

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

**Ecole Nationale Supérieure Agronomique**

المدرسة العليا للعلوم الفلاحية - الحراش - الجزائر

# Mémoire

**En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques**

**Option : Santé végétale et environnement**

## Sujet

**Activité antifongique de quelques huiles essentielles  
sur les moisissures du blé stocké**

**Présenté par : M<sup>lle</sup>. MEGHAZI Nassima**

**Soutenue en Juin 2015**

**Devant le jury :**

**Président: Mr. BICHE M. Professeur (E.N.S.A Alger)**

**Promoteur: Mr. MEBARKIA A. Maître de conférences (Université de Sétif)**

**Examineurs : M<sup>me</sup>. ZERMANE N. Professeur (E.N.S.A Alger)**

**Année universitaire : 2011/2012**

## *Dédicace*

*A ma mère pour tous ces sacrifices.*

*A mon père pour tous ces encouragements.*

*A mes très chères frères : Nabil, Mourad et Foudil.*

*A ma très chère sœur Mounira.*

*A celui qui croie et a toujours cru en moi.*

*A toute ma promo et mes collègues.*

*A tous ceux qui ont contribué à ma formation.*

# Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon **DIEU** de m'avoir donné la patience et le courage pour bien mener ce travail.

Je tiens tout d'abords à manifester toute ma gratitude à mon directeur de thèse **Mr. MEBARKIA Abdelkrim** pour ses qualités humaines et sa gentillesse. Merci d'avoir accepté de m'encadrer, de m'avoir proposé le thème de la recherche et surtout pour votre disponibilité.

J'exprime également toute ma reconnaissance à **Mr. BICHE Mohammed** et je le remercie de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Merci de m'avoir encouragé à continuer mes études et entamer le magistère.

Je voudrais ensuite remercier **M<sup>me</sup> ZERMANE Nadjia**, membre de mon jury, pour avoir accepté avec joie d'évaluer ce travail en dépit de ses nombreuses autres obligations. Merci pour le regard critique sur ce travail.

Je n'oublierai pas de remercier aussi **Mr. LAZAR Mohammed**, chef de département de lutte antiacridienne au sein de l'I.N.P.V. Merci de m'avoir si bien accueilli au laboratoire du département dans lequel j'effectuais mes essais. Ainsi que **Mr BEN SAAD Hamid** pour ces encouragements.

Je voudrais remercier tout particulièrement ma collègue et mon amie **M<sup>elle</sup> BENELMOUFFOK Amina** que j'ai souvent sollicité pour l'identification des moisissures et qui a toujours répondu avec patience. Merci de m'avoir fait profiter de ton expérience dans ce domaine.

Un grand Merci s'adresse à mon ami et mon collègue **Mr. BOUSBIA Aissam** pour sa précieuse aide dans les calculs statistiques et ses conseils ainsi que mon collègue **Mr ZIBANI Abdenour** et **M<sup>me</sup>DENDOUGUA Wassila** pour leur aide et leurs orientations scientifiques précieuses.

Mes vifs remerciements s'adressent à :

- Mes très chers parents pour leurs encouragements.
- Mon très cher frère aîné Nabil, de m'avoir accompagné et aidé dans mes sorties pour la récolte des plantes et l'échantillonnage du blé.

- *Mes chers amis (es) qui m'ont aidé chaque 'un à sa manière dans la réalisation de ce travail en occurrence : **Mr.MAZA Tahar, M<sup>elle</sup> AISSAOUI Hafsa, M<sup>elle</sup>. MADENE Nadia et Mr. BENHASSANE Abderrahim.***
- *J'exprime ma reconnaissance pour tous ceux qui ont contribué par leur aide morale de près ou de loin, en occurrence **Mr. BOUKRAA Slimane, Mr. BRAHIM MAHMOUD abdelaziz, et Mr.SID AMAR Ahmed.** Merci mes très chers amis pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*Je saisis l'opportunité de la fin de ce travail pour exprimer ma gratitude envers ma famille, en occurrence ma très chère mère, pour son amour et ses sacrifices, pour enfin me voir soutenir mon mémoire de magistère. Merci maman, sans toi, je n'aurais jamais été ce que je suis aujourd'hui.*

*Et bien sûr, je remercie également mon très cher père de m'avoir encouragé et aidé financièrement. Merci papa, pour tout ce que tu as fait et tu fais toujours pour moi.*

# Sommaire

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
<b>Partie I Le blé en Algérie</b>	
1. Production du blé .....	3
1.1. Dans le monde .....	3
1.2. En Algérie .....	4
2. Taxonomie du blé .....	5
2.1. Blé tendre .....	5
2.2. Blé dur .....	5
3. Le grain du blé .....	5
3.1. Constitution du grain .....	5
3.2. Composition chimique des grains .....	6
3.3. Activités vitales des grains .....	7
4. Paramètres d'altération des grains .....	8
4.1. Facteur abiotique .....	8
4.1.1. La température .....	8
4.1.2. Humidité relative .....	8
4.1.3. La teneur en oxygène et en gaz carbonique .....	8
4.1.4. Altérations physiques .....	9
4.2. Facteur biotique .....	9
4.2.1. Altérations d'origine enzymatique .....	9
4.2.2. Altérations d'origine biologique .....	9
5. Stockage et conservation du blé .....	12
5.2 Les différentes méthodes de stockage du blé .....	12
5.2.1 Stockage traditionnel .....	12
5.2.2 Stockage en silos .....	13
5.2.3 Stockage en gerbe .....	13

5.2.4 Stockage en épis .....	13
------------------------------	----

## **Partie II Les moisissures**

1. Généralités .....	14
2. Facteurs de développement .....	14
2.1 La température .....	15
2.2 L'humidité .....	15
2.3 Le pH .....	15
2.4 La composition gazeuse (oxygénation) .....	16
2.5 Les arthropodes .....	16
2.6 Les interactions .....	16
2.7 La proportion de grains brisés dans un lot. ....	16
3. Les moisissures du blé stocké .....	16
3.1 Flore du champ .....	16
3.2 Flore intermédiaire .....	17
3.3 Flore poste-récolte .....	17
4. Les principales moisissures d'altération du blé stocké .....	18
4.1 Le genre <i>Aspergillus</i> .....	18
4.2 Le genre <i>Penicillium</i> .....	18
4.3 Le genre <i>Fusarium</i> .....	19
4.4 Les Mucorales .....	19
5. Identification des moisissures .....	20
5.1 Analyse morphologique .....	20
5.2 Analyse chimique .....	20
5.3 Analyse moléculaire .....	20
6. Rôle des moisissures .....	21
6.1 Actions bénéfiques des moisissures .....	21
6.1.1 Rôle dans l'industrie alimentaire .....	21
6.1.2 Rôle dans l'industrie pharmaceutique .....	21

6.1.3 Rôle phytosanitaire .....	22
6.2 Actions néfastes des moisissures .....	22
6.2.1 Déviations organoleptiques .....	22
6.2.2 Production des mycotoxines .....	22

### **Partie III Les Huiles essentielles**

1. Généralités .....	25
2. Propriétés physiques .....	26
3. Composition chimique .....	26
3.1 Les composés terpéniques .....	27
3.1.1 Les monoterpènes .....	27
3.1.2 Les sesquiterpènes .....	27
3.2 Composés aromatiques .....	28
3.3 Notion du chémotype .....	28
4. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles dans la plante	28
5. Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	29
5.1 La distillation à la vapeur d'eau .....	29
5.1.1 L'entraînement à la vapeur d'eau .....	29
5.1.2 L'hydrodistillation .....	30
5.1.3 L'hydrodiffusion .....	30
5.2 L'expression à froid .....	30
5.3 L'extraction par solvants .....	31
6. Conditions de conservation et stockage des huiles essentielles .....	31
7. Les différentes activités biologiques des huiles essentielles .....	31
7.1 Activité antifongique .....	32
7.2 Activité antimicrobienne .....	33
7.3 Antiseptique .....	34
7.4 Activité antioxydante .....	34

8. Utilisation des huiles essentielles .....	35
8.1. Dans le secteur phytosanitaire .....	35
8.2. Dans l'industrie agroalimentaire .....	36
8.3. En pharmacie .....	36
8.4. En parfumerie et cosmétologie .....	36
8.5. Dans l'industrie chimique .....	36

## Chapitre II Matériels et Méthodes

1. Matériel végétale .....	37
1.1. Variétés de blé échantillonnées .....	37
1.1.1. Méthode d'échantillonnage .....	37
1.2 Présentation des plantes végétales .....	37
1.2.1. L'espèce <i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) Breistr. ....	37
1.2.1.1. Propriétés .....	37
1.2.2.2. Description botanique .....	38
1.2.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle .....	38
1.2.2 L'espèce <i>Cedrus atlantica</i> (Endl.) Manetti ex Carrière .....	39
1.2.2.1. Propriétés .....	39
1.2.2.2. Description botanique .....	39
1.2.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle .....	40
1.2.3 L'espèce <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	40
1.2.3.1. Propriétés .....	40
1.2.3.2. Description botanique .....	41
1.2.3.3. Composition chimique de l'huile essentielle .....	41
1.2.4. Récolte et séchage des plantes .....	41
2. L'extraction des huiles essentielles .....	42
3. Détermination du rendement des huiles essentielles .....	42
4. Etude mycologique du blé échantillonné .....	42



4.1. Isolement par la méthode de dilution .....	42
4.2. Identification des genres .....	44
4.2.1. Observation macroscopique .....	45
4.2.2. Observation microscopique .....	45
4.3. Identification des espèces .....	45
a. Les <i>Aspergillus</i> .....	45
b. <i>Fusarium</i> .....	45
5. Matériel fongique .....	45
6. Test antifongique .....	46
a. Préparation de l'inoculum .....	46
b. Dépôt des disques .....	46
c. Préparation du témoin .....	47
d. Expression des résultats .....	47
6.1. Détermination de la CMI .....	48
7. Analyse statistique .....	48

### **Chapitre III Résultats et discussion**

1. Les résultats .....	49
1.1 Identification des genres des moisissures isolées par la méthode de culture sur lame .....	49
1.2 Identification des espèces .....	53
1.2.1 Les <i>Aspergillus</i> .....	53
1.2.2 L'espèce du genre <i>Fusarium</i> .....	57
1.3 Dénombrement de la flore fongique du blé échantillonné .....	57
1.3.1 Le milieu PDA .....	57
1.3.2 Le milieu CDA .....	60
1.3.3 Le milieu PDAac .....	62
1.4. Activité antifongique des huiles essentielles .....	65
1.4.1. Rendements en huiles essentielles .....	65
1.4.2. Essai d'activité antifongique des huiles essentielles .....	65

1.4.2.1. Activité antifongique de l'huile essentielle d'Ammodendron	65
1.4.2.2. Activité antifongique de l'huile essentielle de Cedrus atlantica	66
1.4.2.3. Activité antifongique de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus	67
1.4.2.4. Comparaison de la réponse au traitement en fonction du type de moisissure	71
1.4.2.5. Détermination de la CMI	71
<b>2. Discussion</b>	
2.1 Dénombrement et identification de la flore fongique	77
2.2 Essai d'activité antifongique	78
2.2.1 Les rendements moyens	78
2.2.2 Essais d'activité antifongique	79
<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>84</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	Ressources en blé en Algérie.....	04
<b>Tableau 2</b>	Tableau récapitulatif des espèces sources d'huiles essentielles, dates et lieux de récolte et parties utilisées.....	42
<b>Tableau 3</b>	Identification des espèces d' <i>Aspergillus</i> (aspect macroscopique) par la méthode de single spore.....	53
<b>Tableau 4</b>	Rendements en huiles essentielles.....	65
<b>Tableau 5</b>	Effet de la dose d' <i>Ammoidespusilla</i> (moyenne $\pm$ écart type).....	66
<b>Tableau 6</b>	Effet de la dose de <i>Cedrusatlantica</i> (moyenne $\pm$ écartype).....	67
<b>Tableau 7</b>	Effet de la dose de la <i>Pistacialentiscus</i> (moyenne $\pm$ écartype) .....	68
<b>Tableau 8</b>	La réponse en fonction du type des moisissures (moyenne $\pm$ écartype).....	70

## Liste des figures

<b>Photo 1</b>	Schéma d'une coupe d'un grain de blé .....	01
<b>Figure 2</b>	Diagramme de conservation des grains .....	11
<b>Photo 3</b>	Schéma d'une tête aspergillaire .....	18
<b>Photo 4</b>	Schéma d'un pénicille .....	18
<b>Photo 5</b>	Schéma d'un Fusarium(a) Microconidie; (b) Chlamidospores .....	19
<b>Photo 6</b>	Appareil reproducteur des mucorales .....	19
<b>Photo 7</b>	Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par entrainement à la vapeur d'eau .....	30
<b>Photo 8</b>	Parties aériennes d' <i>Ammoides pusilla</i> .....	38
<b>Photo 9</b>	Arbre du Cèdre de l'atlas .....	39
<b>Photo 10</b>	Aiguilles, rameau et cône du Cèdre de l'atlas .....	39
<b>Photo 11</b>	Le lentisque .....	41
<b>Photo 12</b>	Appareil Clavenger utilisé .....	42
<b>Figure 13</b>	Schéma légendé du dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .....	42
<b>Figure 14</b>	Protocole d'isolement des souches fongiques par la méthode de dilution ....	44
<b>Photo 15</b>	Culture sur lame .....	45
<b>Figure 16</b>	Photos de l'aspect macroscopique des souches fongiques isolées sur les trois milieux PDA, CDA et PDAac .....	51
<b>Photo 17</b>	Aspect microscopique des genres identifiés par la technique de culture sur lame ( <b>Gr ×40</b> ) .....	52
<b>Photo 18</b>	Identification des espèces du genre <i>Aspergillus</i> (aspect macroscopique) par la méthode de single spore .....	55
<b>Figure 19</b>	Aspect microscopique des espèces. <i>Fusarium</i> (microconidies et macroconidies) identifiées ( <b>Gr×40</b> ) .....	56
<b>Figure 20</b>	Aspect macroscopique de <i>Fusariumverticillioide</i> sur PDA (7jr à 27°C) .....	57
<b>Figure 21</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu PDA.....	59
<b>Figure 22</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu PDA .....	59
<b>Figure 23</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu CDA .....	61
<b>Figure 24</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu CDA...	61
<b>Figure 25</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu PDAac ...	62
<b>Figure 26</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu PDAac.	63
<b>Figure 27</b>	Moyenne de la flore fongique totale de blé dur et de blé tendre détectée sur les trois milieux .....	64
<b>Figure 28</b>	Moyenne de la flore fongique totale dénombrée sur le blé dur et sur le blé tendre .....	64
<b>Figure 29</b>	Effet inhibiteur de l'huile essentielle d' <i>Ammoides pusilla</i> (10µl /disque) sur lessouches fongiques testées. La flèche orange indique le diamètre d'inhibition .....	69
<b>Figure 30</b>	Résultats de la CMI de l'huile essentielle d' <i>Ammoides pusilla</i> .....	72

# Introduction générale

## Introduction générale

Les grains de céréales constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme et des animaux domestiques, c'est pourquoi la connaissance des phénomènes régissant leur conservation et la maîtrise des techniques de leur stockage sont déterminantes pour la survie de millions de personnes. La population mondiale enregistre des taux d'accroissement à peine concevables qui font passer l'humanité de 1.5 milliards d'individus vers 1850 à plus de 6 milliards aujourd'hui (Kheladi, 2009).

Le blé, constitue une des céréales les plus cultivées dans le monde. C'est une source importante de protéine pour l'alimentation humaine (Molkhou, 2007). En Algérie, les produits céréaliers, dont le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). Cependant, la conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo et al., 2013).

Cette denrée est généralement attaquée par plusieurs ravageurs dont les insectes et les moisissures. Les dommages causés par les insectes sont loin d'être sous estimés, mais ceux causés par les moisissures ne devraient pas être négligeables (Pitt et Hocking, 1991). La microflore et particulièrement les moisissures constituent en cours de stockage, la cause principale d'altérations diverses et par la suite de pertes inestimables. Ce sont surtout les *Aspergillus* et les *Penicillium*, hôtes normaux et habituels des grains qui sont susceptibles de se développer abondamment au cours de stockage défectueux (Kheladi, 2009). En effet, la contamination qui débute au champ, va se poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et de stockage (Boudra, 2009). La prolifération de ces moisissures sur le blé stocké engendre deux conséquences ; altérations de la qualité du grain qui va se répercuter sur la valeur nutritionnelle des produits dérivés et la production de mycotoxines (Pitt & Hocking, 1991).

L'augmentation croissante des quantités de blé stocké, couplée à la sévérité des pertes poste récolte, impose l'utilisation des pesticides de synthèse pour la protection des stocks. Ces traitements sont efficaces, peu onéreux et aisément disponibles dans les pays en voie de développement (Kouassi, 2001). Or, ces produits chimiques présentent de nombreux inconvénients, tels que la pollution de l'environnement, la prolifération des organismes nuisibles et le développement de phénomènes de résistances. Par conséquent, la recherche de

méthodes alternatives s'avère nécessaire face à la méfiance accrue suscitée par l'usage des produits chimiques dans la protection des denrées alimentaires (Senhaji et al., 2005).

Parmi les solutions envisagées, l'activité biologique d'extraits de plantes, comme les huiles essentielles et leurs dérivés tiennent une place importante dans la recherche de biopesticides (Tia et al., 2013). Elles font partie ces dernières années des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs et la lutte contre les moisissures. Leur application dans la protection des stocks a fait l'objet de nombreux travaux (Guèye et al., 2011).

Le principal objectif de notre travail est l'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Ces huiles sont extraites à partir de trois espèces végétales, *Cedrus atlantica*, *Pistacia lentiscus* et *Ammoides pusilla*. Ces dernières appartiennent à la flore Algérienne, qui est caractérisée par sa diversité florale, méditerranéenne, saharienne et paléo-tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (Arab et al., 2014).

Pour répondre à cet objectif, le mémoire s'articule sur trois grands chapitres. Le premier chapitre introductif, résume les données bibliographiques sur la problématique de l'écologie du stockage du blé, les causes et les conséquences de ces infestations. Le second chapitre, porte sur la méthodologie adoptée. Le dernier chapitre, concerne la présentation et la discussion des résultats obtenus et, enfin, une conclusion générale avec des perspectives.

# Revue bibliographique



# Le blé en Algérie

## **Introduction**

Faciles à conserver en raison de leur faible teneur en eau (10 à 15%) et aisées à transporter, les céréales occupent actuellement une place dominante en fournissant 60% de l'énergie des aliments du globe (Fredot, 2012). Ces plantes sont cultivées pour l'amidon de leurs graines et sont consommées par l'homme et les animaux ou utilisées dans l'industrie (Berhaut *et al.*, 2003). Les céréales et leurs dérivés constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins (Doukani *et al.*, 2013). En Algérie, la filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole (Djermoun, 2009). Elle occupe une place stratégique dans l'économie nationale et représente la base de la ration alimentaire (Doumandji *et al.*, 2011) dont le blé est l'espèce la plus représentative (Doukani *et al.*, 2013).

