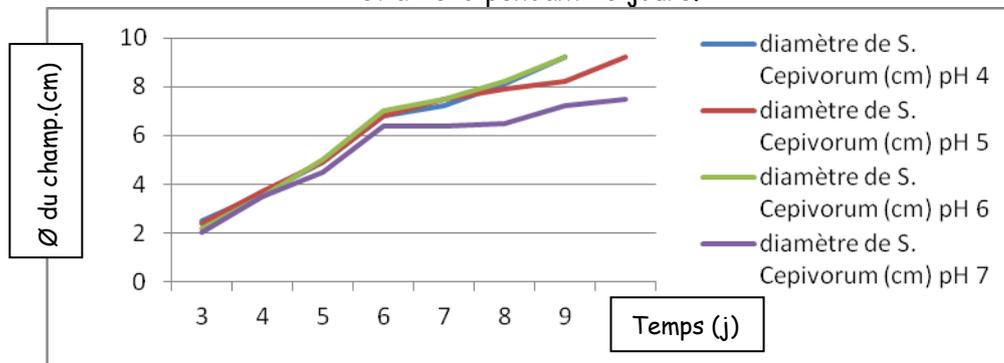


(a)

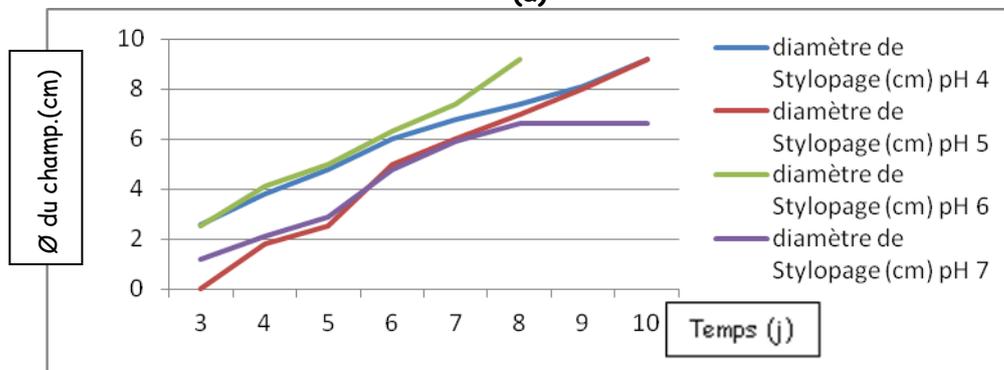


(b)

Figure 21 : croissance radiale de *S. cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 20°C pendant 10 jours.

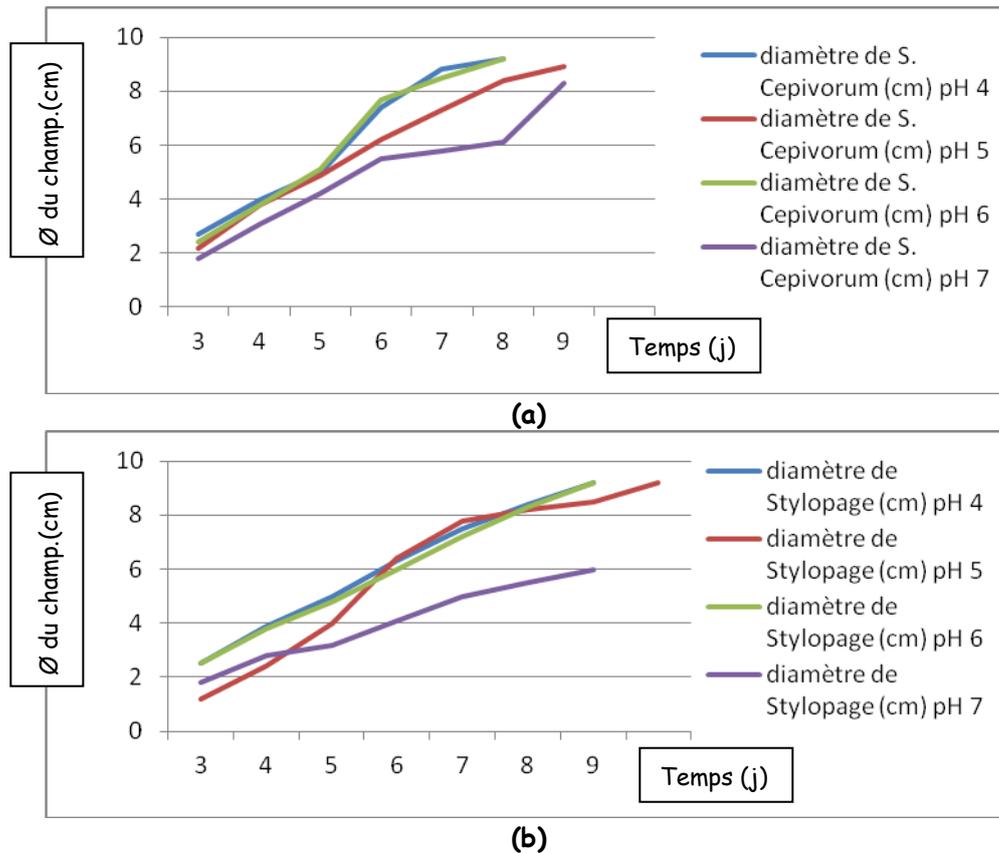


(a)



(b)

Figure 22 : croissance radiale de *S. cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 25°C pendant 10 jours.



**Figure 23** : croissance radiale de *S. cepivorum* (a) et *Stylopage* (b) sur milieu Ail-agar à différents pH et à 30°C pendant 10 jours.

### **III-2- Criblage sélectif de microorganismes antagonistes**

Parmi tous les microorganismes isolés du sol de la Faculté des Sciences Dher El Mehraz, du lait et d'ail en stockage, nous avons pu révéler deux colonies, la colonie -I- et la colonie -II-, qui ont pu exprimer un pouvoir antagoniste à distance de *S. Cepivorum* et *Stylopage*.

La colonie -I- a été testée par confrontation au *S. Cepivorum* et *Stylopage* sur milieu synthétique pour levure (annexe I) et a pu freiner la croissance des deux champignons (fig. 24).



(a)

(b)

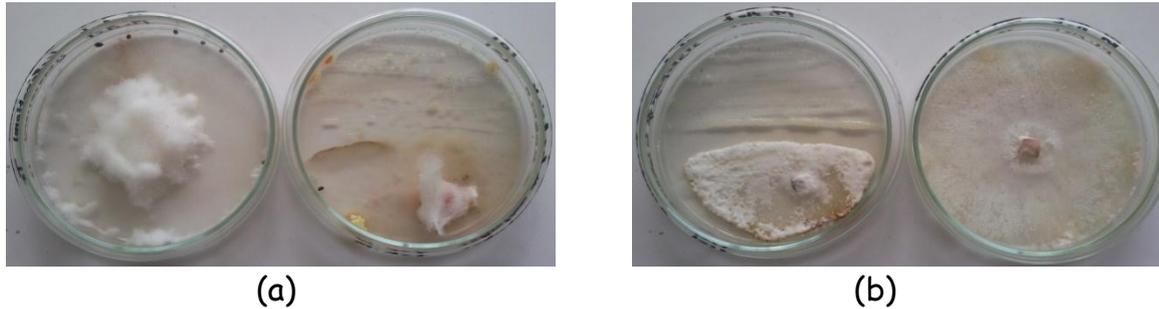
**Figure 24 :** (a) confrontation entre la colonie -I- et *S. cepivorum* et le témoin.  
(b) confrontation entre la colonie -I- et *Stylopaga* et le témoin.

Les courbes de suivi de la croissance moyenne en 1<sup>er</sup> sens (flèche blanc fig.24 (a)) et en 2<sup>ème</sup> sens (flèche noire fig.24 (a)) de *S. Cepivorum* et de *Stylopaga* confrontés à la colonie -I- et leurs témoins sont représentés sur la planche 1.

La croissance de *Sclerotium* a été bloquée le 7<sup>ème</sup> jour d'incubation à un diamètre en 1<sup>er</sup> sens de 6,5cm (1). En 2<sup>ème</sup> sens (2), *Sclerotium* a atteint la marge de la boîte en 7 jours d'incubation, alors que le témoin (5) a occupé la totalité de la boîte au bout de 9 jours d'incubation.

De même pour *Stylopaga*, sa croissance a été bloquée le 8<sup>ème</sup> jour d'incubation à un diamètre en 1<sup>er</sup> sens de 6,5cm (3). En 2<sup>ème</sup> sens (4), *Stylopaga* a atteint la marge de la boîte le 9<sup>ème</sup> jour d'incubation, alors que le témoin (6) a occupé la totalité de la boîte au bout de 10 jours d'incubation.

De même pour la colonie -II-, elle a été confronté au *S. Cepivorum* et *Stylopaga* sur milieu pour actinomycètes (annexe I) et les résultats sont représentés par la figure 25.