### **1. Production du blé**

#### **1.1. Dans le monde**

Historiquement, le blé est l'une des trois céréales les plus cultivées dans le monde, les deux autres étant le maïs et le riz (Shewry *et al.*, 2009). D'un point de vue quantitatif, c'est une céréale cultivée avec plus de 600 millions de tonnes par an (Anonyme, 2011). Les deux principales espèces actuellement cultivées sont le blé commun ou blé tendre, riche en amidon, cultivé un peu partout dans les régions tempérées et le blé dur, riche en amidon et en gluten, cultivé dans des zones plus chaudes et plus sèches.

L'Australie, le Canada, l'Argentine et les Etats Unis ont toujours été actifs dans la production et le commerce des grains assurant environ le tiers des exportations mondiales de blé de la planète (Abis, 2012). La France quand à elle se situe au second rang mondiale des exportations du blé dur derrière le Canada (Anonyme, 2012).

En Méditerranée, le blé occupe une place essentielle dans les sociétés et ses modes de consommation, dans les rapports entre les Etats et les populations et dans les échanges commerciaux à l'œuvre au sein de cet espace (Abis, 2012).

## 1.2. En Algérie

Le blé étant le produit de consommation de base, les habitants des pays arabes sont les plus gros consommateurs de cette denrée au monde notamment l'Algérie avec près de 600 grammes par personne et par jour (Abis, 2012). Selon Rastoin & Benabderrazik (2014), la production de blé se répartit entre blé dur (70 % en 2012) et blé tendre (30%), avec une importante variabilité interannuelle. Le blé dur reste ainsi la céréale prépondérante et demeure la base de l'alimentation en Algérie (semoule, principalement, et pâtes). On observe cependant une progression rapide du blé tendre (pain, biscuiterie, pâtisserie) avec l'occidentalisation du modèle de consommation. Généralement bien adapté aux conditions agro-climatiques locales, la production du blé dur progresse au même rythme que celle du blé tendre atteignant les 19 millions de quintaux entre 2008 et 2012 contre 8 millions de quintaux pour le blé tendre (FAOSTAT, 2013 in Rastoin & Benabderrazik, 2014).

L'écart important entre le niveau actuel de la consommation et celui de la production nationale conduit l'Algérie à importer de grosses quantités de céréales notamment le blé avec 68% des importations. Sur ce total, les importations du blé tendre sont régulièrement plus importantes que ceux du blé dur du fait de l'évolution de la consommation et de la collecte localement (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

**Tableau 1.** Ressources en blé en Algérie (adaptées à partir des données du M.A.D.R, 2013 in Rastoin & Benabderrazik, 2014).

Ressources	Disponibilités 2012		
	Kg/habitant	Totales (M.q)	%
<b>Population</b>	38 482		
<b>Blé dur</b>			
<b>Production nationale</b>	63	24.1	60 %
<b>Importations</b>	41	15.8	40 %
<b>Total</b>	104	39.9	100 %
<b>Blé tendre</b>			
<b>Production nationale</b>	27	10.5	18 %
<b>Importations</b>	124	47.6	82 %
<b>Total</b>	151	58.1	100 %
<b>Blé dur + Blé tendre</b>			
<b>Productions nationale</b>	90	34.6	35 %
<b>Importations</b>	165	63.4	65 %
<b>Total</b>	255	98.0	100 %

## 2. Taxonomie du blé

Le blé est une plante annuelle appartenant à la famille des graminées qui s'adapte à des sols et des climats variés (Fredot, 2012). La classification botanique de cette plante est donnée selon Feillet (2000) comme suit :

<b>Famille</b>	<i>Gramineae</i>
<b>Sous-famille</b>	<i>Festucoideae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Triticeae</i>
	<i>Aveneae</i>
<b>Sous-Tribu</b>	<i>Triticineae</i>
<b>Genre</b>	<i>Triticum</i>
<b>Nom commun</b>	Blé tendre ( <i>Triticum aestivum</i> L. sub sp aestivum) Blé dur ( <i>Triticum durum</i> Desf.)

### 2.1. Blé tendre

C'est un blé destiné à l'industrie de la meunerie et permet d'obtenir une farine de bonne qualité, doté d'une aptitude pour la panification et contenant environ 8 à 10 % de gluten (Fredot, 2012).

### 2.2. Blé dur

Il est de forme effilée, une teneur protéique plus importante ainsi qu'un albumen de consistance cornée plus difficile à réduire en farine. Ce dernier est aussi plus riche en gluten, en lipide, en minéraux et en vitamines (Fredot, 2012). Le blé dur est considéré comme étant le principal apport énergétique (Hamroun, 2006 in Doumandji *et al.*, 2011). Il est utilisé principalement pour la fabrication des semoules, celles-ci sont utilisées dans la fabrication des pâtes alimentaires sèches et du couscous (Anonyme, 2012).

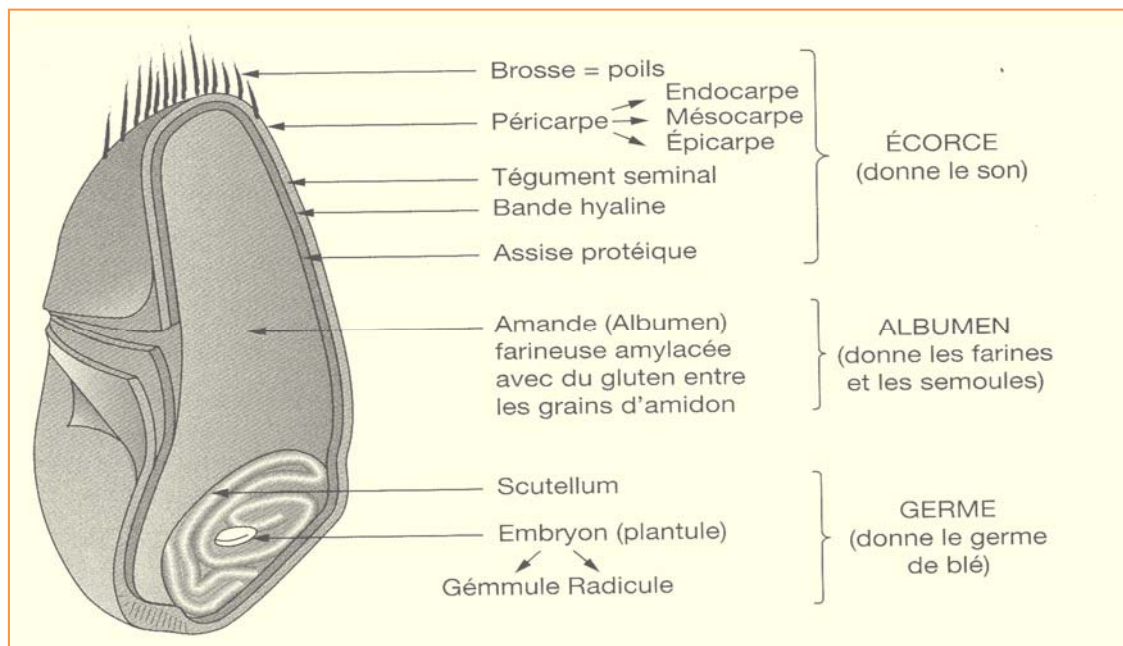
## 3. Le grain du blé

### 3.1. Constitution du grain

Le grain se compose de 3 parties principales (Photo 1):

- a) **Le péricarpe ou enveloppe** : C'est la pellicule cellulosique qui protège le grain pendant sa formation dans l'épi, pendant la levée dans le sol ainsi qu'au cours de sa conservation (Berhaut *et al.*, 2003).

- b) L'albumen ou l'endosperme :** Il est appelé aussi tissu nourricier car il constitue la réserve de nourriture du germe essentiellement composé d'amidon (Gwimer *et al.*, 1996). Il représente 80% du poids du grain et sa partie inférieure est délimitée par le germe (Fredot, 2012).
- c) Le germe ou embryon :** Il donne naissance à une nouvelle plante. Il est particulièrement riche en huile et en albumine (Gwimer *et al.*, 1996). Il représente 3% du poids du grain, il est riche en vitamines et en minéraux (Fredot, 2012).



**Photo 1.** Schéma d'une coupe d'un grain de blé (D'après Fredot, 2009)

### 3.2. Composition chimique des grains

Le grain est composé de matières minérales et de matières organiques (Nadiay, 1999), on retrouve :

- a) Les glucides :** Il est principalement constitué d'amidon, qui est un glucide complexe, environ 70% (Feillet, 2000) et d'autres glucides simples comme le glucose, le fructose, le saccharose et le raffinose (Fredot, 2009).
- b) Les protéines :** Il contient entre 10 et 15% de protéines selon la variété, elles sont divisées en deux types, protéines de structure et de fonction (Battais *et al.*, 2007).

- c) **Les lipides** : Les grains du blé sont naturellement pauvres en lipides : Ils en contiennent seulement 2 %, essentiellement localisés dans le germe et l'assise protéique (Fredot, 2009).
- d) **L'eau** : Le grain du blé mûr est constitué de 13.5% d'eau, cette faible teneur lui permet d'être stocké longtemps en évitant le développement de micro-organismes en particulier les moisissures (Feillet, 2000).
- e) **Les minéraux** : Ils sont présents dans les grains en faible quantité. Les principaux sont le phosphore, le potassium, le manganèse et le cuivre, ils sont souvent associés ou présents sous forme de sels tels que les phosphates, chlorures ou sulfates (Berhaut *et al.*, 2003).
- f) **Les vitamines** : Ce sont des éléments cliniques complexes jouant un rôle important dans la nutrition. Dans le grain, elles sont concentrées au niveau du germe et des enveloppes (Nadiaye, 1999).

### 3.3. Activités vitales des grains

#### a) La respiration

Le grain est un organisme vivant qui respire entraînant ainsi un dégagement de gaz carbonique, d'eau et de chaleur (Boudreau *et al.*, 1992). Avec ses réactions d'oxydation, la respiration a toujours lieu quelles que soient les conditions de stockage, que les grains aient ou non leur faculté germinative intacte. L'intensité du phénomène est fonction de la température et de l'humidité du grain ainsi que la quantité d'oxygène présente dans la cellule de stockage (Berhaut *et al.*, 2003). La chaleur dégagée par cette respiration va accélérer les autres manifestations vitales du grain comme la respiration anaérobie et, notamment, la germination (Boudreau *et al.*, 1992).

#### b) La fermentation

En absence d'oxygène, le grain évolue quand même, ce sont alors des fermentations qui se mettent en place. Sous l'action de certaines bactéries, les sucres sont transformés en gaz carbonique et en alcool avec un léger dégagement de chaleur (Berhaut *et al.*, 2003). En anaérobiose, une déviation du métabolisme conduit à des réactions intracellulaires produisant une odeur caractéristique de fermentation alcoolique (Boudreau *et al.*, 1992).

### **c) La germination**

La germination est l'aboutissement naturel de l'activité vitale du grain en présence d'oxygène et dans des conditions optimales d'humidité et de température. Au stockage, lorsqu'une masse de grain humide (18% et plus) est mal refroidie, le processus de germination peut se déclencher avec ou sans signe visible extérieurement (Berhaut *et al.*, 2003).

## **4. Paramètres d'altération des grains**

Au cours de leur stockage, les grains de blé subissent des altérations diverses (Caid *et al.*, 2008). Ces différents dégâts réduisent la qualité du grain et le rendent impropre à la consommation (Waongo *et al.*, 2013). Ces altérations ont plusieurs origines :

### **4.1. Facteur abiotique**

#### **4.1.1. La température**

La température est le facteur clé responsable des pertes post récoltes. Elle exerce une forte influence sur le taux de respiration des grains stockés et celui des organismes parasites, de même que sur l'humidité relative de l'air, la teneur en eau des produits stockés et enfin sur le développement des ravageurs des stocks (Gwimer *et al.*, 1996).

#### **4.1.2. Humidité relative**

Selon Proctor (1999), la teneur en eau des grains joue un rôle crucial dans le traitement après récolte et c'est à elle aussi que sont associées la plupart des caractéristiques induites. La vapeur d'eau se diffuse dans la masse de grains et des points chauds peuvent se produire aux endroits où la respiration s'accélère. Généralement, les grains sont stockés à une humidité inférieure ou équivalente à  $\leq 0.70$  de l'activité de l'eau pour éviter la détérioration par les micro-organismes, notamment les moisissures (Sharma & Bhandari, 2014).

#### **4.1.3. La teneur en oxygène et en gaz carbonique**

En présence d'oxygène, si la température et/ou l'humidité sont élevées, l'amidon est transformé en sucres libres au cours de la respiration du grain, ce qui va produire de la vapeur d'eau, du gaz carbonique et de la chaleur. Quand l'air se trouvant entre les grains est renouvelé avec apport d'oxygène par une faible ventilation ou par tirage naturel, la production de chaleur peut devenir très importante et provoquer un échauffement jusqu'à 55-60°C (Berhaut *et al.*, 2003).

#### **4.1.4. Altérations physiques**

Elles sont dues à des chocs lors des opérations de manutention répétés et/ou brutales entraînant la fissure, voire la cassure des grains. Lorsque la structure granulaire est détruite, les constituants peuvent entrer plus facilement en contact avec les microorganismes et les enzymes (Boudreau *et al.*, 1992).

### **4.2. Facteur biotique**

#### **4.2.1. Altérations d'origine enzymatique**

Elles sont essentiellement provoquées par les enzymes propres du grain. En mauvaises conditions de stockage, ces derniers entrent en activité et favorisent la dégradation de l'amidon et le rancissement des lipides (Berhaut *et al.*, 2003). Ce sont des hydrolases agissant sur les protéines (protéases), les lipides (lipases) et les glucides (glucosidases) ainsi que l'ensemble des équipements enzymatiques complexes qui régissent les phénomènes de respiration et de fermentation (Multon, 1982).

#### **4.2.2. Altérations d'origine biologique**

Il faut souligner qu'un stock de grains est un écosystème artificiel créé par l'homme et constitué d'un ensemble de différentes entités vivantes, d'une part et obligatoirement les grains avec leur germes et microorganismes (moisissures, levures, bactéries), d'autre part, de façon non obligatoire mais cependant très fréquente, les animaux prédateurs (insectes, acariens, rongeurs et oiseaux) (Multon & Sigaut, 1982).

##### **a. Les insectes**

Les insectes forment l'une des communautés les mieux adaptées à l'écosystème de l'entrepôt (Schiffers *et al.*, 1988). Ceux qui peuvent se développer dans les grains appartiennent principalement à deux ordres, les coléoptères et les lépidoptères (Multon, 1982). Les coléoptères regroupent les charançons, les triboliums, les silvains, les capucins et les cryptolestes. Tandis que les lépidoptères regroupent les pyrales, les aleucites et les teignes (Feillet, 2000). Ces insectes nécessitent une température supérieure à 10°C pour se nourrir de grains et supérieure à 15°C pour se reproduire, celle-ci constitue le facteur déterminant pour leur développement dans les conditions post-récolte (Cook & Veseth, 1991). De plus, Feillet (2000), note que chaque espèce d'insecte possède un optimum de développement et des degrés différents de tolérance thermique. Ils peuvent être présents dans les grains sous forme



d'œufs et à l'état larvaire, nymphal ou imaginal (Multon, 1982). Les conséquences directes de ces infestations sont désastreuses, elles conduisent à un échauffement de la masse des grains, apparition de moisissures, importante production de poussière, odeur désagréable, ce qui conduit à des grains inconsommables (Schiffers *et al.*, 1988).

#### **b. Les acariens**

Les acariens de stockage appelés aussi acariens des denrées alimentaires entreposées, ont une prédilection pour les aliments conservés dans des lieux humides, ils se nourrissent essentiellement de moisissures (Bessot *et al.*, 2011). Ils appartiennent principalement à la famille des *Acaridae* et des *Glycyphagidae*, se reproduisent selon un rythme accéléré et ils ont une fécondité élevée (Pauli & Bessot, 2013). Leur cycle de développement est très court avec seulement 10 à 12 jours entre 23 à 25°C (Berhaut *et al.*, 2003). Chez les acariens, les seuils de températures nécessaires à leur multiplication sont inférieurs à ceux des insectes, ils se situent entre 8 et 35 °C, mais il leur faut au minimum 70% d'humidité relative (Feillet, 2000), soit dans les grains à 17-18 % de teneur en eau (Berhaut *et al.*, 2003).

#### **c. Les micro-organismes**

##### **d) Les levures et moisissures**

Une microflore importante accompagne normalement les grains sains. Celle qui se développe au cours du stockage des blés se caractérise par la succession de deux types écologiques. De nouvelles espèces, dites de stockage, prennent l'avantage sur les espèces champêtres (Feillet, 2000). La flore des grains est composée de moisissures parasites (*Fusarium*, *Helminthosporium* etc.) ou saprophytes. Elle est abondante et localisée en surface.

##### **e) Les bactéries**

On y trouve également d'autres germes tels que les *Pseudomonadacea*, des microcoques, lactobacilles, bactéries sporulées, coliformes, quelques levures et des spores fongiques qui appartiennent à la flore du champ (Guiraud, 1998). Ce même auteur note que les grains ne sont pas un substrat très favorable aux micro-organismes, mais l'augmentation d'humidité et l'élévation de température peuvent faire apparaître des conditions favorables à leur développement.

#### d. Les vertébrés

Divers petits vertébrés (rongeurs, oiseaux), peuvent vivre aux dépens des stocks de grains mal protégés, dont ils peuvent consommer des quantités considérables (Multon, 1982). Les oiseaux se trouvent en bandes à proximité des grands silos, il s'agit essentiellement de pigeons et de tourterelles ainsi que de moineaux et parfois d'étourneaux. Les rongeurs sont eux aussi attirés par la présence des grains dont ils sont friands, les dégâts qu'ils occasionnent dans les stockages sont sensiblement du même ordre que ceux des oiseaux (présence de crottes, de poils et de cadavres) (Berhaut *et al.*, 2003), sans oublier les contaminations microbiennes et les maladies qu'ils transmettent (Feillet, 2000).

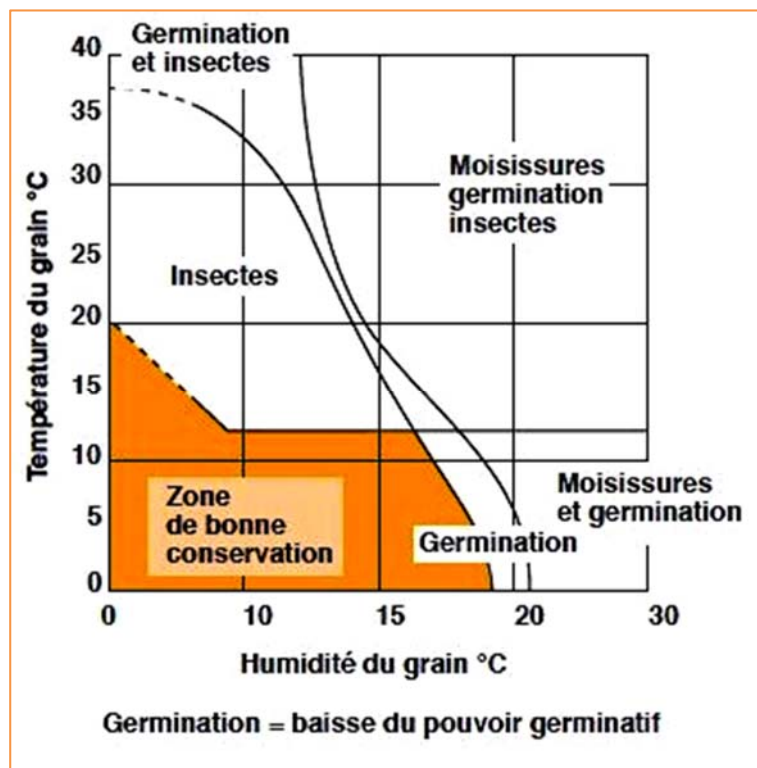


Figure 2. Diagramme de conservation des grains (D'après Audfray *et al.*, 2011)

## **5. Stockage et conservation du blé**

Le stockage et la bonne conservation ont pour but de préserver au maximum les qualités originelles des grains (Nadiay, 1999). Ainsi, la constitution de stocks a proprement révolutionné l'organisation de la société en assurant une alimentation régulière tout au long de l'année (Khaldi, 2009). Plusieurs pays cherchent donc à développer leurs capacités de stockage et leurs dispositifs logistiques, afin de constituer de véritables réserves en blé et ainsi de se protéger des risques d'approvisionnement (Abis, 2012).

En Algérie, la collecte des céréales, dont le blé, est assurée par deux types d'opérateurs : public, il s'agit de l'Office Algérien interprofessionnel des céréales OAIC ou privés (négociants ou transformateurs). Ces agents remplissent un rôle hautement stratégique, car de leur efficacité va dépendre la constitution de stocks et donc la sécurité alimentaire nationale (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

L'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC) est un organisme public à caractère administratif et commerciale. Il a pour rôle essentiel d'organiser et de réguler le marché national d'une part, et d'assurer la réception et le stockage des céréales et des légumes secs importés d'autre part (Bencharif & Rastoin, 2007).

La capacité de stockage de l'OAIC est de 28 millions de quintaux dont 18.5 millions de silos portuaires et continentaux. Cette capacité est considérée comme insuffisante et un programme de développement a été lancé en Janvier 2013 prévoyant la construction de 39 silos d'une capacité totale de 8.2 millions de quintaux. L'OAIC contrôle environ 80% du marché algérien des céréales. Il dispose d'un vaste et puissant réseau pour assurer la collecte, le stockage et la distribution de céréales et légumes secs. Pour remplir ses missions, l'office s'appuie sur un réseau très dense comprenant 41 Coopératives de Céréales et Légumes Secs (CCLS) qui assurent la quasi-totalité de la collecte de la récolte nationale, à travers 600 points (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

### **5.2. Les différentes méthodes de stockage du blé**

#### **5.2.1. Stockage traditionnel**

Le paysan algérien, des hauts plateaux, conservait surtout le produit de ses champs d'orge et de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux, appelé « El matmour » ou dans des sacs en toiles de jute, entreposés dans divers locaux, magasins ou hangars. La trop forte humidité et les eaux d'infiltration sont les inconvénients majeurs de cette méthode de

stockage favorisant le développement des moisissures et les phénomènes de fermentations bactériennes (Doumandji *et al.*, 2003).

### **5.2.2. Stockage en silos**

C'est le meilleur lieu de stockage prolongé des aliments solides comme les céréales. Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en métal inoxydable, leur emploi réduit la main d'œuvre, augmente l'air de stockage et supprime l'utilisation des sacs onéreux (Doumandji *et al.*, 2003). Le silo de béton armé est facile d'entretien, ininflammable et résiste bien à la corrosion des parois extérieures et aux pressions verticales et latérales des grains et aux chocs (Boudreau *et al.*, 1992).

### **5.2.3. Stockage en gerbe**

Ce type de stockage est mieux encore que celui en épis car le grain est protégé contre l'échauffement et les insectes notamment les charançons, mais les gerbes exigent davantage de travail à la récolte et au transport. Il a deux principaux avantages, le premier c'est qu'il permet de répartir le battage sur tout l'hiver, le second est de permettre une bonne conservation sans séchage artificiel des grains relativement humides (Multon & Sigaut, 1982).

### **5.2.4. Stockage en épis**

C'est une méthode de stockage qui a eu dans le passé une très grande importance. En épi le grain se conserve beaucoup plus facilement qu'en vrac, sans exiger autant de volume qu'en gerbe (Multon & Sigaut, 1982).

# **Les moisissures**

## 1. Généralités

Le terme « moisissure », bien qu'il ne soit en aucun cas une dénomination de taxonomistes, il est communément utilisé pour désigner tout micro-organisme fongique saprophyte appartenant aussi bien aux champignons supérieurs (Ascomycètes, Hyphomycètes, Basidiomycètes) qu'aux champignons inférieurs à hyphes coenocytiques (Zygomycètes) (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005 ; Reboux & Millon, 2008). C'est des champignons microscopiques, eucaryotes, hétérotrophes dont les aliments sont généralement des substrats très favorables à leur développement (Cahagnier, 1998).

Le nombre d'espèces fongiques varie de 60 à 100 milles (Reboux *et al.*, 2010). Elles sont omniprésentes dans notre environnement. La plupart sont phytopathogènes et se développent en saprophyte dans la terre et sur les plantes ou les débris végétaux en voie de putréfaction, elles se retrouvent aussi bien dans l'air que sur le sol et les surfaces, dans l'alimentation et parfois dans l'eau (Anonyme, 2011). Elles se rencontrent également sur les viandes et les produits d'origine animale, les cadavres d'animaux et les déjections des animaux herbivores (Delarras, 2007). Elles sont également considérées comme des formes imparfaites d'agents pathogènes entraînant mycoses et allergies (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Les moisissures saprophytes contaminent les aliments et les dégradent de point de vue qualitatif (Guiraud, 1998). Les espèces pouvant contaminer les aliments sont très nombreuses, se retrouvent aussi bien sous forme végétative (conidies) que sous leur forme sexuée (ascospores), ces dernières étant particulièrement aptes à la survie (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).

## 2. Facteurs de développement

Les moisissures ont un métabolisme actif en rapport avec leur mode de nutrition par absorption (Moreau, 1996). Leurs développements sont dépendants de la nature des substrats disponibles (cellulose, lignine, etc...) et les conditions physiques : températures, activité de l'eau ( $a_w$ ) ou disponibilité en eau, pH et oxygène (Gibson *et al.*, 1994 ; Reboux *et al.*, 2010). Aussi, Gock *et al.* (2003), signalent que la température, l'activité de l'eau et le pH contrôlent largement la germination et la croissance des moisissures xérophiles. Les conditions de développement de chaque espèce est spécifique en terme de condition physicochimique (Reboux, 2006).

## 2.1. La température

Elle joue un rôle prépondérant sur la croissance mycélienne. D'une manière générale, les moisissures peuvent se développer sous des températures allant de moins zéro à plus de 50°C (Proctor, 1995). Les moisissures les plus courantes sont mésophiles, elles se développent entre 15°C et 30°C dont l'optimum se situe entre 20°C et 25°C. Cependant certaines espèces sont psychrophiles, tel que *Cladosporium herbarum* qui peut croître à -6°C sur viande réfrigérée (Guiraud, 1998). D'autres souches peuvent se développer à des températures très hautes (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). Ces dernières sont appelées les thermophiles extrêmes capables de se développer au dessus de 45°C (*Aspergillus*, *Cladosporium*) (Guiraud, 1998).

## 2.2. L'humidité

Au lieu du taux d'humidité, l'activité de l'eau ( $a_w$ ) d'une substance est utilisée pour exprimer les besoins du champignon. Plus l' $a_w$  est faible, moins il y'aura d'eau disponible pour la croissance du champignon (Cahagnier, 1998). Divers types d'aliments sont caractérisés par leur activité d'eau ( $a_w$ ), cette exigence varie selon les espèces de moisissures et a une grande influence sur leur croissance mycélienne, la sporulation et surtout sur la germination des spores (Moreau, 1996). Elle conditionne également leurs activités lipolytiques et protéolytiques (Butt *et al.*, 2004).

Celles qui colonisent les milieux solides comme les grains de céréales en cours de stockage ou encore les produits céréaliers séchés sont qualifiées de xérophiles (aimant les milieux secs), (Cahagnier, 1998 ; Guiraud, 1998). Les activités d'eau nécessaires à leur croissance vont de 0.68 à 0.83 (Reboux, 2006). En outre, l'interaction entre la température et la teneur en eau du grain influe sur l'importance de la colonisation de ces moisissures, car le passage de l'eau du grain à l'état de vapeur est favorisé par une augmentation de la température (Proctor, 1995).

## 2.3. Le pH

Il dépend de la concentration en proton d'un milieu, il a une grande incidence sur son équilibre ionique. Les moisissures en générale sont acidophiles dont le pH de développement est compris entre 3 et 7 (Guiraud, 1998). Cependant, le développement maximum de moisissures sur les céréales s'opère entre les pH allant de 6 à 8 (Reboux, 2006). Ce dernier a une incidence sur le potentiel de croissance des moisissures xérophiles (Gock *et al.*, 2003).

#### **2.4. La composition gazeuse (oxygénation)**

Selon [Proctor \(1995\)](#), leur développement dépend aussi des proportions d'oxygènes, d'azote et d'oxyde de carbone dans l'atmosphère interstitiel. La sporulation des moisissures est sous la dépendance de facteurs nutritifs en particulier le rapport C/N et d'environnement ([Guiraud, 1998](#)). Beaucoup d'entre elles prolifèrent à de très faibles concentrations d'oxygène.

#### **2.5. Les arthropodes**

Les arthropodes tels que les insectes, les acariens et leurs interactions complexes, contribuent à la prolifération des moisissures et ce par leur rôle de vecteurs de spores. Les moisissures servent de source alimentaire pour les arthropodes et parfois agissent comme des agents pathogènes ([Proctor, 1995](#)).

#### **2.6. Les interactions**

Les interactions sont possibles entre plusieurs espèces de moisissures. Le plus souvent, c'est une succession de moisissures qui assurera la dégradation progressive du substrat, et selon les cas, il peut y avoir alliance ou antagonisme ([Moreau, 1996](#)).

#### **2.7. La proportion de grains brisés dans un lot**

Ces derniers ont été endommagés au cours de la récolte, de la manutention, du battage ou du séchage ([Gwimer et al., 1996](#)).

### **3. Les moisissures du blé stocké**

Il faut savoir que, le plus souvent, les végétaux sont contaminés par les moisissures lors de la culture, et que la croissance du champignon et la production des toxines se poursuivent après la récolte ([Pfhof-Leszkowics, 2009](#)).

#### **3.1. Flore du champ**

Le développement des moisissures se produit dans les champs. Certains sols sont d'emblée contaminés ([Reboux, 2006](#)). La contamination de la plante se fait à l'aide de plusieurs facteurs dont les attaques des insectes et leurs larves qui peuvent créer des lésions au niveau de l'enveloppe des graines favorisant ainsi la pénétration de l'inoculum à l'intérieur de la graine ([Portelli et al., 1999](#)). D'autres facteurs écologiques liés au climat peuvent également conduire à une contamination par ces moisissures et à une production de



mycotoxines comme l'insuffisance ou l'excès de pluies pendant les phases critiques de développement végétal (Proctor, 1995). Les conditions de récoltes et les pratiques culturales influencent fortement le niveau de colonisation des végétaux (Reboux, 2006).

Au champ, les grains sont surtout contaminés par les moisissures qui ont besoin de fortes activités de l'eau pour proliférer (Proctor, 1995). La flore des champs est constituée par des espèces potentiellement parasites, des *Fusarium*, *Epicoccum*, *Botrytis*, etc (Multon, 1982)

### 3. 2. Flore intermédiaire

D'après Multon (1982), la présence de cette flore avant récolte la fait généralement confondre avec la flore du champ, elle s'en distingue par un essor plus durable en période de récolte et au cours même du stockage, son comportement écologique ne peut relever strictement du parasitisme ou du saprophytisme. L'espèce *Cladosporium cladosporioides*, cosmopolite mais plus remarquable sur moissons différées, en est l'exemple des plus caractéristiques ainsi que les levures, la plus part des Mucorales et les espèces épiphytes d'autres champignons.

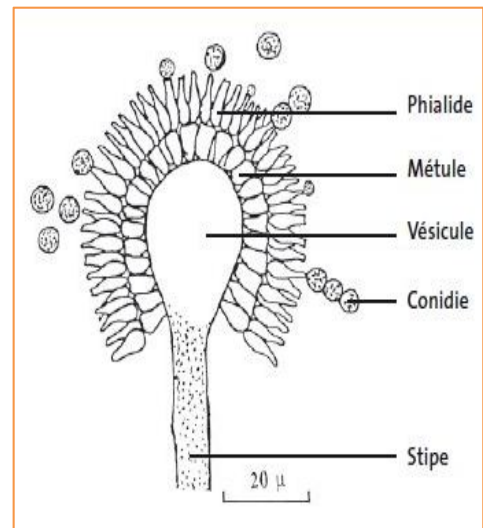
### 3. 3. Flore post-récolte

Les interactions à l'intérieur des écosystèmes granulaires, favorisent le développement d'une série de micro-organismes à mesure que se modifie la disponibilité en éléments nutritifs et le micro-environnement. Les grains à l'entreposage sont infestés par les moisissures qui se développent à de faibles teneurs en eau (Proctor, 1995). En outre, les dommages liés aux conditions de stockage peuvent accroître ou sélectionner certaines populations (Reboux, 2006). La flore de stockage regroupe essentiellement les espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Gwimer, 1996) dans laquelle les *Penicillium* et les *Aspergillus* sont dominants (Moreau, 1996 ; Feillet, 2000).

## 4. Les principales moisissures d'altération du blé stocké

### 4.1. Le genre *Aspergillus*

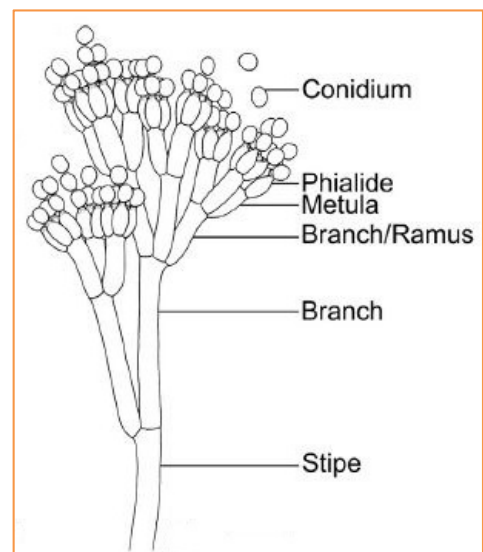
Ce genre est souvent associé aux *Penicillium* et se distingue de ces derniers par l'aspect des conidiophores qui sont terminés par une tête renflée (Champion, 1997). *Aspergillus* signifie « aspersoir » à cause de la forme de ses têtes aspergillaires (Galinas, 1995) (Photo 3). Ce sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, appartenant à la famille des *Aspergillaceae*, et à la classe des *Ascomycètes* (Anonyme, 2011). Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, ce genre comprend de 180 à 250 espèces selon les auteurs dont seules *Aspergillus fumigatus*, *A.flavus*, *A.nidulans*, *A.terreus*, et *A.niger* sont considérées comme thermotolérantes (Reboux *et al.*, 2010). Quand les grains sont récoltés humides, insuffisamment séchés ou lorsqu'elles prennent de l'humidité pendant le stockage, les *Aspergillus* peuvent évoluer rapidement et se transforment de saprophytes en parasites et entraînent une baisse importante de la faculté germinative sur les semences (Champion, 1997).



**Photo 3.** Schéma d'une tête aspergillaire (Anonyme, 2012)

### 4.2. Le genre *Penicillium*

De tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus ubiquitaire. Il comporte plus de 200 espèces qui se rencontrent partout de l'équateur aux pôles (Reboux *et al.*, 2010). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles (photo 4) rappelant ainsi la forme d'un pinceau (Champion, 1997).



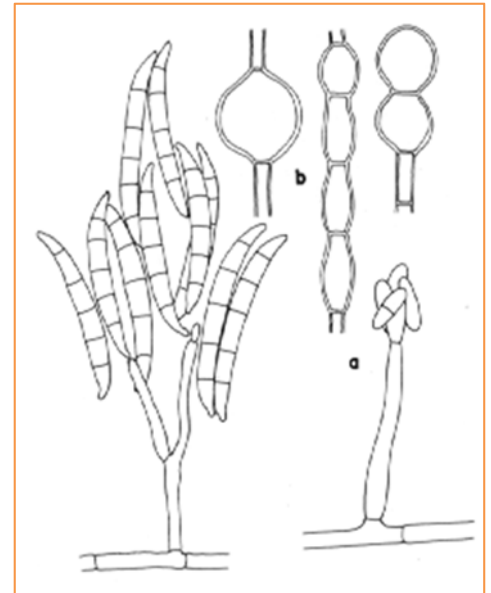
**Photo 4.** Schéma d'un pénicille (Visagie *et al.*, 2014)

A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation (Champion, 1997). Comme dans le cas des *Aspergillus*,

les spores asexuées ou bien les conidies ou conidiospores sont produites par bourgeonnement (Larpent & Larpent-Gouraud, 1990).

#### 4.3. Le genre *Fusarium*

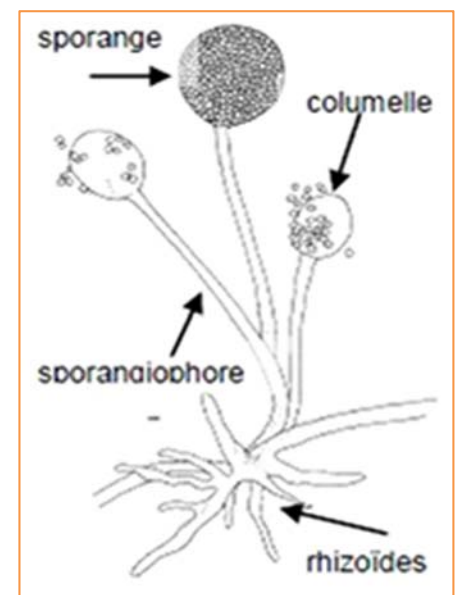
Selon Galinas (1995), le nom *Fusarium* vient de « *fusus* » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées (Fig. 5). Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivants en saprophytes. Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Chabasse *et al.*, 2005). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (Abramson *et al.*, 2001).



**Photo 5.** Schéma d'un *Fusarium* (a) Microconidie; (b) Chlamidospores ([www.telmeds.org](http://www.telmeds.org))

#### 4.4. Les *Mucorales*

Cette sous famille regroupant les genres *Absidia* sp, *Mucor* sp, *Rhizomucor* sp et *Rhizopus* sp (Reboux *et al.*, 2010). Les mucorales sont des champignons cosmopolites très répandus, saprophytes du sol où ils se nourrissent à partir de végétaux, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires comme les céréales, les fruits et légumes, certaines espèces sont pathogènes de plantes. La photo 6, montre que le champignon émet généralement des stolons qui courent à la surface du support gélosé et adhèrent au substrat par de sorte de racines appelées rhizoïdes, le thalle est constitué de filaments siphonnés non cloisonné, à partir des stolons, se forment des filaments dressés appelés sporangiophores porteurs de sporanges où sont produites les spores (Chabasse *et al.*, 2002).