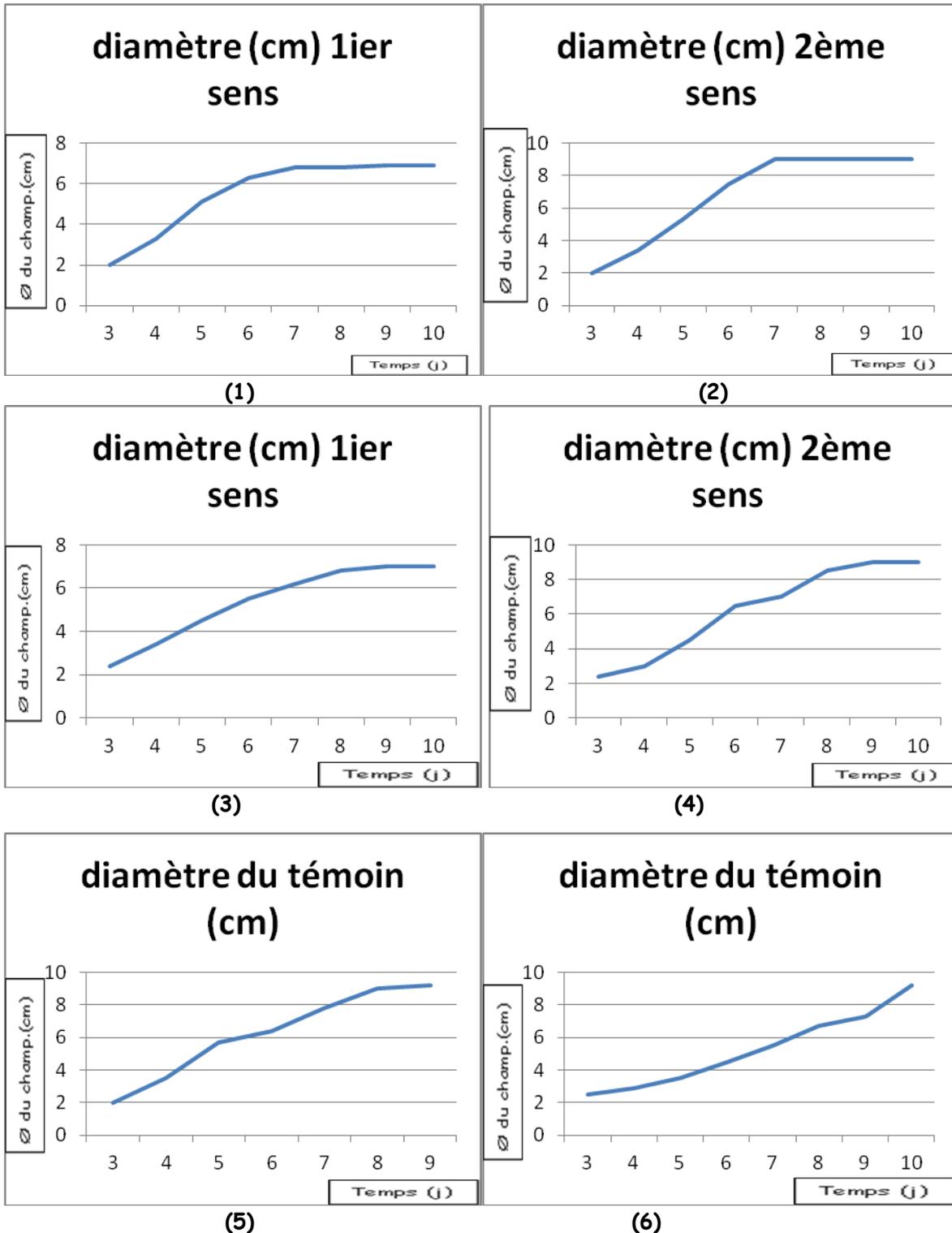


**Figure 25 :** (a) confrontation entre la colonie -II- et *S. cepivorum* et le témoin.  
(b) confrontation entre la colonie -II- et *Stylopaga* et le témoin.

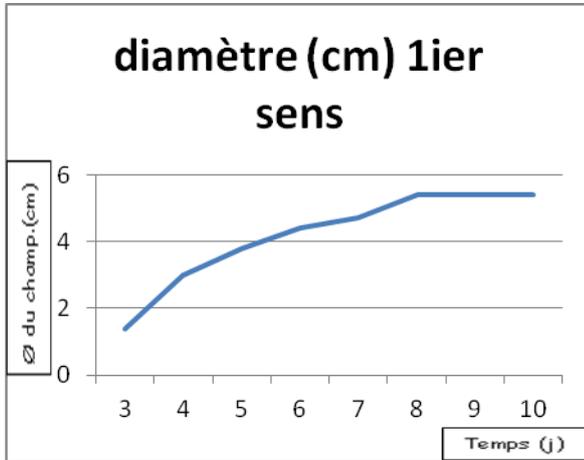
Les courbes de suivi de la croissance moyenne en 1<sup>er</sup> sens et en 2<sup>ème</sup> sens de *S. cepivorum* et *Stylopaga* confrontés à la colonie -II- et leurs témoins sont représentés sur la planche 2.

La croissance de *S. cepivorum* a été bloquée le 8<sup>ème</sup> jour d'incubation à un diamètre en 1<sup>er</sup> sens de 5,5cm (1). En 2<sup>ème</sup> sens (2), Sclerotium a atteint la marge de la boîte au bout de 9 jours d'incubation, alors que le témoin (5) a occupé la totalité de la boîte au bout de 9 jours d'incubation.

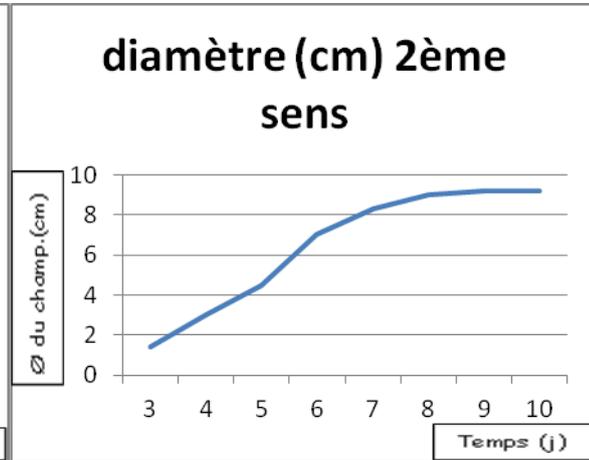
La croissance de *Stylopaga* en 1<sup>er</sup> sens (3) a été bloquée à partir du 5<sup>ème</sup> jour d'incubation à un diamètre de 4,5cm. En 2<sup>ème</sup> sens (4), sa croissance a été bloquée de même en 5<sup>ème</sup> jour d'incubation mais à un diamètre de 6,2cm, alors que le témoin (6) a occupé la totalité de la boîte au bout de 8 jours d'incubation.



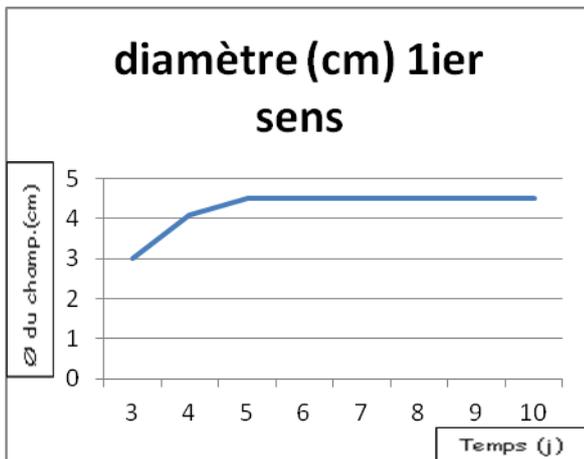
**Planche (1):** la croissance moyenne (cm) pendant 10 jours du mycélium de *S. cepivorum* en 1<sup>er</sup> sens (1) et en 2<sup>ème</sup> sens (2) et de *Stylopaga* en 1<sup>er</sup> sens (3) et en 2<sup>ème</sup> sens (4) confrontés tous les deux à la colonie -I- et la croissance moyenne des témoins (*S. cepivorum* (5) et *Stylopaga* (6)).



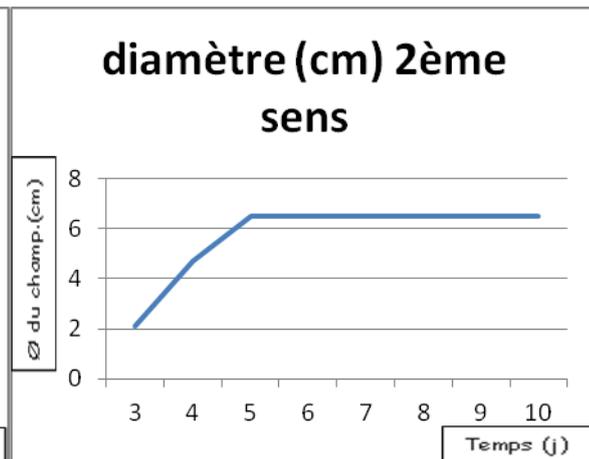
(1)



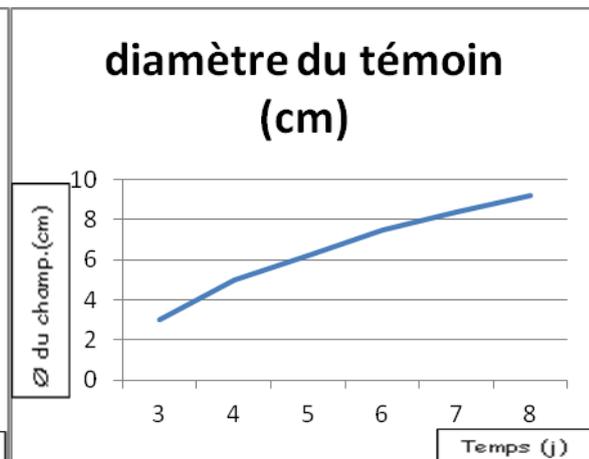
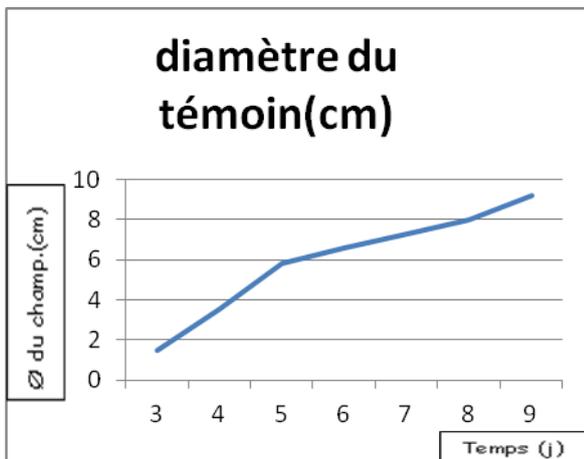
(2)



(3)



(4)





(5)

(6)

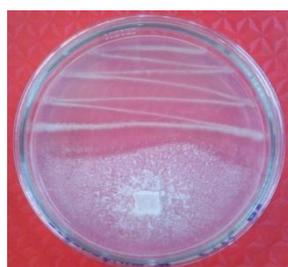
**Planche (2):** la croissance moyenne (cm) pendant 10 jours du mycélium de *S. cepivorum* en 1<sup>er</sup> sens (1) et en 2<sup>ème</sup> sens (2) et de *Stylopage* en 1<sup>er</sup> sens (3) et en 2<sup>ème</sup> sens (4) confrontés tous les deux à la colonie -II- et la croissance moyenne des témoins (*S. cepivorum* (5) et *Stylopage* (6)).