**Photo 6.** Appareil reproducteur des mucorales (Dufresne et St-Germain, 2013)

## 5. Identification des moisissures

### 5.1. Analyse morphologique

L'identification des moisissures repose sur des critères essentiellement morphologiques ; tels que la taille, la forme, la couleur des colonies sur des milieux définis et étude microscopique des caractères du mycélium et des fructifications. Cette dernière fait appel à des techniques particulières comme la culture sur lame gélosée directement observable au microscope. Si la détermination du genre est assez simple, celle des espèces de nombreux genres est l'affaire de spécialiste (Guiraud & Rosec, 2004). Les moisissures peuvent être identifiées et quantifiées à l'aide d'un microscope. Elles sont quantifiées en unités formatrices de colonies (UFC).

### 5.2. Analyse chimique

Il existe des galeries d'identification biochimiques mais leur emploi n'est pas courant, citons l'exemple des tests Biolog<sup>TM</sup> utilisables pour de nombreux micro-organismes dont les moisissures (Guiraud & Rosec, 2004). L'identification des micro-organismes par le système Biolog est réalisée grâce à un lecteur de plaques automatique jumelé à une banque de données informatique contenant le profil de la bactérie ou la moisissure de référence (Breton *et al.*, 2014). La technologie Biolog<sup>TM</sup> utilise des microplaques 96 puits prêts à l'emploi avec 95 substrats de 6 à 8 classes différentes pour une meilleure discrimination. La capacité d'un isolat à métaboliser chaque substrat est mesurée par la présence ou l'absence d'une coloration rouge pour les champignons filamenteux (Diguta, 2010). Elles s'accompagnent souvent d'observations macroscopiques et microscopiques, mais elles ne sont pas fiables et nécessitent une confirmation d'identification par séquençage.

### 5.3. Analyse moléculaire

La mise en œuvre de techniques d'identification moléculaire par séquençage de gènes de référence se révèle utile, soit pour confirmer certaines identifications difficiles, soit d'emblée pour permettre une identification d'un isolat sans diagnostic microscopique au préalable. Dans ce cas, le diagnostic moléculaire doit être confronté aux caractéristiques morphologiques et physiologiques (Reboux *et al.*, 2006).

Les techniques moléculaires ne peuvent pas être appliquées en routine à un grand nombre d'isolats fongiques pour des contraintes économiques et de temps. Elles ne sont mises

en œuvre que dans des cas précis où il est nécessaire d'obtenir une identification non équivoque (Reboux *et al.*, 2006).

## 6. Rôle des moisissures

Sur le plan économique on peut distinguer deux groupes de moisissures, celles qui sont utiles, utilisées dans l'industrie pour conférer aux produits des propriétés organoleptiques et technologiques, d'autres nuisibles et toxigènes qui peuvent se développer sur différents substrats et y produire, dans certaines conditions de températures et d'humidité, des molécules toxiques dénommées mycotoxines (Boudra, 2009).

### 6.1. Actions bénéfiques des moisissures

#### 6.1.1. Rôle dans l'industrie alimentaire

Les moisissures sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytiques, protéolytiques, etc...) qui en font des agents de dégradation dangereux mais parfois des agents technologiques utilisés dans l'affinage des fromages et dans la production d'enzymes (Guiraud, 1998 ; Guiraud & Rosec, 2004). Selon Webster & Weber (2009), les *Aspergillus* et les *Penicillium* jouent un rôle primordial en biotechnologie grâce à leur aptitude à produire de grandes quantités d'enzymes extracellulaires tels que les protéases, amylases, lipases et pectinases utilisés dans de nombreux processus industriels y compris la fabrication de produits de boulangerie, les produits laitiers, les jus et dans l'industrie de l'amidon.

On note leur rôle utile dans la fabrication de nombreux aliments. Ainsi, des souches sélectionnées de moisissures sont utilisées dans la fabrication du Roquefort (*Penicillium roquefortii*) ou du Camembert (*Penicillium camembertii*) (Delarras, 2007). En outre, d'autres souches appartenant au genre *Aspergillus* interviennent dans la production des sauces de soja dont la matière première est un mélange de grains de soja et de blé, la dégradation de ce substrat est appelée le processus de Koji et consiste l'un des meilleurs exemples pour la fermentation d'un substrat solide où l'on utilise les deux espèces *A.oryzae* et *A.sojae* (Webster & Weber, 2009).

#### 6.1.2. Rôle dans l'industrie pharmaceutique

Certaines moisissures sont utilisées pour la production d'antibiotiques telle que la découverte de l'activité antibiotique très importante de la pénicilline (Filtenborg *et al.*, 1996) contre les bactéries à gram-négatif, produite naturellement par l'espèce *Penicillium notatum*

(Webster & Weber, 2009). Selon Boutibonnes *et al.* (1984), les toxines secrétées par quelques moisissures s'accompagnent également d'un pouvoir antibactérien qui s'exprime préférentiellement sur des espèces du genre *Bacillus*.

### 6.1.3. Rôle phytosanitaire

Les champignons entomopathogènes sont bien connus d'être efficaces dans la lutte contre les insectes. Une étude récente de Seye *et al.* (2014) a mis en évidence, pour la première fois, l'effet pathogène de deux moisissures à savoir *Aspergillus flavus* et *A. clavatus* contre le puceron de la fève *Acyrtosiphon pisum* (Harris) et suggère leur utilisation comme agents de lutte biologique contre les aphides.

## 6.2. Actions néfastes des moisissures

### 6.2.1. Déviations organoleptiques

Les moisissures sont des agents actifs de dégradation de nombreux produits alimentaires, provoquant des changements d'aspect et des altérations organoleptiques (Anonyme, 2004 ; Anonyme, 2012). De ce fait, elles constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale des produits d'origine végétale notamment le blé (Guiraud & Rosec, 2004). Leur développement sur celui-ci peut générer des odeurs de moisi qui se retrouvent ensuite dans le pain et une modification des propriétés plastiques des pâtes (Portelli *et al.*, 1999).

### 6.2.2. Production des mycotoxines

Du grec (*mycos* = champignon) et du latin (*toxinum* = poison), le terme « mycotoxine » désigne des substances chimiques produites par des moisissures dotées génétiquement d'un pouvoir toxigène se développant sur des denrées alimentaires brutes ou transformées surtout celles d'origine végétales (Bourais & Amin, 2006 ; Reboux, 2006). Par ailleurs, certaines mycotoxines peuvent être retrouvées dans la viande et le lait des animaux consommateurs d'aliments déjà contaminés ou moisiss (Brochard & Le Bâcle, 2011).

Les mycotoxines sont les produits du métabolisme secondaire des moisissures (Moreau, 1996), c'est à dire qu'elles ne sont pas indispensables à la vie, au développement et à la pérennité de la moisissure qui les produit (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). Cependant, Optis *et al.* (2012) rapportent que plusieurs moisissures peuvent les utiliser dans le processus de la dégradation de la matière organique tout comme les enzymes. Elles sont généralement

produites par 5 principaux types de champignons, à savoir *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria* (Miller & Trenholm 1994 in Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Il existe environ 2500 mycotoxines répertoriées, les plus rencontrées en agro-alimentaire constituent les ochratoxines, les fumonisines, les trichotécènes et les aflatoxines. Ces dernières sont les plus redoutables toxines dans les céréales et les fruits secs (Barett, 2000 ; Bourais & Amin, 2006). Selon Terzi *et al.* (2014), on dénombre au minimum 30 mycotoxines extrêmement toxiques. Ces dernières présentent quatre modes de toxicité : aiguë, chronique, mutagénique et tératogénique (Reboux, 2006).

#### **a. Les aflatoxines**

Les plus connues des mycotoxines sont les *aflatoxines* (AF) produites par des *Aspergillii* notamment *A.flavus*, *A.parasiticus* (Moreau, 1996 ; Pfohl-Leszkowicz, 2009) et *A.nomius* (Aydin *et al.*, 2009 ; Pitt, 2013). Elles sont produites lors de conditions de stockage défectueuses (Zelvelder *et al.*, 2007). La production d'aflatoxines se manifeste à des activités de l'eau ( $a_w$ ) élevées de 0.93 à 0.98, ce qui signifie que l'humidité excessive des grains favorise leur production surtout si la température est supérieure à 13°C (Galinas, 1995). Il existe quatre types d'aflatoxines : B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> qui sont des furanocoumarines (Pfohl-Leszkowicz, 2009). Elles sont rencontrées sur les végétaux moisissés comme les graines sèches. Ces toxines donnent des troubles aigus ou chroniques pouvant déboucher sur des cancers (Guiraud, 1998).

#### **b. Les ochratoxines**

Elles sont produites par certaines espèces de *Penicillium* et d'*Aspergillus* sous les climats tempérés et froids, les céréales et les produits dérivés constituent leurs principaux vecteurs (Zelvelder *et al.*, 2007). Ce sont des mycotoxines révélatrices de mauvaises conditions de conservation et produites principalement par *Aspergillus ochraceus* en climat assez chaud et par *Penicillium viridicatum* en climat froid (Cahagnier *et al.*, 2001) ainsi que par l'espèce *Penicillium verrucosum* dans les climats tempérés (Sweeney & Dobson, 1998) et l'espèce *Fusarium irridicatum* (Guiraud, 1998). La plus dangereuse est l'ochratoxine A (Moreau, 1996).

**c. Les trichothécènes**

Plus de 75 mycotoxines sont groupées sous ce nom, elles sont surtout produites par des *Fusarium* mais aussi par des champignons forts variés tels que des *Stachybotrys*, *Trichothecium*, *Myrothecium*, *Dendrodochium*, etc.... (Moreau, 1996). Certaines de ces toxines sont dotées d'une forte activité immuno suppressive (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005).

**d. Les fumonisines**

Elles constituent un groupe de mycotoxines récemment caractérisées produites chez quelques espèces de *Fusarium* (Zelvelder *et al.*, 2007). Elles sont surtout élaborées par l'espèce *Fusarium verticillioides* commune sur le maïs, le sorgho au champ et divers autres substrats (Moreau, 1996), surtout lors de températures estivales élevées (Brochard et Le Bâcle, 2011). Elles sont produites uniquement durant la période de développement du champignon sur la plante et les semences (Pitt, 2013).

**e. La zéaralénone**

Elle est produite généralement par l'espèce *Fusarium graminearum* (Proctor, 1995). La présence de cette mycotoxine dans le maïs a causé chez les animaux de ferme des attaques d'hyperoestrogénie (Barett, 2000), caractérisée par le gonflement de la vulve et des mamelles ainsi que l'hypertrophie de l'utérus et la stérilité (Proctor, 1995).



# **Les huiles essentielles**

## 1. Généralités

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. Les extraits des plantes étaient déjà connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs pour leurs propriétés odorantes, médicinales et antimicrobiennes (Fellah *et al.*, 2006). Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction d'huiles essentielles (HE) contenue dans ces plantes.

La première HE, celle de la rose, aurait été extraite par le plus grand médecin arabe du Moyen-Âge, Avicenne, qui fut le premier à mettre au point le fonctionnement de l'alambic suite à des enseignements perses (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin suisse Paracelsus von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Caillet & Lacroix, 2007). Selon Smadja (2009), le terme « Huile » désigne le caractère visqueux et hydrophobe, « Essentielle » le caractère principal et typique de la fragrance, c'est un extrait naturel obtenu par entraînement à la vapeur d'eau d'un végétal. Selon Lamendin *et al.* (2004), Les HE sont des assemblages de molécules ayant chacune leurs propriétés particulières. Elles constituent les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes (Lardry & Haberkorn, 2007 ; Negi 2012). Ces substances odorantes concentrées sont composées de molécules ayant une activité olfactive et à forte valeur ajoutée obtenues à partir de plantes (Billerbeck *et al.*, 2002 ; Fellah *et al.*, 2006).

La plupart des végétaux supérieurs renferment des huiles essentielles, mais habituellement en quantités infimes. Seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantités suffisantes (Lardry & Haberkorn, 2007). Environ 17 500 espèces aromatiques appartenant à un nombre limité de familles dont notamment les *Myrtaceae*, les *Lauraceae*, les *Lamiaceae* et les *Asteraceae* (Regnault-Roger *et al.*, 2005). Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont bien 300 sont réellement commercialisées destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (Böhme *et al.*, 2014 ; Devi *et al.*, 2015).

## 2. Propriétés physiques

Les HE se distinguent des autres huiles végétales ou dites « fixes » par leur volatilité, ce qui explique leur caractère odorant et ainsi leur mode d'obtention par entraînement à la vapeur d'eau (Regnault-Roger *et al.*, 2005 ; Benayad, 2008 ; Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

Le terme « volatil » implique qu'ils ont une masse moléculaire suffisamment faible pour se vaporiser à température ambiante, ceci est principalement dû à la proportion élevée en constituants d'origine alcoolique (Devi *et al.*, 2015). Grâce à cette propriété, ces essences végétales, diffusent rapidement à travers les épidermes, même à travers des cuticules épaisses et se répandent dans l'atmosphère. Ce caractère est associé à l'odeur très prononcée et souvent agréable (Benayad, 2008). Elles sont généralement incolores, ou très rarement colorées (Bruneton, 2009), non grasses et sont plutôt insolubles dans l'eau, mais solubles dans l'alcool et les huiles végétales (Jocteur, 2007 ; Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides hormis quelques cas particuliers ou elles sont plutôt visqueuses ou cristallisées (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

## 3. Composition chimique

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe (Jocteur, 2007 ; Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). Le terme « complexe » indique que ces huiles sont des mélanges de nombreux constituants à proportions très différentes (Cruz Cabral *et al.*, 2013).

Ce sont des mixtures naturelles d'hydrocarbures et d'oxygène (alcools, aldéhydes, cétones, carboxyles, acides, esters et lactones) (Shirzad *et al.*, 2011). Elles sont susceptibles de s'oxyder rapidement, donc leur composition peut évoluer après extraction selon leur condition de stockage (Vigan, 2009). Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamentale, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

La plupart des huiles essentielles sont constitués de 20 à 60 composés, dans de nombreux cas, un petit nombre de ces composés (1 à 5) sont majoritaires et représentent de 70 à 90% du mélange (Böhme *et al.*, 2014). Elles ne contiennent ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne renferment pas de minéraux ni de vitamines, elles n'ont donc aucune valeur nutritionnelle (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013), leurs constituants moléculaires

appartiennent exclusivement à deux familles chimiques : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

### 3.1. Les composés terpéniques

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpénoïdes ou terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques. Seuls les monoterpènes en C<sub>10</sub> et les sesquiterpènes en C<sub>15</sub> peuvent être extraits par distillation contrairement aux autres terpènes (diterpènes en C<sub>20</sub> et triterpènes en C<sub>30</sub>) (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). Ces derniers sont de formule générale (C<sub>5</sub> H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> (Mohammedi & Atik, 2006).

Ils sont classés selon :

- ✓ Leur fonction : Alcools, aldéhyde, ester, etc....
- ✓ Leur structure : Linéaire, monocycliques, bicyclique ou tricyclique.

#### 3.1.1. Les monoterpènes

Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (Bruneton, 2009) et sont surtout présents chez les Conifères (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). Les monoterpènes sont issus de la condensation de l'isopentényle pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP), si la condensation s'effectue entre 2 molécules DMAPP, on parlera de monoterpènes irréguliers par opposition à ceux dits réguliers obtenus par condensation entre l'IPP et le DMAPP (Bruneton, 1999 *in* Regnault-Roger *et al.*, 2005). Ils ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs arômes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle des insectes phytophages et sont considérés comme des composés anti-infectieux ; bactéricides, virucides et fongicides (Regnault-Roger *et al.*, 2005 ; Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

#### 3.1.2. Les sesquiterpènes

Ils sont issus de l'élongation des monoterpènes avec de l'isopentényle pyrophosphate (IPP) (Bruneton, 1999 *in* Regnault-Roger *et al.*, 2005). Les sesquiterpènes et lactones sesquiterpéniques représentent un groupe numériquement important impliqué dans la défense des plantes et peuvent être synthétisés en réponse d'un éliciteur fongique (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

### 3.2. Composés aromatiques

Dérivés du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>), ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et les sesquiterpènes (Bruneton, 2009 ; Couic-Marinier & Lobsteine, 2013). Ils appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : hydrocarbures, alcools, aldéhydes (Billerbeck *et al.*, 2002).

### 3.3. Notion du chémotype

Il est également appelé type ou race chimique de la plante, indique le composant biochimique majoritaire et distinctif présent dans l'huile essentielle. Cet élément permet de distinguer les huiles essentielles extraites d'une même espèce ou variété botanique, ce dernier est repéré grâce à une analyse chromatographique et spectrométrique (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

## 4. Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles dans la plante

Selon Vigan (2009), si la plante est douée d'un équipement enzymatique qui lui permet de produire une substance odorante, elle n'est pas équipée de la même manière de ses sommités florales à ses racines. En effet, une plante peut donner des huiles essentielles de composition chimique très différente en fonction des organes dont elle est issue (Roux-Sitruk *et al.*, 2008).

Ceci dit, les huiles essentielles sont extraites soit des feuilles, des fleurs, des graines, des écorces, des racines, des bois, des rhizomes, des fruits secs, ou d'autres structures spécialisées (Desmares *et al.*, 2008). Leur qualité dépend d'un grand nombre de paramètres d'origines différentes tels que l'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques (Merghache *et al.*, 2009). Elles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (Lardry & Haberkorn, 2007).

Les huiles essentielles ont certainement un rôle dans la plante : il s'agit d'une sécrétion en réaction à l'environnement qui induit une augmentation de la biosynthèse de certains composants pour protéger la plante contre les prédateurs (insectes, champignons) ou en favoriser la fécondation en attirant certains insectes pollinisateurs (Vigan, 2009 ; Bruneton, 2009).

## 5. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les matières premières végétales utilisées pour obtenir les huiles essentielles sont des plantes ou parties de plantes qui sont à divers états de siccité (forme sèche, flétrie, fraîche) (Desmares *et al.*, 2008). Cependant, de nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction des substances aromatiques contenues dans ces matières premières. Cette opération est des plus difficiles et délicates puisqu'elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal et cela, sans en altérer la qualité (Lardry & Haberkorn, 2007).