### III-3- purification des souches et évaluation du pouvoir antagoniste

L'examen microscopique de la colonie -I- et la colonie -II- a montré qu'il s'agit d'une association de plusieurs microorganismes (bactéries et levures). Leurs séparations ont été effectuées par étalement sur milieu gélosé.

Au terme des incubations, nous avons obtenu, pour la colonie -I-, 6 colonies de bactéries (B1, B2, B3, B4, B5 et B6) macroscopiquement différents et une levure. Ainsi pour la colonie -II-, nous avons obtenu une seule colonie de bactérie et une levure.

Le pouvoir antagoniste de chaque colonie isolée à partir de la colonie -I- et la colonie -II- a été testé par des confrontations aux champignons parasites (*S. cepivorum* et *Stylopage*). Les résultats ont montré que la colonie B2 a freiné la croissance de *S. Cepivorum* seul (fig.26) et la colonie B6 a bloqué la croissance à la fois de *S. cepivorum* et *Stylopage* (fig.27).



(a)



(b)

**Figure 26 :** confrontation entre la colonie B2 et *S. cepivorum* (a) et son témoin (b).

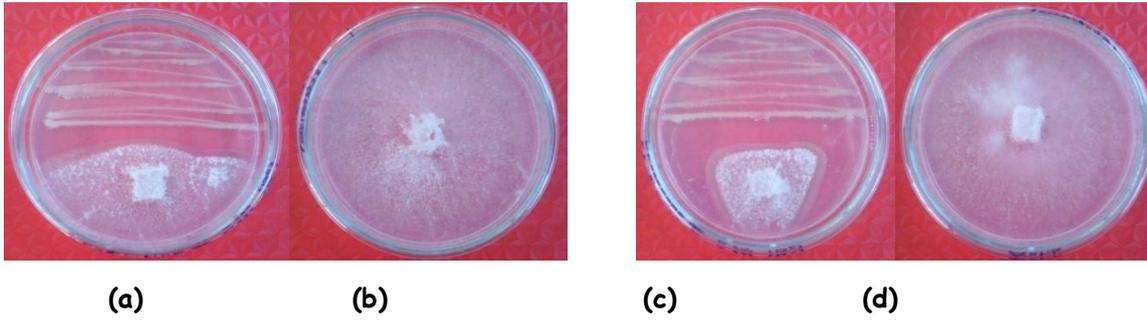
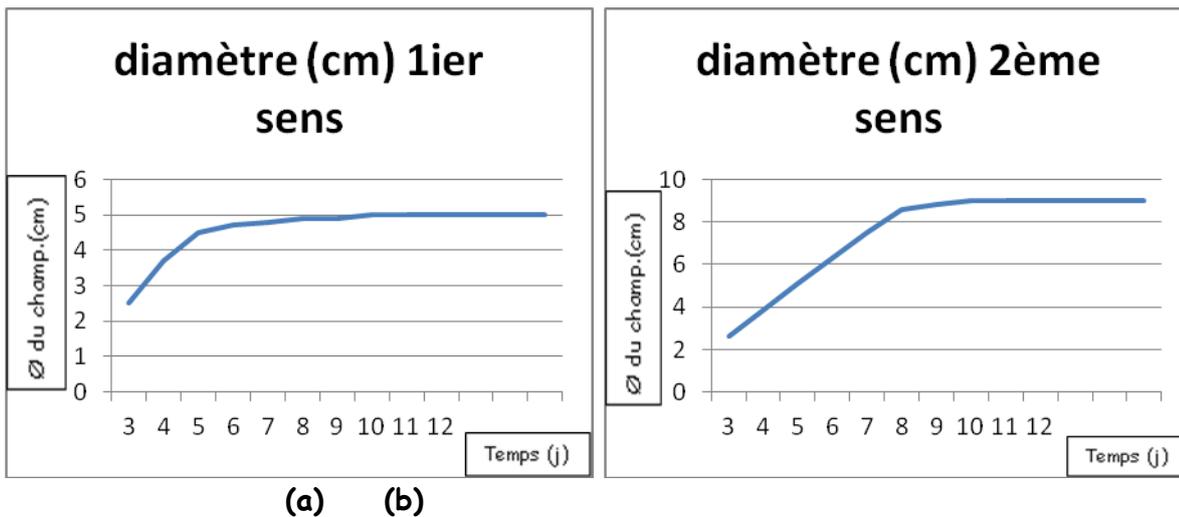
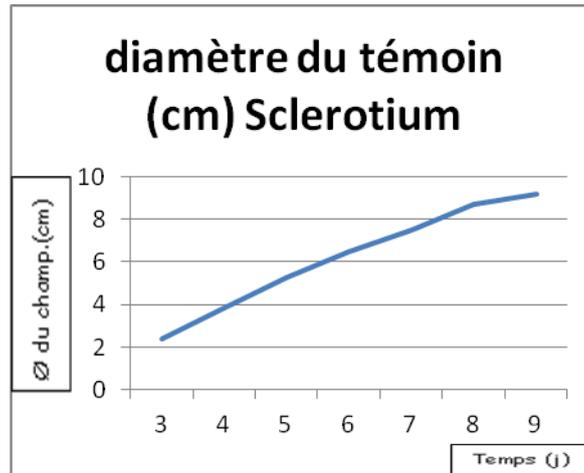


Figure 27 : confrontations entre la colonie B6 et *S. cepivorum* (a) et son témoin (b) et la colonie B6 et *Stylopage* (c) et son témoin (d).

Les courbes de suivi de la croissance moyenne en 1<sup>er</sup> sens et en 2<sup>ème</sup> sens de *S. cepivorum* confronté à la colonie B2 et la croissance moyenne du témoin (*S. cepivorum*) sont représentés ci-dessous.





(c)

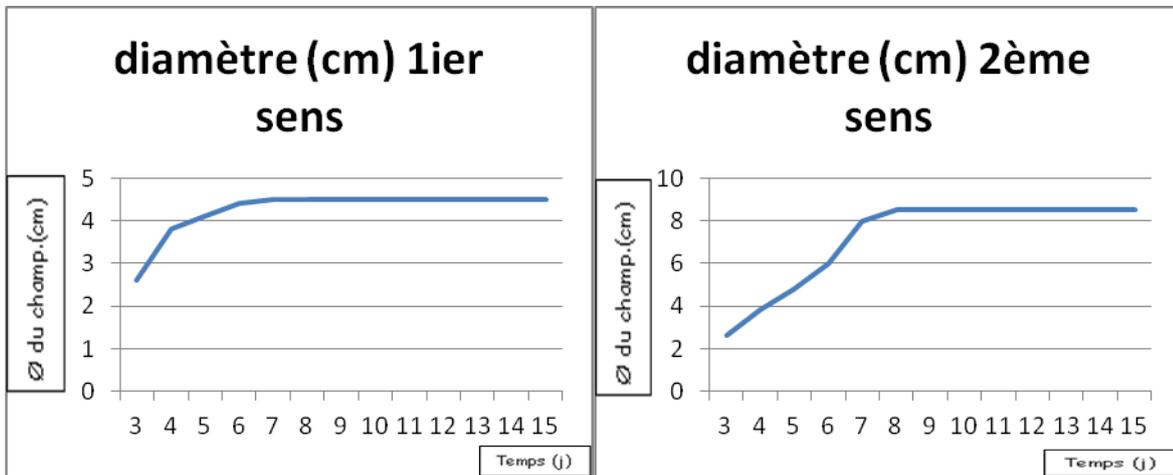
**Figure 28** : représentation graphique de la croissance moyenne en 1<sup>er</sup> sens (a) et en 2<sup>ème</sup> sens (b) de *S. cepivorum* confronté à la colonie B2 et la croissance moyenne du témoin (*S. cepivorum*) (c).

La croissance de *S. cepivorum* en 1<sup>er</sup> sens (a) a été bloquée au bout de 7 jours d'incubation à un diamètre de 5cm. En 2<sup>ème</sup> sens (b), Sclerotium a atteint la marge de la boîte le 9<sup>ème</sup> jour, alors que le témoin (c) a occupé la totalité de la boîte au bout de 9 jours d'incubation.

Alors que les courbes de suivi de la croissance moyenne en 1<sup>er</sup> sens et en 2<sup>ème</sup> sens de *S. cepivorum* et *Stylopaga* confrontés à la colonie B6 et leurs témoins sont représentés sur la planche 3.

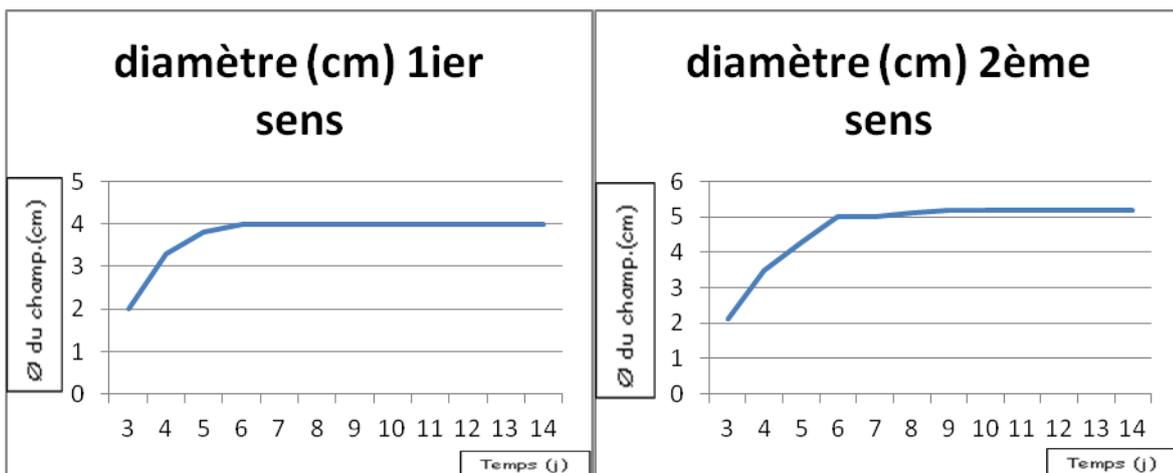
La croissance de *S. cepivorum* en 1<sup>er</sup> sens (1) a été bloquée en 6<sup>ème</sup> jour d'incubation à un diamètre de 4,5cm. En 2<sup>ème</sup> sens (2), Sclerotium a atteint la marge de la boîte, alors que le témoin (5) a occupé la totalité de la boîte au bout de 9 jours d'incubation.