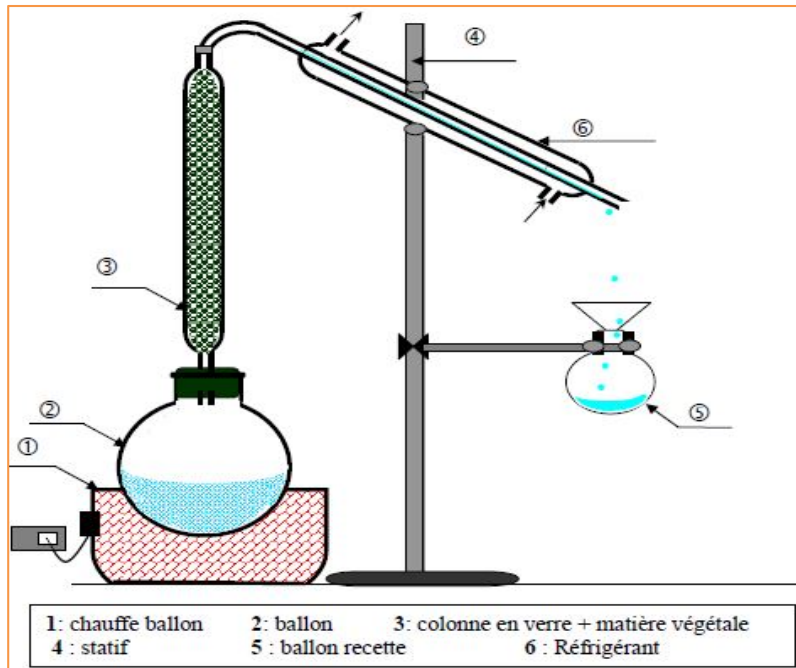
Le choix de la technique dépend principalement de l'état originel et la nature de la matière première. Cette dernière conditionne le profil chimique et les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier la viscosité, la couleur, la solubilité, la volatilité, l'enrichissement ou l'appauvrissement en certains constituants ainsi que son utilisation (Desmares *et al.*, 2008).

### 5.1. La distillation à la vapeur d'eau

C'est le procédé le plus couramment utilisé pour extraire les huiles essentielles contenues dans une plante (Lardry & Haberkorn, 2007). C'est une méthode ancienne et très répandue, elle est simple dans son principe et utilise un équipement peu coûteux, elle se présente sous trois variantes : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrotistillation et l'hydrodiffusion (Silou *et al.*, 2004).

#### 5.1. 1. L'entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique (Fig. 7), ne met pas en contact directe l'eau et la matière végétale à traiter, durant le passage de la vapeur à travers le matériel ; les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » (Lucchesi, 2005). La vapeur d'eau, qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle, se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant, à la sortie de ce dernier, le mélange est récupéré ensuite séparé (Saidj, 2007 ; Roux-Sitruk *et al.*, 2008).



**Figure 7.** Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par entrainement à la vapeur d'eau

(D'après [Saidj, 2007](#))

### 5.1.2. L'hydrodistillation

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité ([Bruneton, 2009](#)).

### 5.1.3. L'hydrodiffusion

Elle est appelée aussi percolation, dans cette technique, la matière végétale est en contact avec la vapeur d'eau. Elle consiste à pulser cette dernière à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celles des produits obtenues par les méthodes précédentes mais elle permet un gain de temps et d'énergie ([Bruneton, 2009](#)).

## 5.2. L'expression à froid

Les huiles essentielles sont aussi obtenues par expression à froid dans le cas particulier des agrumes (*Citrus* spp), on parle alors d'essence et non pas d'huile essentielle ([Couic-Marinier & Lobsteine, 2013](#)). Elle constitue le plus simple des procédés et consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin d'en libérer l'essence. Cette

technique uniquement mécanique limite l'oxydation car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile de l'essence (Roux-Sitruk *et al.*, 2008).

### 5.3. L'extraction par solvants

Cette technique est utilisée pour les plantes fragiles qui sont plongées dans une préparation chimique provoquant la dissolution des substances aromatiques (Lardry & Haberkorn, 2007). Après séparation du solvant par distillation, on obtient un produit cireux qui doit être dissout avec de l'alcool. Les solvants les plus utilisés sont : l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'hexane et le dichlorométhane. La qualité des extraits et surtout leur composition dépendront de la nature du solvant et en particulier de sa polarité (Richard *et al.*, 1992).

## 6. Conditions de conservation et stockage des HE

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles implique des précautions particulières pour leur conservation. En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses, ces dernières, peuvent modifier les propriétés de l'huile essentielle. Il convient donc de les éviter par l'utilisation des flacons propres, secs et opaques en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis, fermés de façon étanche et stockés à l'abri de la chaleur et de la lumière (Bruneton, 2009). Ils doivent être fermés soigneusement après chaque usage. La durée de conservation des huiles essentielles est de 5 ans et celles des essences extraites de zestes d'agrumes, de 3 ans (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

## 7. Les différentes activités biologiques des HE

Les huiles essentielles, par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (Hilan *et al.*, 2006). Leur activité biologique dépend des caractéristiques qualitatives et quantitatives de ses composants qui sont à leur tour influencés par le génotype de la plante, le chémotype de l'huile essentielle ainsi que l'organe et la méthode d'extraction, la saison, l'origine géographique de la plante et ses conditions bioclimatiques et agronomiques (Shirzad *et al.*, 2011). L'activité antimicrobienne est également liée aux effets synergétiques de ces composants chimiques (Caillet & Lacroix, 2007). Cette synergie explique la polyvalence des huiles essentielles et la largeur de leur spectre d'action (Lardry & Haberkorn, 2007), puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance



des moisissures que celles des bactéries et des levures (Billerbeck *et al.*, 2002 ; Ouraïni *et al.*, 2005 ; Negi, 2012).

### 7.1. Activité antifongique

La grande diversité des composants des huiles essentielles leur confère l'avantage d'avoir différents modes d'action sur plusieurs genres de champignons et empêche ainsi l'apparition du phénomène de résistance par le pathogène (Cruz Cabral *et al.*, 2013). Ces dernières années, les huiles essentielles de plusieurs plantes sont étudiées pour leurs propriétés antifongiques, à la fois contre les champignons pathogènes causant mycoses et maladies infectieuses (Nguefack *et al.*, 2004 ; Saleh *et al.*, 2006 ; Giordani et Kaloustian , 2006 ; Shirzad *et al.*, 2011 ; Passone *et al.*, 2012 ; Pérez-Alfonso *et al.*, 2012 ; Mahmoudvand *et al.*, 2014) et ceux causant la détérioration des aliments et la production de mycotoxines (Satrani *et al.*, 2004 ; Tatsadjieu *et al.*, 2009 ; Pandey *et al.*, 2014).

Plusieurs travaux ont étudié le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons. Ainsi, selon Giordani & Kaloustian (2006), l'action antifongique des huiles essentielles s'explique par une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort du champignon. En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des champignons. D'autre part, Sharma & Tripathi (2006), ont étudié le mode d'action de l'huile essentielle de *Citrus cinensis* qui a été décrite par sa richesse en limonene (84.2%) sur *Aspergillus niger* et rapportent des altérations morphologiques au niveau du mycélium qui apparaît sévèrement détruit, ceci est due à l'absence du cytoplasme. Ces changements peuvent être en rapport avec l'interférence des composants de l'huile essentielle avec les réactions enzymatiques de la proie ce qui affecte la morphologie du champignon et sa croissance. Le mécanisme fongicide peut engendrer la destruction du mycélium existant ainsi que l'inhibition de la formation du nouveau mycélium (Böhme *et al.*, 2014).

En outre, il a été montré que les huiles essentielles sont capables d'inhiber la germination des spores. Une terpénoïde nommée le chamazulène, composé majeur de l'huile essentielle de l'Achillée millefeuille (*Achillea millefolium*), constituant ainsi 42.2% de la totalité de l'huile, exerce des effets génotoxiques contre les cellules fongiques et empêche le développement des spores (Sant'Anna *et al.* 2009 in Böhme *et al.*, 2014), dans le même

contexte, l'étude de [Ljaljević Grbić et al. \(2011\)](#) montre la grande capacité de l'huile essentielle de *Nepeta rтанjensis* à inhiber la germination des spores de quatre champignons différents et suggèrent son utilisation comme fongicide. Par ailleurs, l'huile essentielle de citronnelle a montré, quand à elle des effets fongistatiques ou inhibiteurs de croissance des champignons de détérioration des aliments de stockage ([Mahilrajan et al., 2014](#)).

Parmi les activités antifongiques, les effets anti-aflatoxigeniques de quelques huiles essentielles méritent une attention particulière ([Tatsadjieu et al., 2009](#) ; [Sumalan et al., 2013](#)). Ainsi [Razzaghi-Abyaneh et al. \(2009\)](#) in [Chizzola, \(2013\)](#), rapportent que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* et *Citrus aurantifolia* inhibent la production des aflatoxines et la croissance d'*Aspergillus parasiticus*, tandis que celle de *Carum carvi* inhibe uniquement la production des aflatoxines de cette moisissures.

## 7.2. Activité antimicrobienne

Les effets antimicrobiens des huiles essentielles sont suffisamment documentés et leur utilisation comme « microbiocide » est devenue une véritable alternative à l'utilisation des antibiotiques et antimicrobiens synthétiques ou hémi-synthétiques ([Aouni et al., 2013](#)) et ce, grâce à la nature chimique de leurs constituants ([Cheurfa et al., 2013](#)). De ce fait, [Kaloustian et al. \(2008\)](#) ont étudié la composition chimique et l'activité antibactérienne de six huiles essentielles à savoir celle de l'origan, la lavande, le romarin et le thym. Ils ont constaté que seuls l'origan et le thym présentent la meilleur activité antibactérienne vis-à-vis des souches *Escherichia coli* (bactérie à Gram négative) et *Staphylococcus aureus* (bactérie Gram positif), et rapportent que ceci est dû principalement aux phénols (thymol et carvacrol) responsables du caractère antibactérien.

Selon [Sanchez-Gonzalez et al. \(2010\)](#), même si le mécanisme de l'action des huiles essentielles n'est pas encore élucidé, il paraît que leur activité antimicrobienne est principalement due à leur caractère hydrophobe. Par conséquent, [Terzi et al. \(2007\)](#) rapportent que les terpènes qui sont les composés majeurs des huiles essentielles ont la capacité de perturber et de pénétrer la structure lipidique de la bactérie menant à la dénaturation des protéines et à la destruction de la membrane cellulaire.

L'activité antibactérienne peut être soit bactériostatique (inhibition de la croissance bactérienne), ou bien bactéricide (destruction des cellules bactériennes), cependant la

différenciation entre ces deux actions s'avère difficile. Cette dernière est mesurée par la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Böhme *et al.*, 2014).

Des travaux de recherche ont été menés pour étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans le domaine pharmaceutique (Aouni *et al.*, 2013 ; Boukssaim *et al.*, 2013 ; Khadir *et al.*, 2013 ; Cheurfa *et al.*, 2013) ainsi que dans le domaine de la microbiologie alimentaire (Lis-Balchin & Deans, 1997).

Dans le domaine phytosanitaire, l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles s'est révélée également intéressante (Mikicinski *et al.*, 2012 ; Satrani *et al.*, 2008). On note qu'en général, les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à l'inhibition des huiles essentielles que les bactéries Gram-négatives (Smith-Palmer *et al.*, 1998 ; Burt, 2004).

### **7.3. Antiseptique**

L'usage de la plupart de ces huiles repose sur leurs propriétés antiseptiques vis-à-vis des microorganismes pathogènes (Roux-Sitruk *et al.*, 2008). Plusieurs composés sont cités comme responsables des propriétés antiseptiques des huiles essentielles : le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde et l'eugénol (Richard, 2008). L'effet des composants antimicrobiens contenus dans les HE dépend du pH de l'aliment, le type et le nombre des microorganismes contaminants ainsi que le type et la concentration du composant antimicrobien (Negi, 2012).

### **7.4. Activité antioxydante**

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt. Par conséquent, d'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles (Richard, 2008). De nombreux composés responsables du pouvoir antioxydant ont été identifiés, ce sont surtout des phénols et polyphénols (Richard, 2008). Ces composés phénoliques, comme le thymol, la carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HE présentant les plus fortes activités antioxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (Gabriel *et al.*, 2013).

## 8. Utilisation des huiles essentielles

### 8.1. Dans le secteur phytosanitaire

Le recours à des molécules naturelles aux propriétés insecticides ou insectifuges, de moindre toxicité pour l'homme se révèle être une démarche alternative à l'emploi des insecticides de synthèse (Tchoumboungang *et al.*, 2009 ; Ebadollahi *et al.*, 2013). L'activité insecticide de plusieurs huiles essentielles, poudres et d'autres extraits de plantes ont été évalués contre différents ravageurs des céréales et des légumes (Yazdani *et al.*, 2014). L'activité biologique des HE sur les insectes phytophages s'exerce à plusieurs niveaux et limite le renouvellement des générations (Regnault-Roger *et al.*, 2008). Il a été démontré que de nombreux constituants terpénoïdes d'huiles essentielles sont toxiques au contact pour un large éventail d'insectes et peuvent être utilisés comme insecticides végétales (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Les monoterpènes « réguliers » qui sont abondants dans la plupart des HE dont ceux des *Lamiaceae*, sont bien connus pour leur activité insecticide et inhibitrice de la reproduction des insectes ainsi que les sesquiterpènes qui jouent également un rôle dans les relations interspécifiques comme anti-appétents ou comme répulsifs ou toxiques pour ceux-ci. (Regnault-Roger *et al.*, 2005). En outre, selon Ngamo et Hance (2007), les huiles essentielles sont de nos jours connues comme des neurotoxines à effet aigüe interférant avec les neurotransmetteurs octopaminergiques qui sont uniques aux arthropodes, elles sont donc très toxiques pour les insectes et peu toxiques pour les animaux à sang chaud. Cruz Cabral *et al.* (2013) avancent que les huiles essentielles ont l'avantage d'être bioactives même en étant vaporisées, de ce fait, de nombreux travaux font référence à leur utilisation comme insecticides de contact et fumigants pour la protection des denrées stockées contre les insectes ravageurs (Isman, 2000 ; Varma & Dubey, 2001 ; Derbalah & Ibrahim Ahmed, 2011 ; Boughdad *et al.*, 2011 ; Abd-Elhady 2012 ; Kailash & Bhanwar, 2013). En Algérie, Khalfi *et al.* (2009), rapportent que les huiles essentielles de trois plantes Algériennes à savoir *Juniperus phoenicea*, *Schinus molle* et *Artemisia herba alba* manifestent une toxicité et une répulsion élevée à l'égard du capucin des grains *Rhyzoperta dominica*. Plus récemment, l'étude de Righi *et al.* (2014), a montré également l'effet des huiles essentielles de trois plantes médicinales Algériennes, à savoir *Salvia verbenaca*, *Scilla maritima* et *Artemisia herba alba* contre la bruche chinoise du pois chiche *Callosobruchus chinensis* et rapportent que ces huiles jouent le rôle d'un vrai insecticide organique notamment celle de l'armoise et elles peuvent être utilisées contre ce ravageur dans les denrées stockées.

## **8.2. Dans l'industrie agroalimentaire**

La méthode de conservation des aliments est un paramètre très recherché par le consommateur (Ouelhadj *et al.*, 2006). Des études faites à travers le monde, portées sur l'efficacité des différents extraits obtenus de la plante sur certains agents d'altération ont montré le grand intérêt des huiles essentielles dans la conservation des aliments et que ces dernières peuvent être ajoutés à peu près à tous les aliments (Ouelhadj *et al.*, 2006). Toutefois, quelques limites existent à leur utilisation comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines d'entre elles, donc l'emploi des huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt : aromatisant, antioxydant et antimicrobien (Caillet & Lacroix, 2007). Par conséquent, les HE sont considérés comme des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire.

## **8.3. En pharmacie**

Les huiles essentielles présentent des activités pharmacologiques et cliniques comparables à celles d'un médicament allopathique, elles sont utilisées en aromathérapie, ce terme vient du grec « aroma » qui signifie odeur et « therapia », qui signifie soin. Il s'agit donc d'une méthode de soin naturel par les odeurs (Couic-Marinier & Lobsteine, 2013).

## **8.4. En parfumerie et cosmétologie**

Les huiles essentielles sont utilisées depuis des siècles en cosmétologie (Desmares *et al.*, 2008). Leur utilisation ancestrale dans ce domaine repose sur leurs propriétés olfactives qui en font des parfums de choix (Roux-Sitruk *et al.*, 2008). Mais quand la notion du bio et de naturalité est en pleine progression, on peut parfaitement imaginer l'utilisation de ses huiles essentielles, composés naturels et bio dans les produits cosmétiques en tant qu'antiseptiques et/ou d'antioxydants (Kaloustian *et al.*, 2008).

## **8.5. Dans l'industrie chimique**

Les propriétés chirales de certains composés naturels odorants en font des précurseurs de choix de la chimie fine et peuvent être utilisées dans la fabrication des produits d'hémisynthèse (Regnault-Roger *et al.*, 2008).

# **Matériels et méthodes**

## 1. Matériel végétale

### 1.1. Variétés de blé échantillonnées

Les échantillons de blé dur (Vitron, Ofanto, Simeto, Chen S, Mexicali, Boussalem) et de blé tendre (Anza, Ain Abid, Arz), ont été prélevés le 4/12/2013 au niveau de la CCLS de Khemis-miliana, d'une capacité de stockage de 90.000 quintaux (Foughali, 1987). Un poids de 200 g de chaque variété de blé a été prélevé par sonde manuelle on l'enfonçant en diagonale dans la masse de grains contenus dans les sacs et ce, dans plusieurs point préalablement ciblés sur le lot et qui doivent être répartis régulièrement sur la surface totale de la pile, ensuite mis dans un sachet propre et amené au laboratoire pour être analysé.

#### 1.1.1. Méthode d'échantillonnage

Selon [Moulinier & Brette \(1999\)](#), un échantillonnage est l'ensemble des opérations qui consiste à passer du lot initial à un échantillon analysé au laboratoire. Il consiste à prélever une quantité de grains représentative, c'est-à-dire ayant la même composition biochimique, physique et les mêmes propriétés du lot dont elle est issue ([Berhaut et al., 2003](#)). D'après [Gwimer et al. \(1996\)](#), un seul échantillon ne représente qu'une partie infime d'un lot, ce qui veut dire que le prélèvement d'échantillons doit être effectué selon certaines règles si l'on veut obtenir une moyenne qui soit représentative de l'ensemble du lot considéré, pour s'assurer de cela il faut :

- ✓ Prélever un nombre suffisant d'échantillons unitaires.
- ✓ Répartir régulièrement les endroits de prélèvement sur l'ensemble du lot.
- ✓ Rassembler les échantillons unitaires pour former un échantillon mixte.
- ✓ L'échantillon mixte sera transformé en sous échantillon, lequel fera l'objet d'un examen au laboratoire.

## 1.2. Présentation des espèces végétales étudiées

### 1.2.1. L'espèce *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr.

#### 1.2.1.1. Propriétés

Selon [Quezel & Santa \(1963\)](#), la Nûnkha ou Ajowan est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Apiaceae et au genre *Ammoides* ou *Ptychotis* (Koch)

ou bien *Trachyspermum* (Boss.). En Algérie, ce genre est représenté par 2 espèces ; *Ammoides atlantica* et *Ammoides pusilla*. Par ailleurs, il est à noter que cette dernière est connue sous d'autres noms ; *Trachyspermum ammi* (Linn.) et *Ammoides verticillata*. C'est une plante odorante qui pousse spontanément dans le Nord de l'Afrique ainsi qu'au Nord d'Asie. Cependant, les principaux cultivateurs sont l'Inde et la Perse.