La croissance en 1<sup>er</sup> sens (3) de *Stylopaga* a été bloquée à un diamètre de 4cm. De même en 2<sup>ème</sup> sens (4), sa croissance a été bloquée à un diamètre de 5,2cm alors que le témoin (6) a occupé la totalité de la boîte au bout de 9 jours d'incubation.



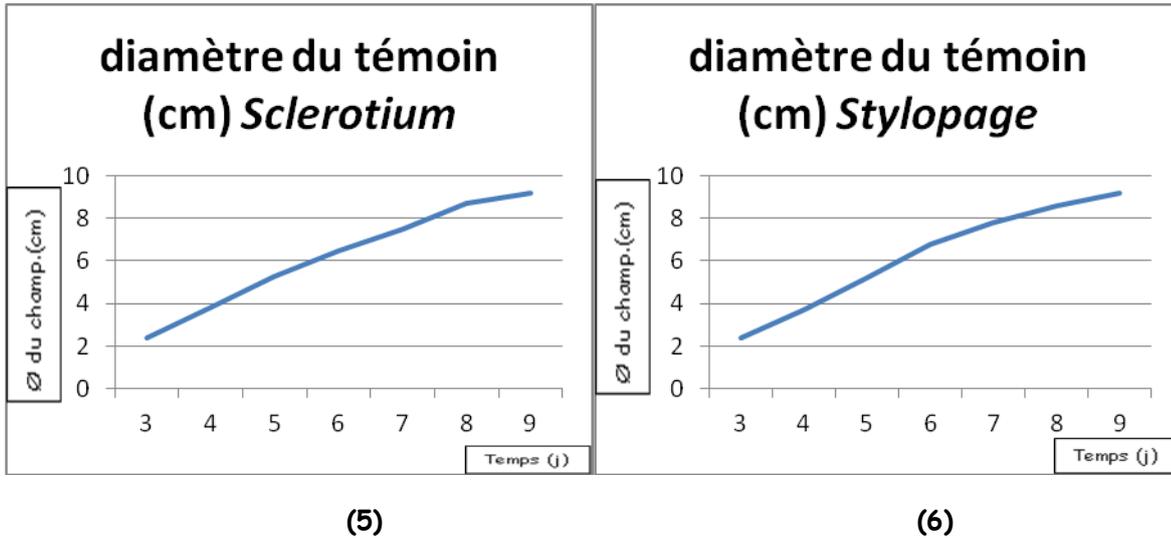
(1)

(2)



(3)

(4)



**Planche (3):** la croissance moyenne (cm) pendant 14 jours du mycélium de *S. cepivorum* en 1<sup>er</sup> sens (1) et en 2<sup>ème</sup> sens (2) et de *Stylopage* en 1<sup>er</sup> sens (3) et en 2<sup>ème</sup> sens (4) confrontés tous les deux à la colonie B6 ainsi que la croissance moyenne des témoins (*S. cepivorum* (5) et *Stylopage* (6)).

## IV- CONCLUSION

Cette partie du travail, nous a permis de révéler deux antagonistes aux champignons parasites (*S. cepivorum* et *Stylopage*), qui ont exprimé un pouvoir antagoniste appréciable.

Parmi les colonies bactériennes de la colonie -I-, la colonie B2 a exprimé un pouvoir antagoniste contre *S. cepivorum* seul, alors que la colonie B6 a montré un pouvoir antagonistes à la fois contre *S. cepivorum* et *Stylopage*.

L'examen microscopique des deux colonies antagonistes (B2 et B6) a montré que B2 est une association d'une myxobactérie avec une bactérie gram+, alors que B6 est une association de deux bactéries, une bactérie gram+ et une bactérie gram-.

La colonie bactérienne et la levure de la colonie II n'ont montré aucun effet inhibiteur sur la croissance de *S. cepivorum* et *Stylopage*. Celles-là devraient être en association afin d'exprimer leur pouvoir antagoniste (synergisme) contre les deux champignons parasites.



# TROISIEME CHAPITRE



---

# Recherche d'une méthode de conservation biologique et/ou intégrée de l'ail

## I- INTRODUCTION

### I-1- Généralités

Les agriculteurs de l'ail adoptent aujourd'hui des mesures préventives contre l'émergence de *Sclerotium cepivorum* sur le champ et pratiquent des traitements anti- fongiques.

#### ➤ Rotations

Bien que la survie des sclérotés puisse être plus longue, une rotation de 5ans excluent tout Allium est en général préconisée. Aucun effet particulier n'est observé des autres précédents culturaux, sinon dans le cas du glaieul. Cette culture fait



---

efficacement régresser la contamination des terrains par *S. cepivorum*. Les racines de glaïeul induisent la germination des sclérotés, mais sont réfractaires à l'infection, le mycélium ne survit pas dans le sol (MESSIAEN et *al.*, 1991).

➤ **Usage de semences saines**

L'usage de semences certifiées, ou l'acquisition à l'amiable de la récolte d'une parcelle indemne est indispensable pour les exploitations où la maladie ne s'est pas encore manifestée. Chez l'Oignon et le Poireau, la transmission par graines n'est pas à redouter, il en serait de même chez l'Ail pour des variétés dont les bulbilles d'inflorescences auraient une taille suffisante pour être utilisés comme semences (MESSIAEN et *al.*, 1991).

➤ **Lutte chimique chez les Alliums**

Elle peut s'envisager par enrobage fongicide des graines, dans le cas du Poireau et de l'Oignon, des bulbes ou caïeux de semences pour l'Echalote ou l'Ail.

Les principaux fongicides utilisés (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, 2000) sont:

**Par arrosage** : iprodione, procymidone, vinclozoline.

**Par Trempage**: iprodione, thirame, vinclozoline.

**Par traitement des semences**: iprodione, procymidone, vinclozoline.

Ces méthodes de préventions limitent la quantité de production (les rotations), et sont coûteuses et engendrent des effets nocifs sur la faune, la flore, l'environnement et par conséquent sur l'homme (lutte chimique). En plus, les méthodes de stockage d'ail sont coûteuses et/ou bien la durée de conservation est limitée.

## **I-2- Objectif du travail**



---

L'objectif de cette partie du travail consiste à rechercher une méthode de conservation biologique et/ou intégrée d'ail.

L'utilisation de la cendre et des sels dans la tradition marocaine pour conserver l'ail nous a encouragé à l'étudier comme traitement biologique.

Les margines issus de l'extraction de l'huile d'olive ont une charge organique très élevée et leur teneur en phénols et polyphénols les rendent difficilement dégradables. Cette propriété nous a encouragé à les essayer pour conserver l'ail.

Finalement, nous avons utilisé la culture liquide de la colonie -I- qui a montré son pouvoir antagoniste contre les champignons parasites (*Sclerotium cepivorum* et *Stylopaga*) comme traitement de conservation biologique pour l'ail.

## **II- MATERIELS ET METHODES**

### **II-1- Préparation des traitements**

#### **a) Le mélange cendre+sel+eau**

- Dans un bûcher de 1 litre, nous avons introduit 500ml d'eau de robinet.
- A l'aide d'un agitateur, nous avons fait dissoudre jusqu'à saturation du sel. La quantité du sel était de 240g.
- En agitation, nous avons ajouté de la cendre jusqu'à que la solution devienne trouble. La quantité de la cendre était de 120g.

#### **b) Les margines+sel**



---

Dans un bêcher de 250ml, nous avons introduit 150ml de margines. Et sous agitation, le sel a été ajouté jusqu'à saturation. La quantité du sel ajouté était de 40g.

### **c) Culture liquide de la colonie -I-**

Une culture liquide de la colonie -I- a été préparée dans un milieu pour levure enrichis en extrait d'ail à 5% (v/v). Cette dernière a été mise en agitation sous les conditions ambiantes et à l'obscurité continue pendant 4 jours afin d'avoir une culture dense.

Le dénombrement de la culture préparée a été effectué par étalement de 0,1ml de la dilution  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  de la culture dense sur la gélose nutritive, trois boites par dilution. Les boites ont été incubées à  $25^{\circ}\text{C}$  dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau et à l'obscurité pendant 48h.

## **II-2- Conservation des gousses d'ail**

### **II-2-1- Conservation des gousses d'ail par le mélange cendre+sel+eau**

#### **a) Traitement par la solution**

Nous avons pris le poids initial de 12 gousses d'ail saines d'apparence. Ces dernières ont été trempées dans la solution saturée en cendre+sel pendant différents temps :

- Trois gousses ont été trempées pendant 15mn ;
- Trois gousses ont été trempées pendant 30mn ;



- 
- Trois gousses ont été trompées pendant 1h ;
  - Trois gousses ont été trompées pendant 2h.

Après égouttage, nous avons pris à nouveau leurs poids afin de déterminer la quantité de la solution absorbée. Puis elles ont été stockées à l'obscurité sous les conditions ambiantes et nous avons suivi l'évolution de leurs poids toutes les semaines.

#### **b) Traitement par la boue**

Trois gousses d'ail de poids frais préalablement mesuré, sont enfuies dans une boue de cendre salée. Ces gousses sont ensuite stockées à l'obscurité et à la température du laboratoire après détermination de la quantité de boue fixée.

### **II-2-2- Conservation des gousses d'ail par les margines**

12 gousses d'ail sains de poids connus ont été trompées dans les margines pendant différentes durées selon le même procédé suivi pour traiter les gousses d'ail par la solution saturée en sel+cendre (II-2-1-a). De même, nous avons traité 12 gousses d'ail saines de poids connus par les margines saturés en sel.

Nous n'oublions pas de mentionner que nous avons suivi l'évolution du poids des gousses témoins non-traités qui ont été stockés dans les mêmes conditions de stockage des gousses traitées.

### **II-2-3-Traitement de l'ail par la culture liquide de la colonie -I-**

12 gousses d'ail saines de poids connus ont été traitées en les trompant dans la culture liquide de la colonie -I- suivant le même procédé décrit dans le paragraphe (II-2-1-a). Ces gousses ont été stockées avec les témoins non-traités à l'obscurité et à la température ambiante du laboratoire. L'évolution de leurs poids a été suivie tous les deux jours pendant 1mois.

## II-3- Etude du pouvoir décomposeur des champignons parasites de l'ail traité

Des caïeux préalablement traités (pendant 15mn, 30mn, 1H, 2H) avec les cendres salées ; les margines salées et non, et la culture liquide de la colonie antagoniste sont inoculés au niveau de l'extrémité rizhomale (fig. 29) avec un inoculum du champignon parasite puis incubés à l'obscurité et à la température du laboratoire. Les mesures pondérales des échantillons ont été effectuées tous les deux jours pendant 2mois. Les témoins ont été réalisés de la même manière que les tests, mais sans traitement. Nous n'oublions pas de préciser que les deux champignons (*Sclerotium* et *Stylopage*) ont été expérimentés dans cette étude, et que chaque échantillon a été répété 3fois.



Figure 29 : (1) Caïeux d'ail traités et confrontés aux champignons parasites.  
(2) Témoin non traité confronté aux champignons parasites.

## III- RESULTATS ET DISCUSSIONS

### III-1 - Conservation des gousses d'ail

Tableau 6 : poids moyen initial, final des gousses traités 15mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

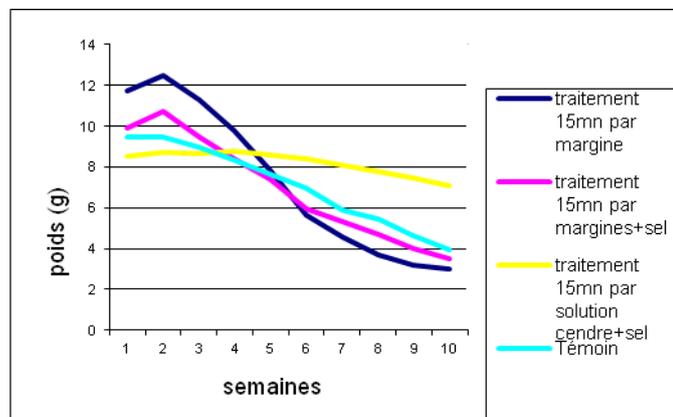
	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Perte de poids (%)
Traitement 15mn par les margines	11,76	2,98	74,6%
Traitement 15mn par les margines+sel	8,89	3,52	64,4%



Traitement 15mn par la solution saturée en cendre+sel	8,5	7,07	16,8%
Témoin non-traité	9,45	3,95	58,2%

D'après le tableau, nous constatons que la perte du poids chez les gousses traités par les margines salés et non est plus élevée que celle observée chez le témoin. Alors que les gousses traités par la solution saturée en cendre salée ont résisté et la perte du poids a été tellement faible par rapport au témoin.

L'évolution du poids moyen des gousses traités 15mn par les différents traitements et le témoin non-traité est représentée par la figure 30.



**Figure 30** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 15mn par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

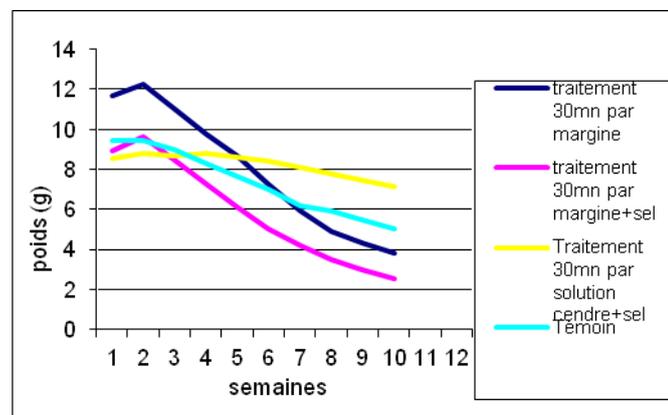
**Tableau 7** : poids moyen initial, final des gousses traités 30mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Perte de poids (%)
Traitement 30mn par les margines	11,67	3,81	67,3%
Traitement 30mn par les margines+sel	8,93	2,53	71,6%
Traitement 30mn par la solution saturée en cendre+sel	8,53	7,14	16,3%
Témoin non-traité	9,45	3,95	58,2%



D'après le tableau, nous constatons que la perte du poids chez les gousses traités par les margines salés et non est plus élevée que celle observée chez le témoin. Alors que les gousses traités par la solution saturée en cendre salée ont résisté et la perte du poids a été tellement faible par rapport au témoin.

L'évolution du poids moyen des gousses traités 30mn par les différents traitements et le témoin non-traité est représentée par la figure 31.



**Figure 31** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 30mn par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

**Tableau 8** : poids moyen initial, final des gousses traités 1h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

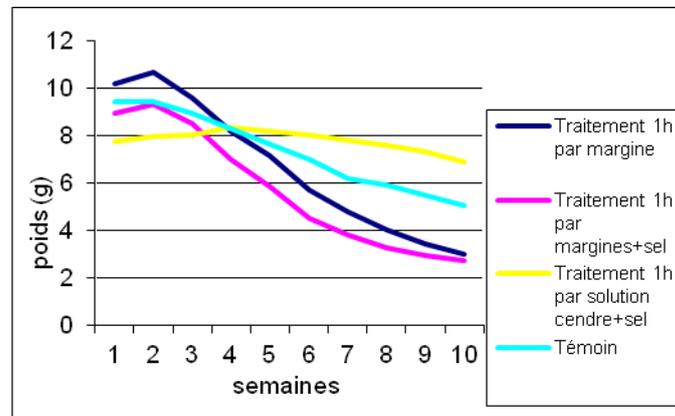
	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Perte de poids (%)
Traitement 1h par les margines	10,19	3,02	70,3%
Traitement 1h par les margines+sel	8,95	2,71	69,7%
Traitement 1h par la solution saturée en cendre+sel	7,74	6,61	10,7%



Témoin non-traité	9,45	3,95	58,2%
-------------------	------	------	-------

D'après le tableau, nous constatons que la perte de poids chez les gousses traités par les margines salés et non est plus élevée que celle observée chez le témoin. Alors que les gousses traités par la solution saturée en cendre salée ont résisté et la perte de poids a été tellement faible par rapport au témoin.

L'évolution du poids moyen des gousses traités 1h par les différents traitements et le témoin non-traité est représentée par la figure 32.



**Figure 32** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traités 1h par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

**Tableau 9** : poids moyen initial, final des gousses traités 2h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin et leur perte de poids pendant 10 semaines de stockage.

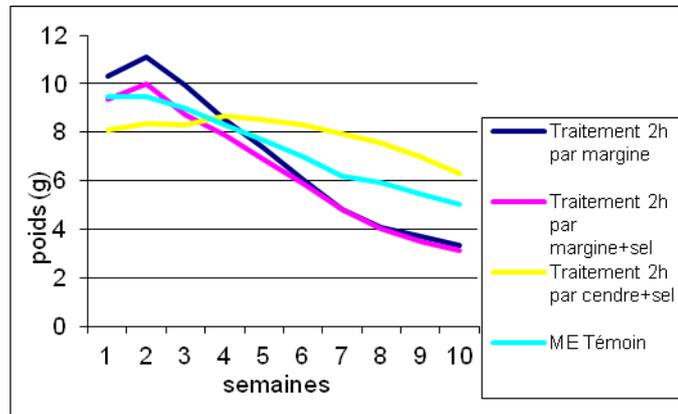
	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Perte de poids (%)
Traitement 2h par les margines	10,3	3,33	67,6%
Traitement 2h par les margines+sel	9,33	3,14	66,3%



Traitement 2h par la solution saturée en cendre+sel	8,11	6,3	22,3%
Témoin non-traité	9,45	3,95	58,2%

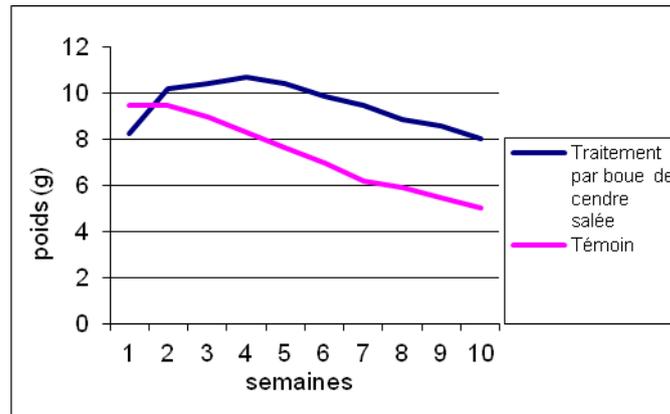
D'après le tableau, nous constatons que la perte de poids chez les gousses traités par les margines salés et non est plus élevée que celle observée chez le témoin. Alors que les gousses traités par la solution saturée en cendre salée ont résisté et la perte de poids a été tellement faible par rapport au témoin.

L'évolution du poids moyen des gousses traités 2h par les différents traitements et le témoin non-traité est représentée par la figure 33.



**Figure 33** : Evolution du poids moyen (g) des gousses traitées 2h par les différents traitements et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

La perte moyenne de poids enregistrée pendant 10 semaines de stockage des gousses trempées dans la boue de cendre salée est 21,2% alors que la perte de poids chez le témoin est de 58,2. L'évolution du poids de ces gousses traitées et le témoin pendant 10 semaines de stockage est représenté ci-dessous (fig.34).



**Figure 34** : Evolution du poids moyen (g) des gosses traités dans la boue de cendre salée et le témoin pendant 10 semaines de stockage.

En comparant les pertes de poids des gosses traitées et le témoin durant le stockage, nous avons constaté que les margines salés et non n'ont pas montré un pouvoir conservateur, ils ont même accéléré la perte du poids par rapport au témoin. Alors que le traitement des gosses par la solution saturée en cendre salée et le traitement par la boue de cendre salée ont montré un meilleur potentiel conservateur qui doit être étudié à long terme.