La Nûnkha est utilisée aussi bien pour des fins culinaires que thérapeutiques. C'est une plantes aux effets antispasmodique, laxatifs, diurétiques, anti-inflammatoires (Felidj *et al.*, 2010). Elle est utilisée sous forme d'infusions pour le traitement des maux de tête, la fièvre, la grippe et la diarrhée (Kambouche *et al.*, 1998). Elle peut également servir comme condiment culinaire en tant qu'additif aromatisant dans quelques aliments et comme conservateurs dans les boissons (Bekhichi *et al.*, 2010).

#### 1.2.2.2. Description botanique

Ajowan est une plante herbacée annuelle grêle à souche filiforme, à tiges très ramifiées de 30 à 70 cm de haut, les feuilles sont radicales et les fleurs blanches en forme d'ombelles, les petites graines brunâtres sont ovoïdes lorsqu'elles sont mûres, au goût amer (Bekhichi *et al.*, 2010). Elle connaît un cycle dynamique tardif allant de mai à juillet (Felidj *et al.*, 2010).(Photo 8)



**Photo.8** Parties aériennes d'*Ammoides pusilla*([www.actaplantarum.org](http://www.actaplantarum.org))

#### 1.2.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle

Selon Bekhichi *et al.* (2010), l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* est riche en Thymol (51.1%), p-cymène (16.4%) et limonène (14.1%). Benalla (1999) rapporte que la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* analysée par chromatographie sur couche mince CCM et la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GS-MS) a permis d'identifier dix composés dont les majeurs composés sont le Thymol, D-limonène, gamma-terpinène, m-cymène, représentant 91.86% de l'huile essentielle.



## 1.2.2. L'espèce *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière

### 1.2.2.1. Propriétés

C'est un arbre montagnard originaire de la région méditerranéenne, il couvre une superficie de plus de 130.000 ha au Maroc et 29 000 ha en Algérie où l'en trouve notamment dans les forêts des Aurès, Belezma, Hodna, Djbel Babor, Djurdjura, Blida et Ouarsenis (Linares *et al.*, 2011). Le cèdre de l'atlas est un conifère à croissance rapide, il se rencontre dans les altitudes allant de 1 300 à 2 600 m, où la quantité de la pluviométrie annuelle varie entre 500 et 2000 mm et la température minimale du mois le plus froid varie entre -1 à -8 °C (Binabid, 1994 *in* Linares *et al.*, 2011).

Cette espèce possède une haute qualité du bois qui est utilisé dans les industries de la construction et de l'artisanat (Derwish *et al.*, 2010). Selon Bardeau (2009), l'huile essentielle est un bon antiseptique urinaire et pulmonaire, elle donne de bons résultats dans le traitement des bronchites chroniques. On lui prête des propriétés stimulantes comme tonique. Elle a un pouvoir bactériostatique par diffusion en gélose actif sur *E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.2.2.2. Description botanique

Le cèdre atteint une hauteur de 40 m, d'un port pyramidal, son écorce est grise et de structure lisse à l'état juvénile, puis constituée de petites écailles et de crevasses sinueuses. Ses feuilles en aiguilles persistantes sont vertes, d'environ 2 cm de long, de forme linéaire, raides et pointues à section carrée ; les aiguilles sont groupées en rosette sur les rameaux courts et isolées sur les rameaux longs. Les fleurs en inflorescence unisexuées sont groupées sous forme de chatons, mâles jaunâtres et femelles vertes foncées et le cône est ovoïde, généralement aplati au sommet (Anonyme, 2015). (Photos 9-10)



Photo.9 Arbre du Cèdre de l'atlas (originale)



Photo.10 Aiguilles, rameau et cône du Cèdre de l'atlas (originale)

### 1.2.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle

Selon Bardeau (2009), l'huile essentielle du cèdre renferme des hydrocarbures terpéniques, du cédrol (cristallise à l'état pur) et des sesquiterpènes, en particulier du cadinène. Satrani *et al.* (2005) ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle des sciures du bois du cèdre par hydrodistillation et rapportent qu'elle est composée de 23 constituants à savoir la E- $\alpha$ -atlantone (28,75%), le  $\beta$ -himachalène (14,62%), l'himachalol (7.11%), l' $\alpha$ -himachalène (5.72%) et rapportent en comparant leurs résultats avec d'autres travaux que le mode d'extraction ainsi que la durée et la température de distillation peuvent influencer significativement la composition chimique des huiles essentielles.

### 1.2.3. L'espèce *Pistacia lentiscus* L.

#### 1.2.3.1. Propriétés

Le genre *Pistacia* est par sa dioïcie et ses fleurs nues, un genre particulier de la famille des Anacardiacees (Gausсен *et al.*, 1982 in Arab *et al.*, 2014), c'est un arbuste poussant dans la région méditerranéenne, on l'appelle également arbre à mastic. Ce nom lui vient du fait que sa résine était utilisée comme « chewing-gum » pour parfumer l'haleine, fortifier les gencives et apporter un bien être digestif, bien avant que l'on découvre ses propriétés bactéricides et bactériostatiques (Bardeau, 2009).

Les produits issus du lentisque sont connus et utilisés en médecine depuis l'antiquité, leurs vertus thérapeutiques font partie de la pharmacopée traditionnelle de plusieurs pays du pourtour méditerranéen (Abdeldjelil *et al.*, 2011). De plus, Miara *et al.* (2013), signalent que le lentisque est employé contre les coliques du côlon et de l'estomac, pour l'ulcère d'estomac et les varices. En Algérie, les feuilles de *Pistacia spp* ont été utilisées dans la purification de l'eau et pour la prolongation du temps de conservation des figues sèches et les tomates séchées, ils sont également utilisés dans la conservation des produits à base de poissons et de viandes (Djenane *et al.*, 2011).

### 1.2.3.2. Description botanique

Arbrisseau résineux de 1 à 3 m de haut poussant spontanément dans tout le Tell (Kaddem, 1990). La floraison est entre avril et juin (Bardeau, 2009), les fleurs rougeâtres sont apétales, les feuilles pennées et à folioles entières et glabres. Elles sont toujours paripennées persistantes en hiver, coriaces, vert sombre en dessus. Les inflorescences sont en grappes spiciformes, denses et courtes, égalant en générale la longueur d'une foliole. Pétioles des feuilles ailés. Fruit globuleux rouge, puis noir non comestible (Miara *et al.*, 2013). (Photo 11)



Photo.11 Le lentisque ([www.flickr.com](http://www.flickr.com))

### 1.2.3.3. Composition chimique de l'huile essentielle

Selon Arab *et al.* (2014), l'huile essentielle du lentisque est composée majoritairement de monoterpènes dont le principal composé est le Limonène alors que les sesquiterpènes sont représentés principalement par le  $\beta$ -Cubebene. Ces mêmes auteurs rapportent que la molécule principale qui caractérise l'huile essentielle de cette plante médicinale récolté en Algérie est une sesquiterpène oxygéné ; la Spathulenol. Ce qui est complètement différent des résultats obtenus par d'autres auteurs au Maroc et en Tunisie. Ils notent que cette variation n'est que le reflet de la biodiversité moléculaire rencontrée chez *P.lentiscus* due au climat et au biotope approprié.

### 1.2.4. Récolte et séchage des plantes

Les 3 plantes utilisées pour l'extraction des huiles essentielles ont été récoltées dans trois sites complètement différents. Les rameaux à feuilles en aiguilles du cèdre de l'atlas ont été récoltés au niveau de la forêt de Chreaa située à Blida et qui se trouve à 50 km d'Alger. Les feuilles du pistachier lentisque ont été récoltées au niveau de la wilaya de Tipaza, située à 70 km à l'ouest d'Alger. Ces deux plantes ont été identifiées par le département de foresterie au niveau de l'Ecole Nationale Supérieur Agronomique. La Nûnkha, quant à elle, a été récolté au niveau de la commune d'Amoucha, située dans la wilaya de Sétif se trouvant à 300 Km à l'est d'Alger et identifiée par le Professeur Laouar Hocine du département d'écologie de l'université Ferhat Abbas Sétif 1. (Tab. 2).

Le séchage des échantillons a été effectué au laboratoire à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité, puis conservés jusqu'au moment de l'extraction.

**Tableau 2.** Tableau récapitulatif des espèces sources d'huiles essentielles, dates et lieux de récolte et parties utilisées.

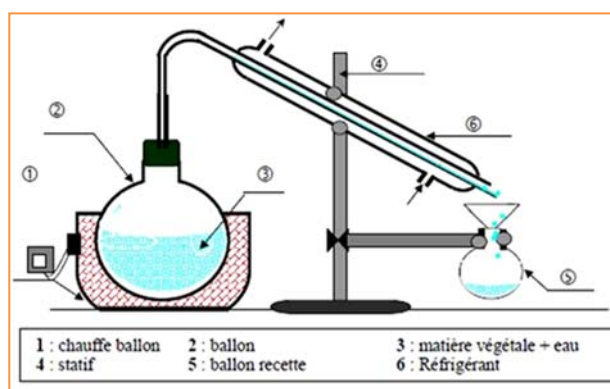
N°	Famille botanique	Nom commun	Nom scientifique	Lieu et date de récolte	Parties utilisées
1	Anacardiacees	Lentisque, Mastic ou « Dharw »	<i>Pistacia lentiscus</i>	Tipaza 13/11/2014	Feuilles
2	Pinacées	« Arz »	<i>Cedrus atlantica</i>	Blida (Chreaa) 15/11/2014	Aiguilles
3	Apiacées	« Noukha » ou « Ajowan »	<i>Ammoides pusilla</i> ( <i>verticillata</i> )	Sétif (Amoucha) 15/ 05/2014	Tiges, Feuilles Fleurs

## 2. L'extraction des huiles essentielles

Après séchage du matériel végétal, on a procédé à l'extraction par la technique d'hydro distillation (Photos 12-13). Ainsi, 100 g du matériel végétal sont additionnés à l'eau (1200 à 1500 ml) et sont portés à ébullition pendant 3 heures. Les huiles obtenues ont été déshydratées à l'aide du magnésium (MgSo4) et conservées dans des tubes en verre à 4°C et à l'abri de la lumière.



**Photo12.** Appareil Clavenger utilisé (Originale)



**Photo13.** Schéma légendé du dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Saidj, 2007)

### 3. Détermination du rendement des huiles essentielles

Selon [Boukssaim et al. \(2013\)](#), le rendement en huile essentielle est exprimé par le volume d'huile en millilitres obtenu pour la masse de 100 gramme de matière végétale sèche par la relation suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = [v/m_s \times 100] \pm [\Delta v/m_s \times 100]$$

**Rdt (%)** : rendement en huiles essentielles (ml/g).

**V** : volume d'huiles essentielles recueilli.

**ΔV**: erreur sur la lecture.

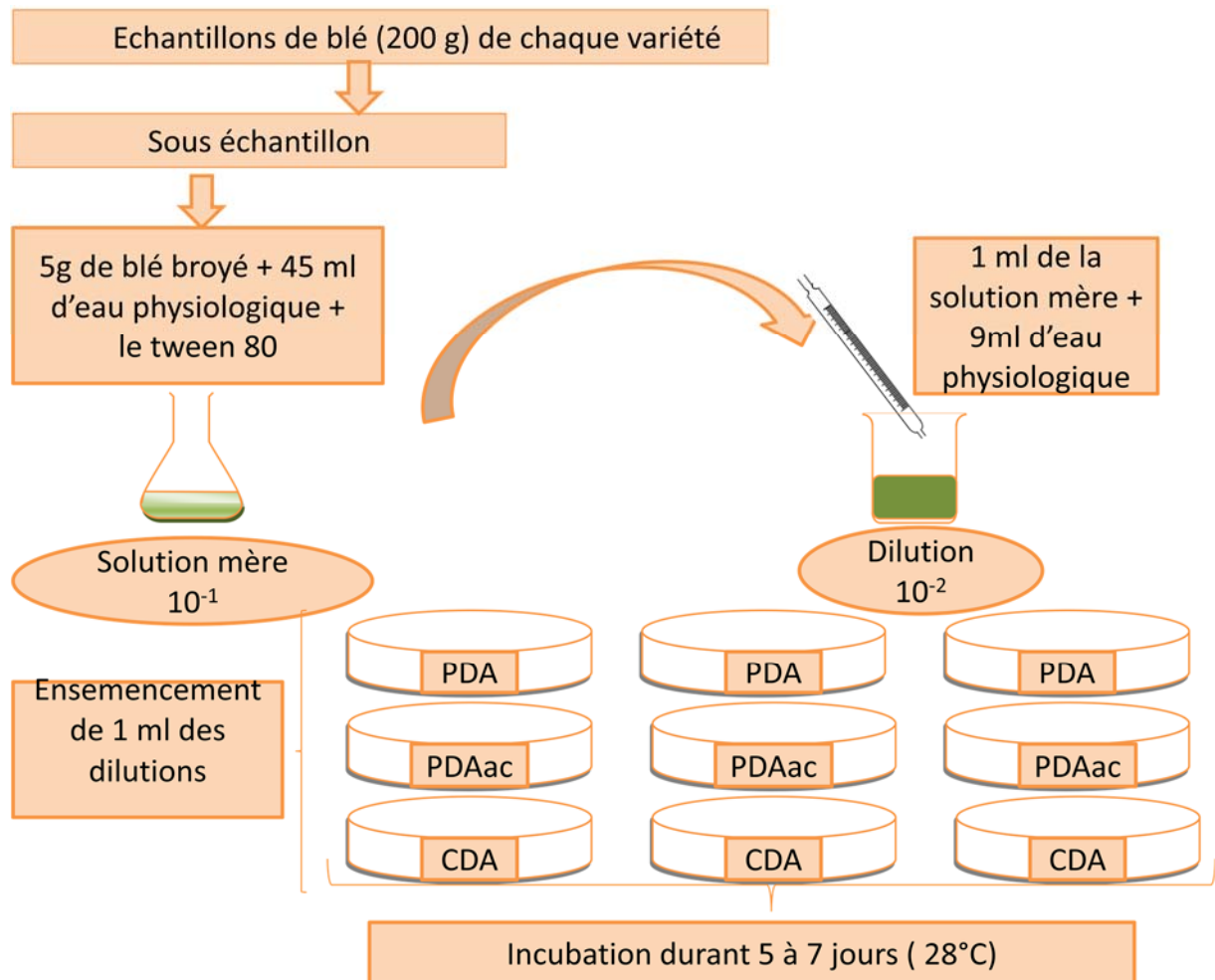
**m<sub>s</sub>** : masse végétale sèche.

### 4. Etude mycologique du blé échantillonné

#### 4.1. Isolement par la méthode de dilution

Pour l'isolement de la microflore des échantillons de blé considérés, nous avons utilisé la méthode de dilution ([Moreau, 1996](#)). Ainsi, de chaque sous échantillon, 5 g de grains broyés sont additionnés à 45 ml d'eau physiologique (Photo 14), ce qui correspond à la dilution  $10^{-1}$ . Ensuite, 1 ml de cette dernière est ajouté à 9 ml d'eau physiologique pour avoir la dilution  $10^{-2}$ . Des boites de Pétri contenant les milieux PDA, PDAac, et CDA, sont ensemencées avec 1 ml des dilutions ; le surnageant est éliminé après 10 à 15 minutes, le tout est porté à incubation pendant 5 à 7 jours à 28°C. Le nombre de répétition étant de trois pour chaque type de blé (Photo 14.)

L'ajout de l'acide lactique (25%) empêche le développement des bactéries. L'acidification du milieu de culture ne doit pas avoir lieu avant autoclavage car le chauffage en milieu acide entraîne l'hydrolyse de l'agar, elle a lieu après autoclavage en ajoutant stérilement au milieu en surfusion une petite quantité d'acide lactique à 10% stérilisé séparément (Le milieu PDA est ajusté à pH 3.5 à l'aide d'environ 1 ml d'acide lactique à 10 % pour 100 ml de milieu) ([Guiraud & Rosec, 2004](#)). Selon les mêmes auteurs, le développement des bactéries peut être inhibé par l'adjonction d'antibiotiques comme le Chloramphénicol à raison de 0.5 mg/ litre.



**Photo.14** Protocole d'isolement des souches fongiques par la méthode de dilution ([Originale](#))

## 4.2. Identification des genres

Conventionnellement, l'identification des genres fongiques repose sur l'identification de critères morphologiques ; d'une part par l'observation macroscopique du mycélium, et d'autre par l'observation microscopique des structures reproductrices.

### 4.2.1. Observation macroscopique

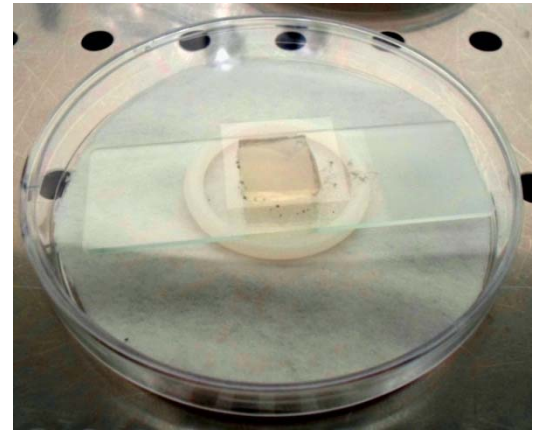
- L'aspect des colonies** : elles peuvent être duveteuses, laineuses, poudreuses...etc.
- Le relief des colonies** : elles peuvent avoir un aspect plat ou plissé ainsi que leur consistance qui peut être friables, molles ... etc.
- La taille des colonies** : elles peuvent être petites 3 à 3.5 cm ou étendues 4 à 5 cm ou envahissantes.

- d) **La couleur des colonies** : c'est un élément très important d'identification, les colonies peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, verte ou brune, des pigmentations peuvent se présenter sur le mycélium ou diffuser sur le milieu de culture.

#### 4.2.2. Observation microscopique

Cette dernière est réalisée par la technique de la culture sur lame (Fig. 15) qui a pour objectif l'examen des organes de fructification, souvent difficiles à observer sur les montages classiques (Chabasse *et al.*, 2002).

Elle consiste à ensemencer les souches sur les côtés de morceaux de PDAac d'environ 5 mm d'épaisseur. Ces morceaux sont coupés à partir d'une boîte coulée en couche épaisse pour éviter la déshydratation du champignon, ensuite les porter sur des lames stériles et recouvrir de lamelles stériles.



**Photo. 15** Culture sur lame (Originale)

Les lames sont déposées dans des boîtes de Pétrie tapissée avec du papier imbibé d'eau distillée stérile. Ces lames sont soulevées d'une tige en verre en forme de U qui est déposée au fond de la boîte de Pétrie. Refermer cette dernière et placer le tout à l'étuve. Après 2 à 3 jours d'incubation à 28 °C, sur de nouvelles lames stériles, on dépose une à deux gouttes de bleu de coton pour permettre le gonflement du mycélium facilitant ainsi l'observation microscopique, on soulève aseptiquement la lamelle couvrant le morceau de PDAac inoculé, la déposer sur les gouttes du bleu de coton et procéder à l'observation microscopique.

#### 4.3. Identification des espèces

##### a) Les *Aspergillus*

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* sont identifiées par la méthode de single spore rapportée par Pitt(1985) et Samson *et al.* (2014). Cette méthode est basée sur la relation entre l'activité de l'eau ( $a_w$ ) du milieu de culture et la température d'incubation. Elle consiste à inoculer un tube à hémolyse remplie au 2/3 de son volume d'agar 0.2% par les spores d'une culture jeune de la moisissure en question, et lui rajouter quelques gouttes de Tween 80, afin de diluer les spores pour l'ensemencement des milieux de cultures. Après agitation du tube, des gouttes de cette suspension sont déposées sur les milieux CYA, MEA et G25N. Après une semaine de croissance, les diamètres des colonies, leurs textures, leurs couleurs et la couleur

du revers sont rapportés ainsi que la production de sclérote et de cléistothèces et leur morphologie et la production des exsudats sont pris en considération (Rodrigues *et al.*, 2013). Selon les mêmes auteurs, les cultures sur milieu CYA sont ré-incubés pendant deux semaines en plus pour confirmer les couleurs des colonies.

La confirmation des genres des moisissures dénombrées et des espèces appartenant au genre *Aspergillus* a été confiée à des spécialistes et a été effectuée par M<sup>elle</sup> Benelmouffok Amina du service mycologie de l'institut Pasteur d'Alger (I.P.A).

#### **b) Fusarium**

La souche appartenant au genre *Fusarium* a été repiquée sur milieu PDA et incubée pendant une semaine à 28°C. L'identification de l'espèce a été faite suivant le manuel d'identification des *Fusarium* de Leslie & Summerell (2006) qui est basée sur l'observation macroscopique et microscopique des critères morphologiques.

La confirmation de l'espèce a été faite par M<sup>elle</sup> Boureghda Houda, maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach-Alger.

### **5. Matériel fongique**

Les souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique des huiles essentielles extraites, ont été isolées à partir des échantillons de variétés locales de blé tendre et de blé dur. Elles ont été purifiées et identifiées. Il s'agit de quatre espèces d'*Aspergillus* dont *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus* et *A. fumigatus*, deux espèces de *Penicillium spp* (*Penicillium sp1* et *sp2*) ainsi que l'espèce *Fusarium verticillioides* (syn. *F. moniliforme*).

### **6. Test antifongique**

Afin de tester l'activité antifongique des trois huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide (Belhattab *et al.*, 2004) en déterminant les diamètres des zones d'inhibition. Elle est également connue sous le nom d'aromatogramme, elle permet d'étudier la sensibilité des micro-organismes aux huiles essentielles et de mesurer leur pouvoir antimicrobien de manière fiable et reproductible (Derbré *et al.*, 2013). Elle est généralement considérée comme un test préliminaire pour étudier l'efficacité d'une huile essentielle (Djenane *et al.*, 2011). Ce test est réalisé en suivant ces étapes :



### **a. Préparation de l'inoculum**

Les moisissures sont d'abord inoculées séparément sur milieux PDA et incubées pendant 7 à 10 jours jusqu'à ce que la sporulation soit complète. Ensuite, une suspension de spores de chaque moisissure est préparée, et ce en versant au dessus de la boîte de pétrie 10 ml d'eau distillée stérile. Après raclage à l'aide d'une pipete pasteur, la suspension de spores de la moisissure en question est récupérée dans un tube à essai, à laquelle on rajoute quelques gouttes de Tween80 pour disperser les spores et on procède au comptage à l'aide d'une cellule de malassez. Le comptage permet d'avoir le même nombre de spores sur l'ensemble des boîtes de Pétri, ainsi la suspension est ajustée à raison de  $10^5$ CFU/ml. L'ensemencement du champignon se fait en étalant 0.1 ml de cette suspension à la surface d'une boîte de Pétri de 90 mm contenant le milieu PDA solide.

### **b. Dépôt des disques**

Des disques de 6 mm de diamètre de papier Wattman stériles, sont imprégnés de deux concentrations de chaque huile essentielle pure (10 et 20  $\mu$ l) et sont déposés au centre de la boîte de Pétri préalablement ensemencées avec les spores du champignon. La lecture des résultats se fait après incubation à 28°C pendant 48h. Les essais sont faits en triplicata pour chaque concentration des trois huiles essentielles sur la même moisissure.

### **c. Préparation du témoin**

Concernant le test positif ou témoin, d'autres disques sont chargés de 10 et 20  $\mu$ l de DMSO (Dimethylsulfoxide) et utilisés comme témoins. Ce dernier est généralement considéré comme un solvant de solubilisation des huiles essentielles et il n'a aucun effet sur la croissance du champignon. Les boîtes de Pétri sont mises en incubation à 28°C.

### **d. Expression des résultats**

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque du papier Wattman contenant la concentration en huile essentielle dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre du disque de 6 mm). D'après [Djeddi et al. \(2007\)](#), la sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens a été classifiée selon le diamètre de la zone d'inhibition comme suit :

- a) Extrêmement sensible :  $D \geq 20$  mm.
- b) Sensible :  $15 \text{ mm} \leq D \leq 19$  mm.
- c) Moyennement sensible :  $9 \text{ mm} \leq D \leq 14$  mm
- d) Non sensible (résistante) :  $D \leq 8$  mm.

Les moisissures montrant une sensibilité aux huiles essentielles sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

### 6.1. Détermination de la CMI

Selon [Kaloustian et al. \(2008\)](#), la CMI est la plus faible concentration en huile essentielle ne donnant pas de croissance visible à l'œil nue sur le milieu de culture. Elle est calculée par la méthode d'incorporation en masse de [Fandohan \(2004\)](#). Ainsi, les concentrations de 0.1, 0.2, 0.4, 0.625 et 2.5  $\mu\text{l/ml}$  de milieu PDA sont obtenues par addition de 2, 4, 8, 12.5 et 50  $\mu\text{l}$  d'huile essentielle à 20 ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai, dans lequel on rajoute quelques gouttes de Tween 80 qui va permettre la dissolution de l'huile essentielle dans le milieu PDA. Ce mélange est coulé dans des boîtes de Pétri.

Après solidification du milieu, un explant de la moisissure pris à l'aide d'un emporte pièce stérile à partir d'une culture de 7 jours, est déposé au milieu de la boîte de pétri contenant la concentration en huile essentielle. Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 72h à 28°C. Les concentrations des boîtes de Pétri ne présentant pas de croissance à l'œil sont notées et représentent la CMI. Les explants de moisissures sont transférés à partir de ces boîtes de Pétri sur un milieu PDA neuf et incubés à 25°C. Après 7 jours, on note les cultures dans lesquelles il n'ya aucune reprise de croissance ; déterminant ainsi les concentrations minimales fongicides et/ou fongistatiques (CMF).

### 7. Analyse statistique

L'analyse statistique a été faite par le logiciel SPSS version 18 en effectuant 2 testes différents ; un teste « t » à 2 échantillons appariés et un autre test « t » à 2 échantillons indépendants.

## **Résultats et discussion**

## 1. Les résultats

### 1.1. Identification des genres des moisissures isolées par la méthode de culture sur lame

Identifier un champignon, c'est d'abord lui reconnaître l'appartenance à un genre, qui est un groupement d'organismes liés entre eux par des caractères communs (Cahagnier, 1998). En se basant sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques de chaque souche fongique, sur différents milieux, PDA, CDA et PDAAc, on distingue les genres suivants :

#### ✓ Les souches du groupe A

L'observation macroscopique de ces souches (photo 16), montre des colonies duveteuses à poudreuses aux couleurs vives et différentes. Au microscope, ces souches (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>), montrent des filaments dressés, renflés en une vésicule terminale, de forme variable qui porte des cellules conidiogènes ou phialides et des conidies en chaînes. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule, on parle de tête unisériée. Ou bien portées par des petits articles insérés sur la vésicule ; les métules, on parle alors, de tête bisériée. L'ensemble vésicule (± métules) + phialides + conidies, constitue la tête aspergillaire qui caractérise le genre *Aspergillus* (Chabasse *et al.*, 2002).

#### ✓ Les souches du groupe B

Elles apparaissent sous forme de colonies poudreuses de couleurs bleu-vert. L'examen microscopique (photo 17) de ces souches (B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>), nous montre des stipes qui portent des cellules conidiogènes ou phialides groupées en pincesaux. Une forme caractéristique du genre *Penicillium*. Entre les phialides et le stipe peuvent s'intercaler des éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe. Ainsi, on distingue deux espèces différentes, une appartenant aux *Penicillium* monoverticillés avec un pinceau simple qu'on a nommé *Penicillium* sp<sub>1</sub> (souche B<sub>1</sub>) et l'autre avec un pinceau plus complexe où les cellules sporogènes sont portées par une rangée (verticille) de cellules intermédiaires (métules) qu'on a nommé *Penicillium* sp<sub>2</sub> (souche B<sub>2</sub>). Chez ce groupe de moisissures, la notion d'espèce est très difficile à appréhender. L'identification précise doit être confiée à des spécialistes (Cahagnier, 1998).

✓ **La souche C**

Cette souche blanche se caractérise par des colonies floconneuses (photo 16). L'examen microscopique (photo 17) nous indique la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées très caractéristique du genre *Fusarium*.

✓ **La souche D**

Les colonies sont veloutées de couleur gris à noir (photo 16). L'observation microscopique de cette souche (photo 17) permet de voir des dictyospores. C'est des conidies piriformes, à la base élargies avec des septa transversaux, obliques et longitudinaux en nombre variable. Leur extrémité est constituée d'une partie rétrécie plus ou moins longue appelée le « bec ». L'aspect global rappelle la forme d'une massue. Ces spores sont très caractéristiques du genre *Alternaria*.

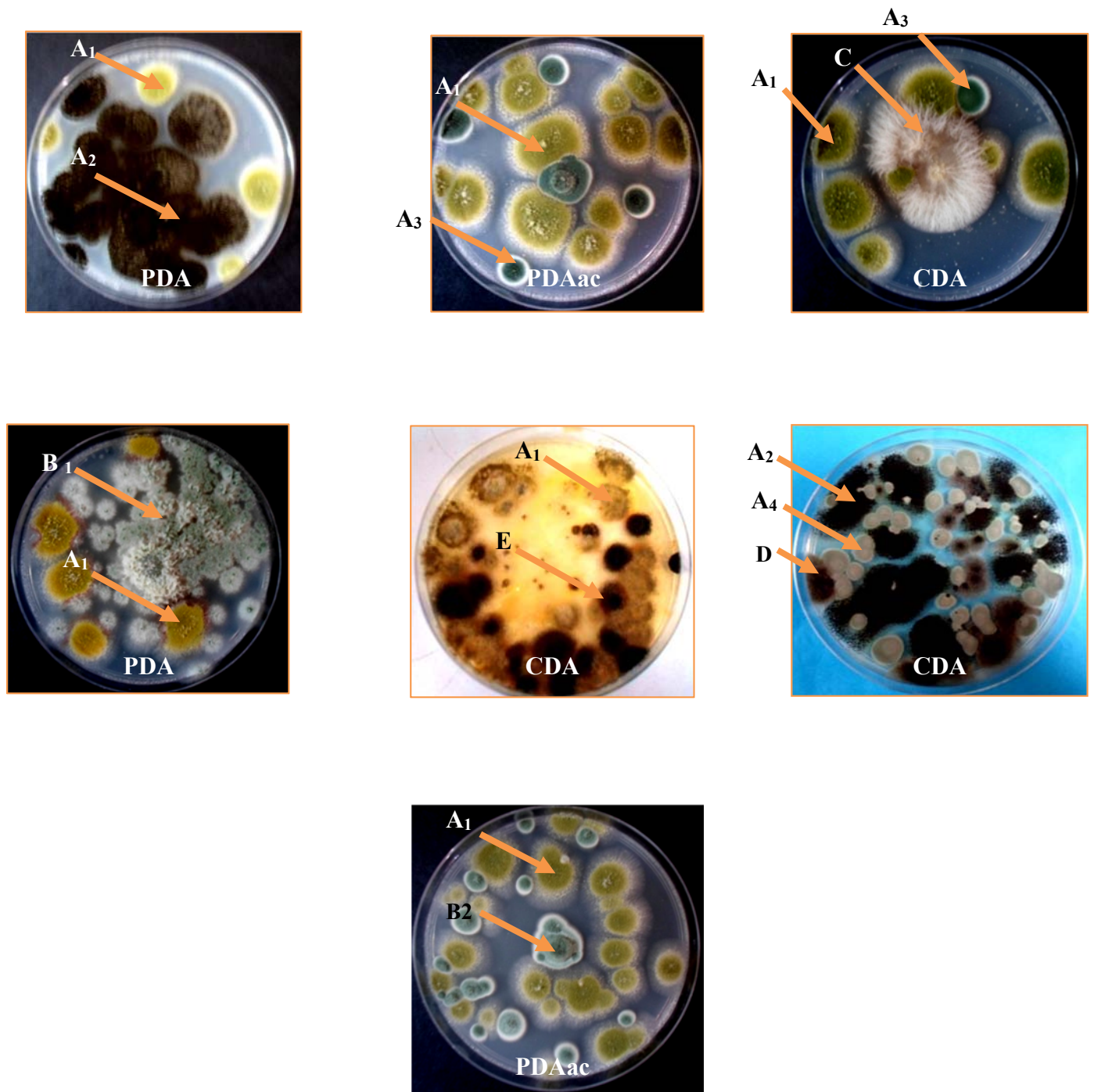
✓ **La souche E**

C'est des colonies brunes foncé, rases, veloutées et serrées (photo 16). L'examen microscopique de cette souche (photo 17) montre des conidies elliptiques à globuleuses lisses avec des cicatrices à chaque extrémité. Cette forme de conidies est spécifique au genre *Cladosporium*. Elles sont plus longues, cloisonnées avec plusieurs cicatrices à une extrémité.

✓ **La souche F**

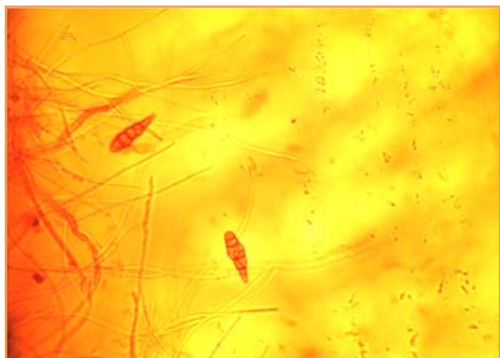
Cette souche est représentée par des colonies denses et envahissantes, épaisses, à développement aérien important, de couleur gris plomb (photo 16). Au microscope (photo 17), les spores sont contenues à l'intérieur d'une cellule renflée sont appelés sporanges. Ces derniers sont portés par des filaments dressés appelés sporangiophores, insérés sur le mycélium. Le champignon émet des stolons qui courent à la surface du support gélosé et adhèrent au substrat par une sorte de petites racines appelées rhizoïdes qu'on peut clairement observer au Gr × 40. A partir de ces stolons, partent les sporangiophores. Il s'agit bel et bien d'une espèce appartenant à l'ordre des Mucorales et sans doute au genre *Rhizopus*.

D'après ces résultats, il en ressort que le blé dur ainsi que le blé tendre locales sont chargés des mêmes souches qui sont en nombre de dix, réparties respectivement entre les genres, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp*

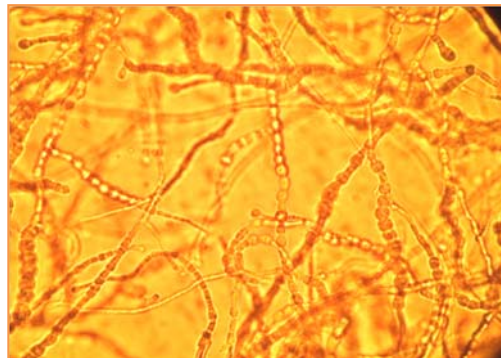


**Photo16.** Photos de l'aspect macroscopique des souches fongiques isolées sur les trois milieux PDA, CDA et PDAac (photos originales)

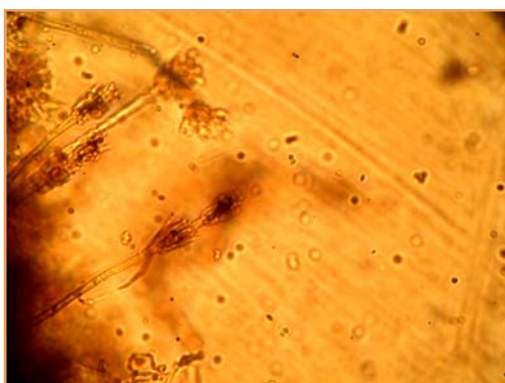
(A<sub>1</sub>) *Aspergillus flavus*, (A<sub>2</sub>) *A. niger*, (A<sub>3</sub>) *A. ochraceus*, (A<sub>4</sub>) *A. fumigatus*, (B<sub>1</sub>) *Penicillium sp*<sub>1</sub>, (B<sub>2</sub>) *Penicillium sp*<sub>2</sub>, (C) *Fusarium sp.* (D) *Alternaria sp.*, (E) *Cladosporium sp.*



***Dictyospores d'Alternaria sp***



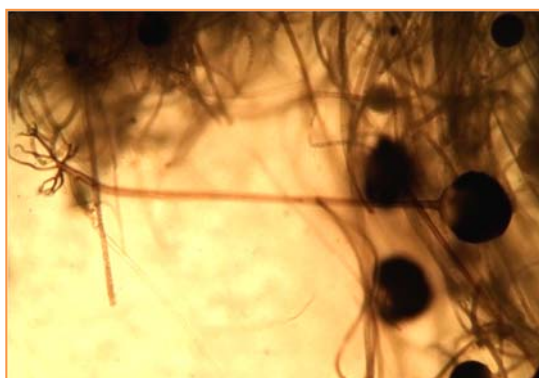
***Cladosporium sp***



***Penicillium sp<sub>1</sub>***



***Penicillium sp<sub>2</sub>***



***Rhizopus sp***



***Aspergillus sp***

**Photo 17.** Aspect microscopique des genres identifiés par la technique de culture sur lame (**Gr ×40**) ([photos originales](#))

## 1.2. Identification des espèces

A l'intérieur d'un genre, on trouve des espèces qui ont des caractères spécifiques de second rang par rapport à ceux du genre (Cahagnier, 1998). Dans notre étude, on a pu identifier quatre espèces du genre *Aspergillus* et une espèce du genre *Fusarium*.

### 1.2.1. Les *Aspergillus*

Les souches appartenant au genre *Aspergillus* ont été identifiées par la méthode de single spore sur les trois milieux MEA, G25N et CYA (Tab. 3 et Fig. 18). Ces résultats ont été comparés aux travaux d' Afzalet *al.* (2013) et Samson *et al.* (2014) et confirmées par des spécialistes.