Pour des contraintes de temps, l'évolution du poids des gosses traitées par la culture liquide de la colonie -I- n'a été suivie que pour une période de 30 jours, les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

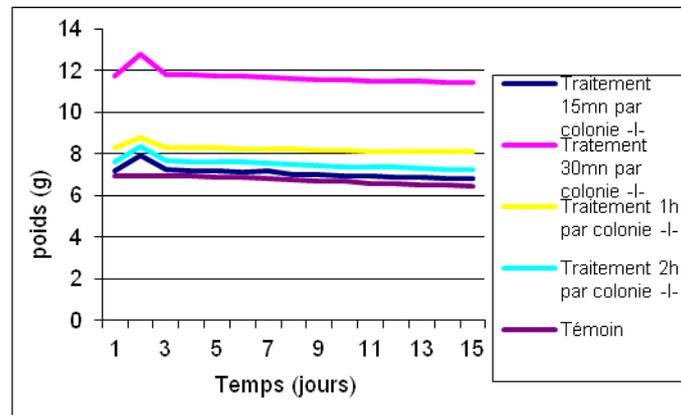
**Tableau 10** : Poids moyen initial et le poids final des gosses traitées (pendant 15mn ; 30mn ; 1h et 2h) par la culture liquide de la colonie -I- et les pertes de poids engendré après 30 jours de stockage.

	Poids moyen initial (g)	Poids moyen final (g)	Perte de poids (%)
Traitement 15mn par la colonie-I-	7,21	6,81	5,5%
Traitement 30mn par la colonie-I-	11,72	11,43	2,4%
Traitement 1h par la colonie-I-	8,27	8,08	2,3%
Traitement 2h par la colonie-I-	7,62	7,27	4,6%
Témoin	6,92	6,46	6,6%

En comparant les pertes de poids engendrées chez les gosses traitées et le témoin et malgré la courte durée de stockage, nous avons constaté que la culture liquide de la



colonie -I- a un effet conservateur d'ail qui doit être étudié pour une longue durée de stockage. L'évolution du poids moyen des gousses traitées (pendant 15mn ; 30mn ; 1h et 2h) et le témoin est représentée par la figure 35.



**Figure 35** : Evolution du poids moyen des gousses traitées (pendant 15mn ; 30mn ; 1h et 2h) par la culture liquide de la colonie -I- et le témoin durant 30 jours de stockage.

### III-2- Etude du pouvoir décomposeur des champignons parasites de l'ail traité

Pour les caïeux traités 15mn par différents traitements (margines salés et non ; la solution saturée en cendre+sel et la culture liquide de la colonie -I-), le tableau suivant résume l'évolution de leurs poids moyen.

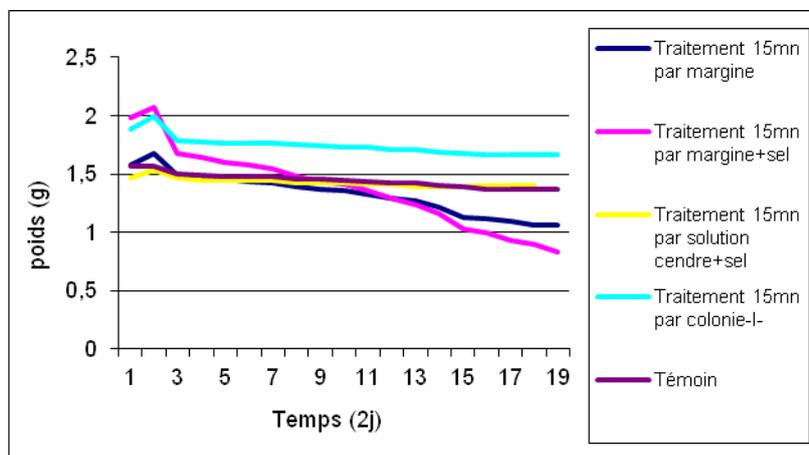
**Tableau 11** : poids moyen initial, final des caïeux traités 15mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40 jours de stockage.

	Poids initial (g)	Poids final (g)	La perte du poids (%)
Caïeux traités 15mn par les margines	1,57	1,06	32,4%
Caïeux traités 15 mn par les margines salés	1,98	0,83	58%
Caïeux traités 15mn par la solution saturée en cendre+sel	1,47	1,4	4,7%
Caïeux traités 15mn par la culture liquide de la colonie -I-	1,88	1,66	11,7%
Témoin	1,56	1,37	12,2%



D'après le tableau 11, la perte moyen du poids chez les caïeux traités par les margines salées et non salées contre les champignons parasites est beaucoup plus importante par rapport au témoin et nous avons constaté une meilleure conservation des caïeux traités par la solution saturée en cendre+sel et ceux traités par la culture liquide de la colonie -I-.

L'évolution du poids moyen des caïeux traités et non est représentée par la figure 36.



**Figure 36** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 15mn par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.

Les mêmes remarques ont été enregistrées chez les caïeux préalablement traités pendant 1h et inoculés par les champignons parasites.

**Tableau 12** : poids moyen initial, final des caïeux traités 1h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40 jours de stockage.

	Poids initial (g)	Poids final (g)	La perte du poids (%)
Caïeux traités 1h par les margines	1,72	1,1	36%
Caïeux traités 1h par les margines salés	1,25	0,73	41,6%
Caïeux traités 1h par la solution saturée en cendre+sel	1,36	1,22	10,3%
Caïeux traités 1h par la culture liquide de la colonie -I-	0,97	0,76	21,6%
Témoin	1,56	1,37	12,2%



Ainsi l'évolution du poids moyen de ces caïeux figure ci-dessous.

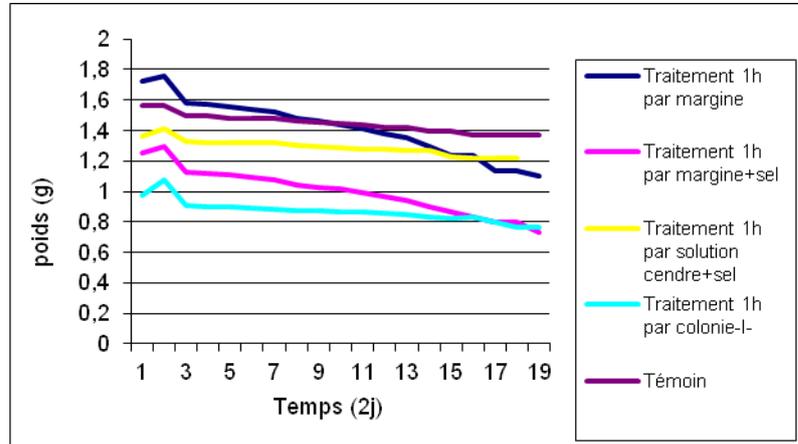


Figure 37 : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 1h par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.

En ce qui concerne les caïeux traités 30mn par les différents traitements, le tableau ci-dessous résume les résultats obtenus.

Tableau 13 : poids moyen initial, final des caïeux traités 30mn par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40 jours de stockage.

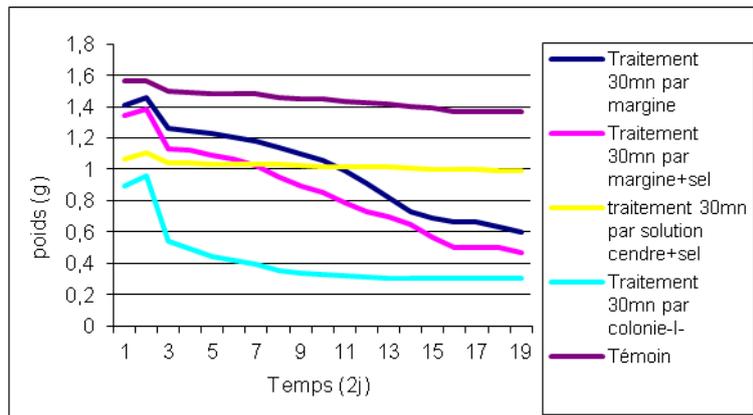
	Poids initial (g)	Poids final (g)	La perte du poids (%)
Caïeux traités 30mn par les margines	1,4	0,6	57,1%
Caïeux traités 30 mn par les margines salés	1,34	0,46	65,6%
Caïeux traités 30mn par la solution saturée en cendre+sel	1,06	0,99	6,6%
Caïeux traités 30mn par la culture liquide de la colonie -I-	0,89	0,3	66,3%
Témoin	1,56	1,37	12,2%

La perte moyenne du poids des caïeux traités par les margines salés et non contre les champignons parasites est tellement grande par rapport au témoin. Cependant, la solution saturée en cendre+sel a montré une meilleure conservation des caïeux. La grande perte du poids chez les caïeux traités par la culture liquide de la



colonie -I- revient à la pellicule non couvrante la totalité des caïeux utilisés avant le traitement.

La figure ci-dessous représente l'évolution du poids moyen des caïeux traitées et inoculés par les champignons parasites durant 40 jours de stockage.



**Figure 38** : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 30mn par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.

Les caïeux traités pendant 2h par les différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites ont donnés les mêmes résultats que ceux obtenus chez les caïeux traités pendant 30mn. Ces résultats sont représenté par le tableau suivant :

**Tableau 14** : poids moyen initial, final des caïeux traités 2h par les margines salés et non ; la solution saturée en cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites et leur perte de poids pendant 40jours de stockage.

	Poids initial (g)	Poids final (g)	La perte du poids (%)
Caïeux traités 2h par les margines	2,54	0,66	74%
Caïeux traités 2h par les margines salés	1,64	0,4	75,6%
Caïeux traités 2h par la solution saturée en cendre+sel	1,84	1,61	12,5%
Caïeux traités 2h par la culture liquide de la colonie -I-	0,89	0,25	71,9%
Témoin	1,56	1,37	12,2%



Ainsi l'évolution du poids moyen de ces caïeux figure ci-dessous :

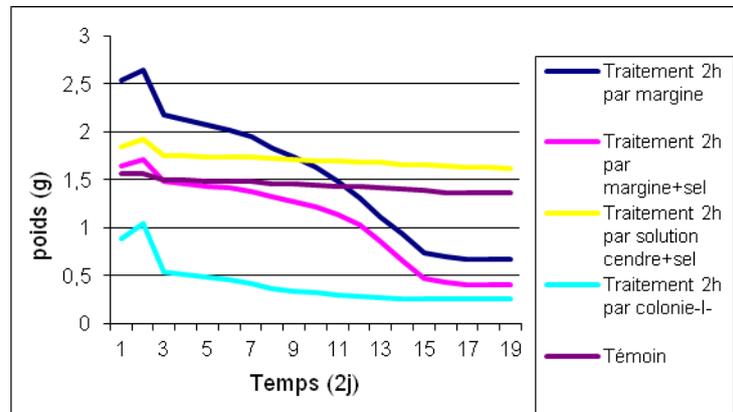


Figure 39 : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités 2h par différents traitements et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.

Chez les caïeux traités par la boue de la cendre salée, la perte moyenne du poids était de 29,1% alors que chez le témoin était de 12,2%. L'évolution du poids moyen des caïeux ainsi traités est représentée par la figure ci-dessous :

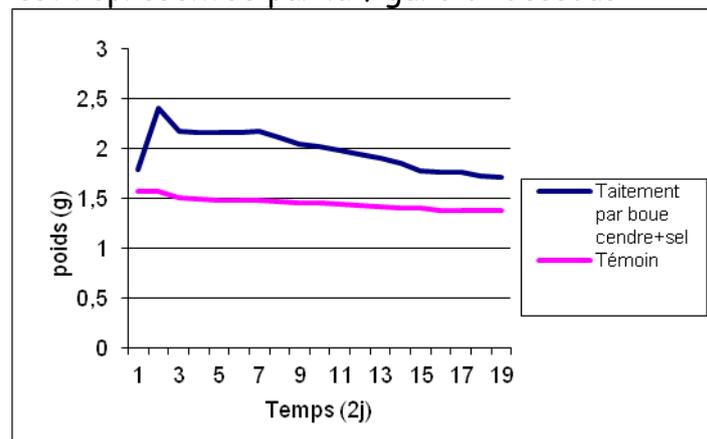


Figure 40 : Evolution du poids moyen (g) des caïeux traités par la boue de cendre salée et le témoin inoculés par les champignons parasites pendant 40 jours de stockage.

Nous mentionnons que les témoins effectués pour être comme références n'ont pas été infectés durant 40 jours de stockage et ceci revient soit à :

- La manière suivie pour provoquer l'attaque des caïeux d'ail par les champignons parasites et l'endroit choisi pour déposer l'inoculum.
- La purification et le repiquage répétitif des souches des champignons parasites (*Sclerotium* et *Stylopaga*) ont provoqué la perte des activités enzymatiques de ces derniers et par conséquent leurs virulences.



---

-La durée de stockage n'est suffisante pour que l'attaque des caïeux ait lieu.

Ainsi nous avons déjà remarqué que chez les caïeux dont la pellicule est touchée, le traitement par la culture liquide de la colonie -I- n'a pas donné les résultats attendus comme ceux obtenus chez les caïeux à pellicule normale. En plus, la perte de poids enregistrée chez les caïeux traités par les margines salées ou non commence par une faiblesse au niveau de la pellicule de ces caïeux.

Nous avons remarqué aussi que chez l'ail exporté de la Chine, qu'il est commercialisé sans la partie rizhomale. Alors, l'ail sous forme de caïeux à pellicule saine et sans traitement présente une meilleure résistance face aux altérations microbiennes.



---

## IV- CONCLUSION :

Le traitement d'ail stocké par les margines salés ou non pour empêcher l'altération de cet épice par les champignons parasites n'a pas réussi, il a même accéléré la perte du poids par rapport aux témoins non traités.

Le traitement d'ail stocké par le mélange cendre+sel+eau a montré un bon pouvoir conservateur contre les altérations microbiennes. Le traitement par la solution saturée en Cendre+sel est plus convenable et applicable par rapport au traitement par la boue de cendre+sel.

Le traitement d'ail stocké par la culture liquide de la colonie -I- a montré un pouvoir conservateur comparable à celui de la solution saturée en cendre+sel. L'efficacité de ce traitement est conditionnée par une bonne état de la pellicule d'ail, l'altération de cette dernière favorise la perte du poids et les caieux finissent par être vides.

Enfin, pour une conservation plus prolongée d'ail, son décaillage élimine un éventail de microorganismes qui peuvent l'altérer en stockage, ceci étant donné que les exudats des rhizomes d'ail stimule la levée de la dormance des formes de résistance des microorganismes parasites de ce condiment.



## **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

L'analyse microbiologique d'ail stocké (ail sain ; ail pourrit et ail lyophilisé) a montré une diversité quantitative et qualitative fongique assez importante par rapport aux études menées dans d'autres pays. Les germes fongiques ont été identifiés, alors que les bactéries et les levures isolées ont été purifiées et stockées pour une identification ultérieure.

Nous avons pu révéler deux colonies antagonistes aux champignons parasites *S. cepivorum* et *Stylopage* isolés successivement à partir d'ail sain et d'ail pourrit. Leurs purifications, leurs identifications ainsi que la détermination de la dose inhibitrice seront effectuées prochainement.

Le mélange de cendre + sel + eau et la culture liquide de la colonie antagoniste - I- sont deux traitements biologiques qui ont montré des résultats encourageantes pour une étude approfondie et prolongée afin d'homologuer un traitement biologique et/ou intégré pour la conservation d'ail contre les agents de pourriture blanche



## Références bibliographiques

- Akgül, A., 1993. -Spice science and technology. Turkish Association of Food Technologists, Ankara, Publ. No. 15, p. 451.
- Amagase H., 2006 -[Clarifying the real bioactive constituents of garlic](#). *J Nutr* 2006 March;136(3 Suppl):716S-25S.
- BARNETT L & HUNTER B.B., 1972.-Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Minnesota., 241pp.
- Baruchin, A. M., Sagi, A., Yoffe, B., & Ronen, M., 2001 -Garlic burns. *Burns*, 27, 781-782.
- Baytop, T., 1984 -Treatment with plants in Turkey. \_Istanbul Univ. Publ. No. 3255, \_Istanbul (in Turkish).
- Bazzano LA, Serdula MK, Liu S., 2003 -[Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease](#). *Curr Atheroscler Rep* 2003 November;5(6):492-9.
- Béliveau R, Gingras D., 2005 -*Les aliments contre le cancer*. La prévention et le traitement du cancer par l'alimentation. Éd. du Trécarré, Canada, 2005.
- Bertolini P, Tian S, 1996 Low -temperature biology and pathogenicity of *Penicillium hirsutum* on garlic in storage. *Postharvest Biology and Technology* 7: 83-89.
- Bianchini F, Vainio H., 2001 -[Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer?](#) *Environ Health Perspect* 2001 September;109(9):893-902.
- Brahim S., 1998 -Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes, Dépt. des sols et de génie agro-alimentaire, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation -UNIVERSITE LAVAL-
- C. M. MESSIAEN, D. BLANCARD, F. ROUXEL, R. LAFON, 1991 -Les maladies des plantes maraichères -INRA, Paris, 1991- pages 351-355.
- Coley-Smith, J. R., Reese, R.A. and Georgy, N.I., 1987 -Differential stimulation of germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* by cultivars of onion and its effect on white rot disease. *Plant pathology*, 36 :246-257.



- 
- Courtesy E. A. Kurtz., 2008** -Reproduced from Compendium of Onion and Garlic Diseases and Pests, 2nd ed., 2008, American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Courtesy Mike Davis, 2008** -Plant Pathology Dept, University of California at Davis.
- Courtesy Paul Koepsell. , 2008** -Oregon State University Extention. White Rot.
- Crowe, F.J. , 2008.** White Rot. Pages 22-26 in: Compendium of Onion and Garlic Diseases and Pests. Schwartz, J.F. ed. APS Press, St. Paul, MN.
- CURL, E, A et B. TRUELOVE., 1986** -THE RHIZOSPHERE. Advanced Series in Agriculture Sciences, 15. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 288 pages.
- Dommergues, Y. et Emangenut, 1970.** -Écologie Microbienne du sol. Eds. Masson et de, P, s, 796 pages.
- Elattir H., Elfadl A. et Skiredj A., 2002**-Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA- Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II ; Septembre 2002.
- Faid Mohamed, 2002** -culture de l'ail au Maroc- Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II; Département d'horticulture; unité de Rabat 2002.Co auteurs : Pr Ahmed Skiredj, Hassan Elattir et Abdellatif Elfadl.
- Filsinger B., Fritz R., Fuselli S. R., 2004** - Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum* L.) y cebolla(*Allium cepa* L.) deshidratados- Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3.350 (7600) Mar del Plata. INTI-CEMSUR CITEP. Mar del Plata. Argentina.
- Gagné, S., 1984.** -Bactéries telluriques et rhizosphérique inhibitrices de certains champignons phytopathogènes: perspective de lutte biologique chez la luzerne. Mémoire de Maîtrise. Université Laval, 62 pages.
- Gardner CD, Messina M, et al., 2003** -[Soy, garlic, and ginkgo biloba: their potential role in cardiovascular disease prevention and treatment](#). *Curr Atheroscler Rep* 2003 November;5(6):468-75.
- Gonen A, Harats D, et al., 2005** -[The antiatherogenic effect of allicin: possible mode of action](#). *Pathobiology* 2005;72(6):325-34.
- Gorinstein S, Drzewiecki J, et al., 2005** -[Comparison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian, and Israeli garlic](#). *J Agric Food Chem* 2005 April 6;53(7):2726-32.



- Gorinstein S, Leontowicz H, *et al.*, 2006 -[Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats](#). *Life Sci* 2006 January 2;78(6):655-63.
- Graham, H. D., & Graham, E. J. F., 1987. -Inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth and toxin production by garlic. *Journal of Food Safety*, 8, 101-108.
- Hageman G, Krul C, *et al.*, 1997 -[Assessment of the anticarcinogenic potential of raw garlic in humans](#). *Cancer Lett* 1997 March 19;114(1-2):161-2.
- Cao G, Sofic E, Prior RL., 1996 -*Antioxidant capacity of tea and common vegetables*. *J Agric Food Chem* 1996;44:3426-31.
- Haydar Haciseferoğullari, Musa Özcan, Fikret Demir, Sedat Çalışır, 2005 -Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.), *Journal of Food Engineering* 68 (2005) 463-469.
- IRAQI HOUSSEINI.A., 2001. -Caractérisation microbiologique et physico-chimique des feuilles mortes de *Populus euramericana* en décomposition dans l'hydrosystème d'ain el rhars du moyen atlas marocain.Thèse de doctorat d'état es-sciences naturelles., 189pp.
- Jakubowski H., 2003 -[On the health benefits of Allium sp.](#) *Nutrition* 2003 February;19(2):167-8.
- J.C. Haris ; S. L. Cottrell ; S. Plummer ; D. Lloyd, 2001 -Antimicrobial properties of *Allium Sativum* (garlic), *Appl Microbiol Biotechnol* (2001) 57 :282-286.
- kapulnik Y. 1996. -Plant Growth promotion by rhizosphere bacteria. -In *Plant Roots, the hidden half*. Eds. Y. Waisel, A. Eshel and U. Kafkafi, pp. 769-781. Marcel Dekker, hc., New York.
- KENDRICK W.B & NAGRAJ T.R., 1979. - Morphological terms in fungi imperfecti.: The whole Fungus. Kendrick W.B. (Ed). *Natl. Mus. Can. Ottawa.*, I: 41-63.
- Lampe JW., 1999 -[Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies](#). *Am J Clin Nutr* 1999 September;70(3 Suppl):475S-90S.
- Lanzotti V., 2006 -[The analysis of onion and garlic](#). *J Chromatogr A* 2006 April 21;1112(1-2):3-22.
- Leelarungrayub N, Rattanapanone V, *et al.*, 2006 -[Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations](#). *Nutrition* 2006 March;22(3):266-74.
- Lynch, J. M. 1990. -Microbial metabolites. In the rhizosphere. Eds. I. M. Lynch, pp. 177-206. Wiley Series in Ecological and Applied Microbiology.



- Matsuura H., 2001 -[Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease](#). *J Nutr* 2001 March;131(3s):10005-55.
- Michael C. Tsiaganis, Katerina Laskari, Efi Melissari, 2006 -Fatty acid composition of Allium species lipids, *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (2006) 620-627.
- Miean KH, Mohamed S., 2001 -[Flavonoid \(myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin\) content of edible tropical plants](#). *J Agric Food Chem* 2001 June;49(6):3106-12.
- MINTER D.W., KIRK P.M. & SUTTON B.C., 1983. -Thallic phialides. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 80: 39-66.
- Munday JS, James KA, *et al.*, 1999 -[Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw garlic, protects low density lipoprotein against in vitro oxidation](#). *Atherosclerosis* 1999 April;143(2):399-404.
- Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAOSTAT)<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=fr#ancor>.
- Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, 2000 -Directive sur la bonne pratique phytosanitaire -culture des Alliums- PP 2/4(2) Français, Septembre 2000.
- Parry, J. W. , 1962. -Spices; their morphology, histological and chemistry. New York: Chemical Publishing Co, p. 226.
- Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA), 2002 -DERD, B. P : 6598, Rabat, <http://agruculture.ovh.org> -Bulletin réalisé à l'institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Septembre 2002, B. P : 6446, Rabat, DL : 61/99, ISSN : 1114-0852.
- Pierre Davet, 1996 -Vie microbienne du sol et production végétal, -INRA-, Paris, 1996 ; P.231 ; 233.
- Rajasree CR, Rajamohan T, Augusti KT., 1999 -[Biochemical effects of garlic protein on lipid metabolism in alcohol fed rats](#). *Indian J Exp Biol* 1999 March;37(3):243-7.
- ROUX, Jean-L. (1994) -*Conserver les aliments, Comparaison des méthodes et des technologies des aliments*, Technique et Documentation - Lavoisier, Paris, p. 436-456.
- Santé Canada., 2005 -[Fichier canadien sur les éléments nutritifs](#), version 2005, [Consulté le 7 avril 2006].
- Sharma, G. P., & Prasad, S. (2001). -Drying of garlic (*Allium sativum* L.) cloves by microwave-hot air combination. *Journal of Food Engineering*, 50, 99-105.



- Stavelikova, H., 2008. -Morphological characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) genetic resources collection—Information. Horticultural Sci. 35:130-135.
- SUBRAMANIAN C.V., 1983. -Hyphomycetes, taxonomy and biology. Acad. Pr. London, 502p.
- Tattelman E., 2005 -[Health effects of garlic](#). *Am Fam Physician* 2005 July 1;72(1):103-6.
- Vinson JA, Hao Y, *et al.*, 1998 -Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem* 1998;46:3630-4.
- Wildman REC., 2001 -*Handbook of nutraceuticals and functional foods*. CRC Press ed. 2001.
- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL., 2004 -[Antioxidants and prevention of chronic disease](#). *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004;44(4):275-95.
- You WC, Li JY, *et al.*, 2005 -[Etiology and prevention of gastric cancer: a population study in a high risk area of China](#). *Chin J Dig Dis* 2005;6(4):149-54.
- You WC, Zhang L, *et al.*, 1998 -[Helicobacter pylori infection, garlic intake and precancerous lesions in a Chinese population at low risk of gastric cancer](#). *Int J Epidemiol* 1998 December;27(6):941-4.
- Zaika, L. L. (1988). -Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety*, 9, 97-118.

## Annexe I

### Solution d'oligo-éléments

Nous avons mis en solution :

Potassium molybdate.....	0,05g
Sodium borate.....	0,05g
Fer perchlorure.....	traces
Cobalt nitrate.....	0,05g



---

Cadmium sulfate.....	0,05g
Cuivre sulfate.....	0,05g
Zinc sulfate.....	0,05g
Manganèse sulfate.....	0,05g
Eau distillée.....	1000 ml

La solution a été répartie en flacons de 100ml, puis nous avons stérilisé à 120°C pendant 20mn.

### Milieu -I- pour champignons :

Peptone.....	5g
Glucose.....	10g
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K.....	1g
MgSO <sub>4</sub> .....	0,5g
Agar-agar.....	20g
Rose bengal (1/3000 dans l'eau distillée stérile).....	100ml
Solution d'oligo-éléments.....	1ml
Extrait d'ail.....	50ml
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

### Milieu -II- pour champignons (Ail-agar):

Extrait d'ail.....	80ml
Agar-agar.....	20g
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

### Milieu pour levures :

Peptone.....	5g
Glucose.....	10g
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K.....	1g
MgSO <sub>4</sub> .....	0,5g
Extrait de levure.....	20g
Agar-agar.....	20g
Rose bengal (1/3000 dans l'eau distillée stérile).....	100ml



---

Solution d'oligo-éléments.....	1ml
Extrait d'ail.....	50ml
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

### **Milieu standard Malt-agar pour champignons**

Extrait de malt.....	15g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

### **Milieu standard pour levures**

Extrait de levures.....	10g
Peptone.....	7g
Glucose.....	20g
Agar-agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

Les flacons contenant les différentes composantes ont été bouché au coton, et pendant 20 minutes nous avons stérilisé à l'autoclave à 120°C.

A raison de 4% v/v, nous avons ajouté en surfusion la solution de chloramphénicol à 0,75% p/v d'eau distillée stérile. Puis nous avons coulé en boîte de pétri stérile.

### **Milieu pour bactéries :**

Peptone.....	10g
Glucose.....	5g
Extrait de levure.....	3g
Agar-agar.....	20g
Extrait d'ail.....	50ml
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

### **Milieu standard pour bactéries totales : gélose nutritive**

Extrait de viande.....	3g
Peptone.....	2g



---

Sodium chlorure.....	5g
Agar-agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

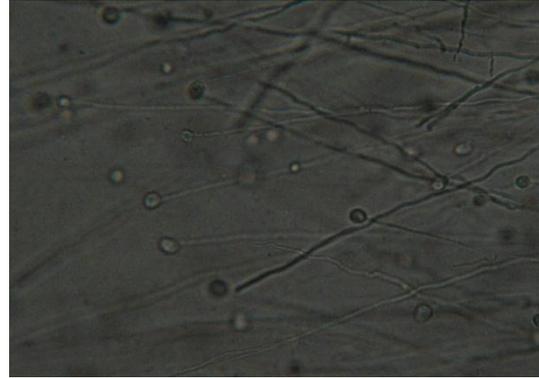
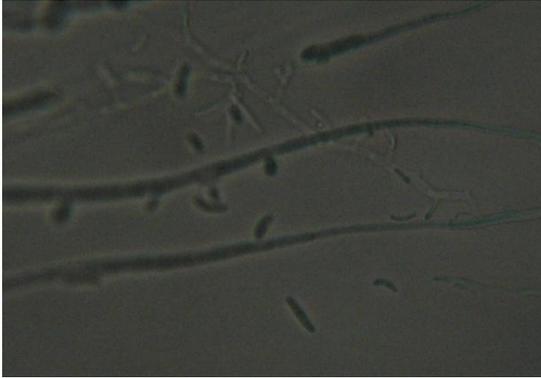
### Milieu pour actinomycètes :

Glycérol.....	10g
Sodium asparaginate.....	1g
Dipotassium hydrogène-phosphate ( $PO_4HK_2$ ).....	1g
Agar-agar.....	15g
Solution d'oligo-éléments.....	1ml
Extrait d'ail.....	20ml
Eau distillée q.s.p.....	1000ml

Les flacons contenant les différentes composantes du milieu pour bactéries et le milieu pour Actinomycètes ont été bouchés au coton, et pendant 20 minutes nous avons stérilisé à l'autoclave à 120°C. Puis nous avons coulé en boîte de pétri stérile.

## Annexe II





*Stylopage*



*Sclerotium cepivorum*



*Monilia*



*Ulocladium*



*Paecilomyces variotii*

*Penicillium sp.*



*Cladosporium*



*Penicillium sp.*



*Sclerotium = Puccinia*



**Université Sidi Mohammed Ben Abdellah**  
**Faculté des Sciences et Techniques**  
**Département de Biologie**  
[www.fst-usmba.ac.ma](http://www.fst-usmba.ac.ma)

---



---

Faculté des Sciences et Techniques - Fès

☒ B.P. 2202 – Route d’Imouzzer – FES

☎ 212 5 35 60 29 53 Fax : 212 5 35 60 82 14