**Tableau 3.** Identification des espèces d'*Aspergillus* (aspect macroscopique) par la méthode de single spore (Pitt, 1985)

Espèce	Milieu	Lecture	
		Couleur	Diamètre mm
<i>Aspergillus flavus</i>	CYA 37°C	Vert olive	32 mm
	MEA 28°C	Jaune vert	69 mm
	G25N 28°C	Jaune	38 mm
<i>Aspergillus niger</i>	CYA 37°C	Noir	35 mm
	MEA 28°C	Brun-noir à bordure blanche	61 mm
	G25N 28°C	Jaune puis brun	47 mm
<i>Aspergillus ochraceus</i>	CYA 37°C	Vert foncé	25 mm
	MEA 28°C	Jaune doré à chamois	35 mm
	G25N 28°C	Blanc	21 mm
<i>Aspergillus fumigatus</i>	CYA 37 °C	Bleu gris	25 mm
	MEA 28°C	Bleu-gris à bordures blanches	64 mm
	G25N 28 °C	Beige	58 mm



✓ **Souche A<sub>1</sub> : *Aspergillus flavus***

L'espèce *Aspergillus flavus* se caractérise par une tête aspergillaire bisériée mais on peut rencontrer des têtes plus petites unisériées ou mixtes. La vésicule est sphériques à légèrement allongées, fertiles sur toute la surface. Les conidies sont globuleuses à ellipsoïdes (Fig. 19).

✓ **Souche A<sub>2</sub> : *Aspergillus niger***

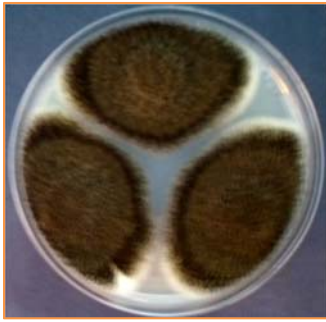
Au microscope, les têtes aspergillaires sont bisériées avec des métules-phialides tout autour d'une vésicule ronde. Les conidies de couleur brune, sphériques parfois côtelées (Fig. 19).

✓ **Souche A<sub>3</sub> : *Aspergillus ochraceus***

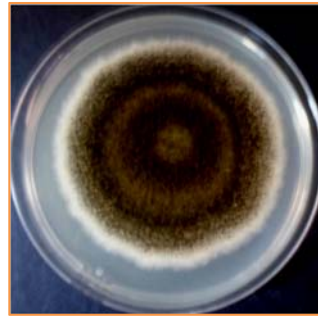
L'examen microscopique montre des têtes aspergillaires bisériées avec une vésicule sphérique à légèrement allongée. Les conidies sont petites globuleuses. Cette espèce produit parfois des sclérotés roses (Fig. 19).

✓ **Souche A<sub>4</sub> : *Aspergillus fumigatus***

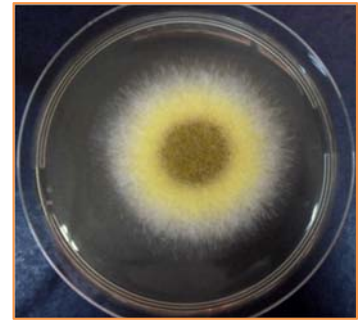
Cette espèce est reconnue par sa tête unisériée avec une vésicule piriforme allongée (c'est le conidiophore qui s'élargit en vésicule), les phialides sur la moitié supérieure, les chaînes de conidies en colonnes, de forme sphérique à subsphérique (Fig. 19).



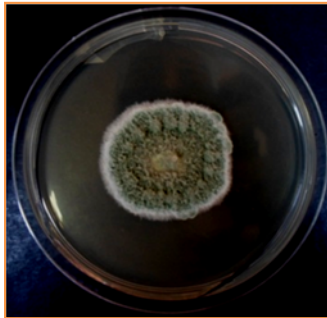
*Aspergillus niger* CYA



*Aspergillus niger* MEA



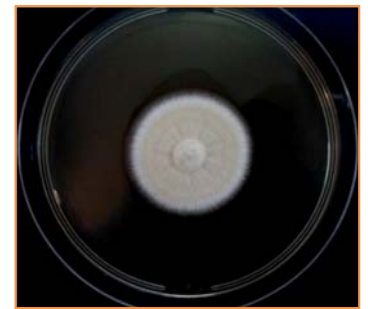
*Aspergillus niger* G25N



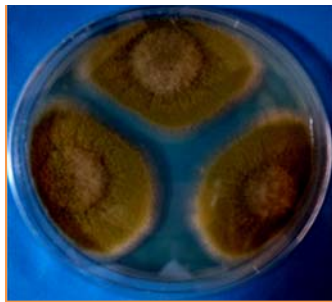
*Aspergillus ochraceus* CYA



*Aspergillus ochraceus* MEA



*Aspergillus ochraceus* G25N



*Aspergillus flavus* CYA



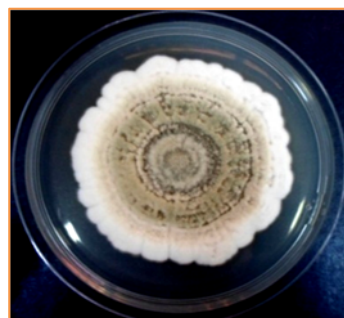
*Aspergillus flavus* MEA



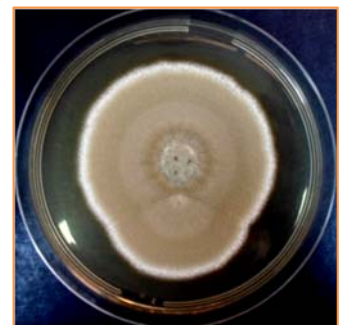
*Aspergillus flavus* G25N



*Aspergillus fumigatus* CYA

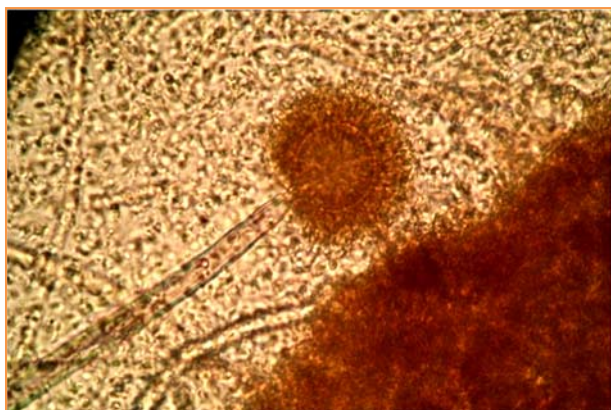


*Aspergillus fumigatus* MEA

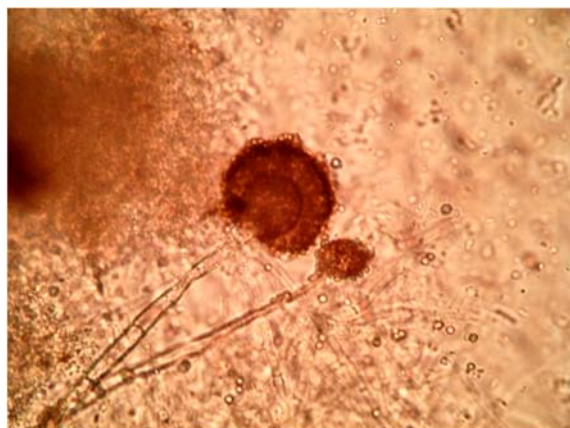


*Aspergillus fumigatus* G25N

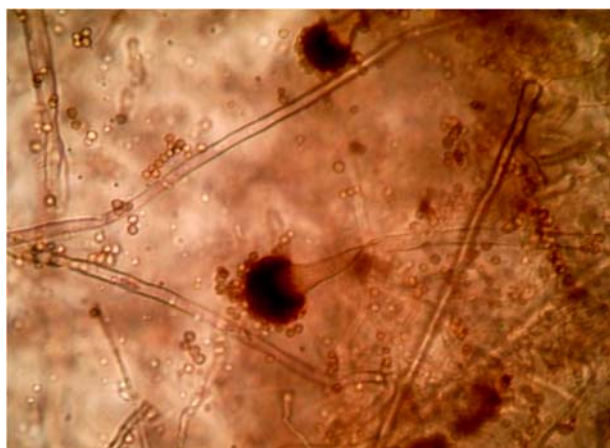
**Photo 18.** Identification des espèces du genre *Aspergillus* (aspect macroscopique) par la méthode de single spore (**Photos originales**)



*Aspergillus flavus*



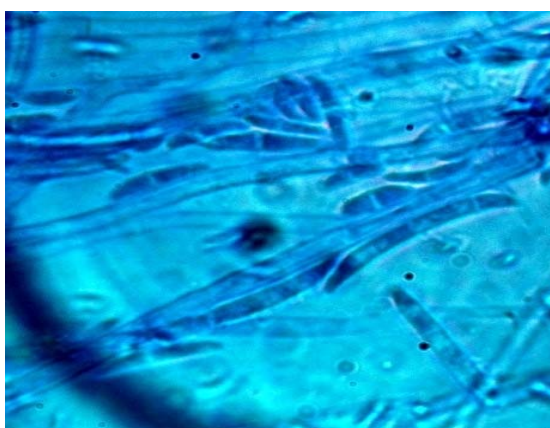
*Aspergillus ochraceus*



*Aspergillus fumigatus*



*Aspergillus niger*

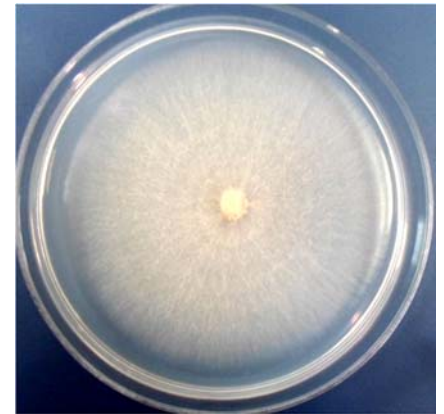


*Fusarium verticillioides*

**Photo 19.** Aspect microscopique des espèces. *Fusarium* (microconidies et macroconidies) identifiées (Gr×40) (Photos originales)

### 1.2.2. L'espèce du genre *Fusarium*

L'identification des *Fusarium* est faite sur un milieu standard qui est le PDA (Cahagnier, 1998). Notre isolat se présente sous forme de colonies blanches, cotonneuses, légèrement violet pâle au centre. Sous le microscope, les macroconidies paraissent étroites, courbées au sommet, avec 3 à 5 cloisons. Les microconidies en chaînes, fusiformes à piriformes, formées par de longues phialides. Cette espèce se caractérise par l'absence de chlamydospores. Il s'agit donc de l'espèce *Fusarium verticillioides* (syn. moniliforme) (Leslie & Summerell, 2006).



**Photo 20.** Aspect macroscopique de *Fusarium verticillioides* sur PDA (7jr à 27°C)

## 1.3. Dénombrement de la flore fongique du blé échantillonné

### 1.3.1. Le milieu PDA

L'utilisation du milieu PDA a permis de révéler les mêmes souches fongiques chez le blé dur ainsi que sur le blé tendre à des taux de contamination différents. Le dénombrement a été effectué à partir des boîtes de Pétri ensemencées avec la dilution  $10^{-2}$  où les colonies sont moins condensées et bien visibles.

Les genres les plus prédominants sont les *Aspergillus* avec des taux de contamination qui atteignent  $11.95 \times 10^2$ UF/g chez le blé dur et  $10.32 \times 10^2$ UF/g chez le blé tendre, suivit des genres *Alternaria* et *Penicillium* (Photos 21- 22).

Les *Aspergillus* sont représentés essentiellement par les deux espèces *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*, et ce, sur le blé dur ainsi que sur le blé tendre. Le taux de contamination par l'espèce *A.flavus* atteint  $4.56 \times 10^2$ UF/g chez le blé dur et  $3.53 \times 10^2$ UF/g chez le blé tendre. Tandis que celui de l'espèce *A.niger* atteint  $3.86 \times 10^2$ UF/g chez le blé dur et  $3.66 \times 10^2$ UF/g chez le blé tendre.

On note la présence de deux autres espèces d'*Aspergillus* avec des taux de contamination assez faibles, à savoir *Aspergillus fumigatus* et *A. ochraceus*. De plus, les deux espèces de *Penicillium* présentent des taux de contamination faibles sur le blé dur,  $0.66 \times 10^2$ UF/g pour *Penicillium sp1* et  $1 \times 10^2$ UF/g pour *Penicillium sp2*, et élevés sur le blé tendre

## Résultats et Discussions

notamment *Penicillium sp2* avec  $2.13 \times 10^2$ UF/g. Le taux de contamination par le genre *Alternaria* est également élevé sur les deux échantillons de blé avec  $2.06 \times 10^2$ UF/g.

La mycoflore totale dénombrée sur ce milieu est presque la même sur le blé dur ainsi que le blé tendre. Elle atteint respectivement  $18.73 \times 10^2$ UF/g et  $17.19 \times 10^2$ UF/g.

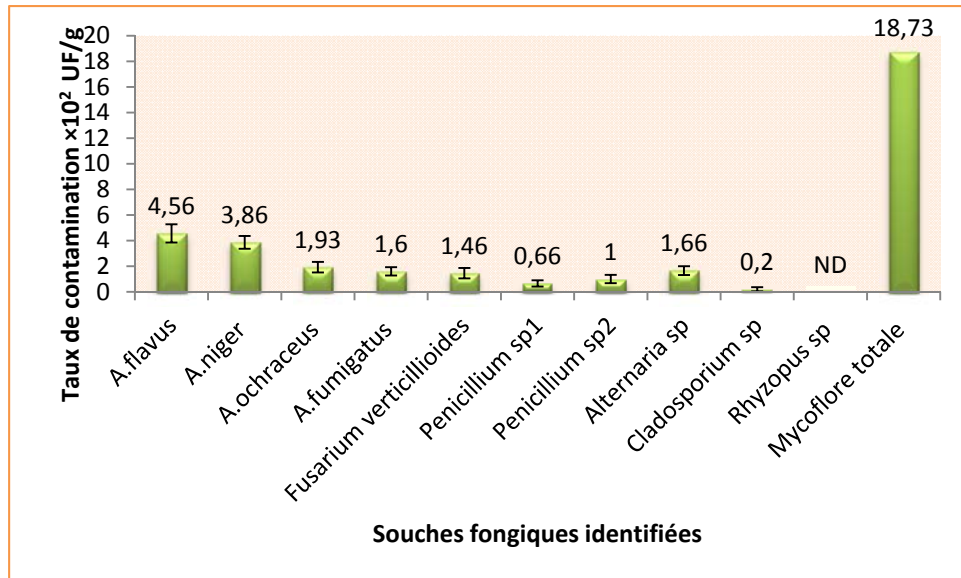


Figure 21. Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu PDA.

ND : indénombrable

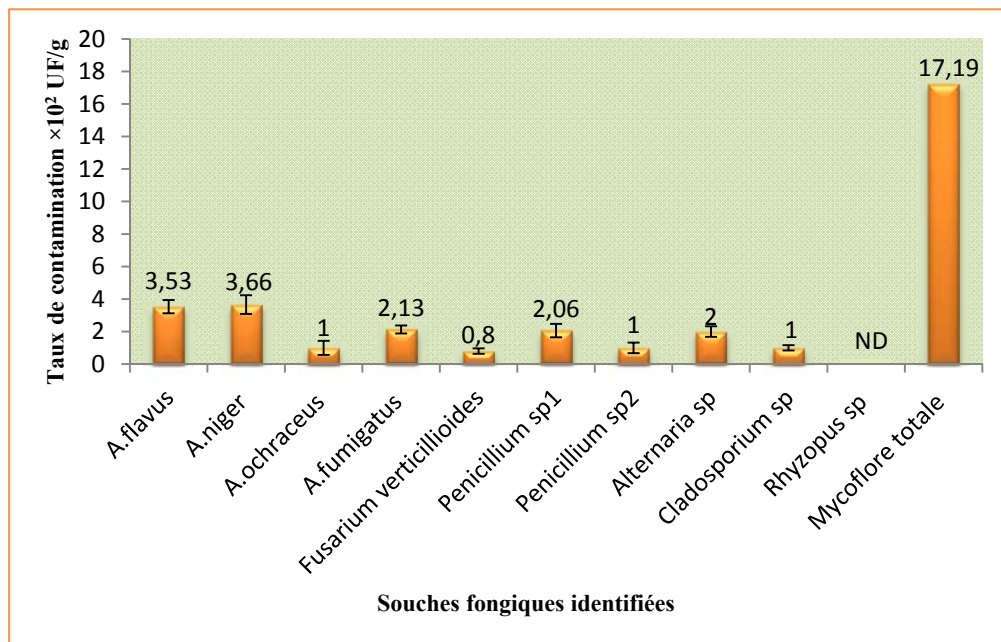


Figure 22. Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu PDA.

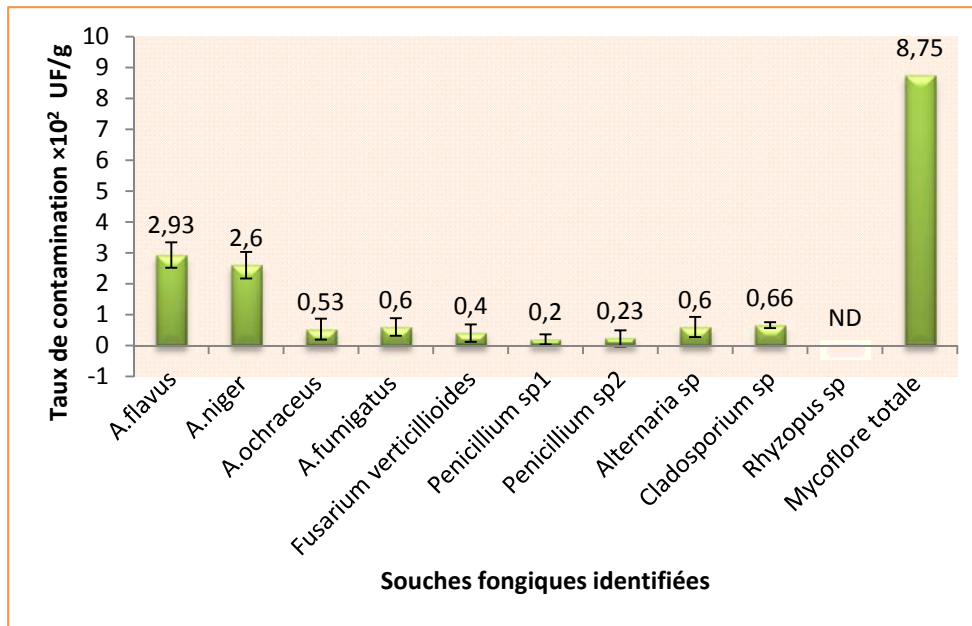
ND : indénombrable

### 1.3.2. Le milieu CDA

On peut constater sur la figure 23 que la flore fongique totale du blé dur dénombrée sur le milieu CDA a enregistré un taux de contamination de  $8.75 \times 10^2$ UF/g, et est dominée par les deux espèces *Aspergillus flavus* et *A.niger* avec respectivement  $2.93 \times 10^2$ UF/g et  $2.6 \times 10^2$ UF/g. Le taux de contamination par les *Penicillium* est très faible de l'ordre de  $0.2 \times 10^2$ UF/g et  $0.23 \times 10^2$ UF/g en comparaison avec celui des genres *Alternaria* et *Cladosporium* qui enregistrent des taux légèrement supérieurs avec respectivement  $0.6 \times 10^2$ UF/g et  $0.66 \times 10^2$ UF/g.

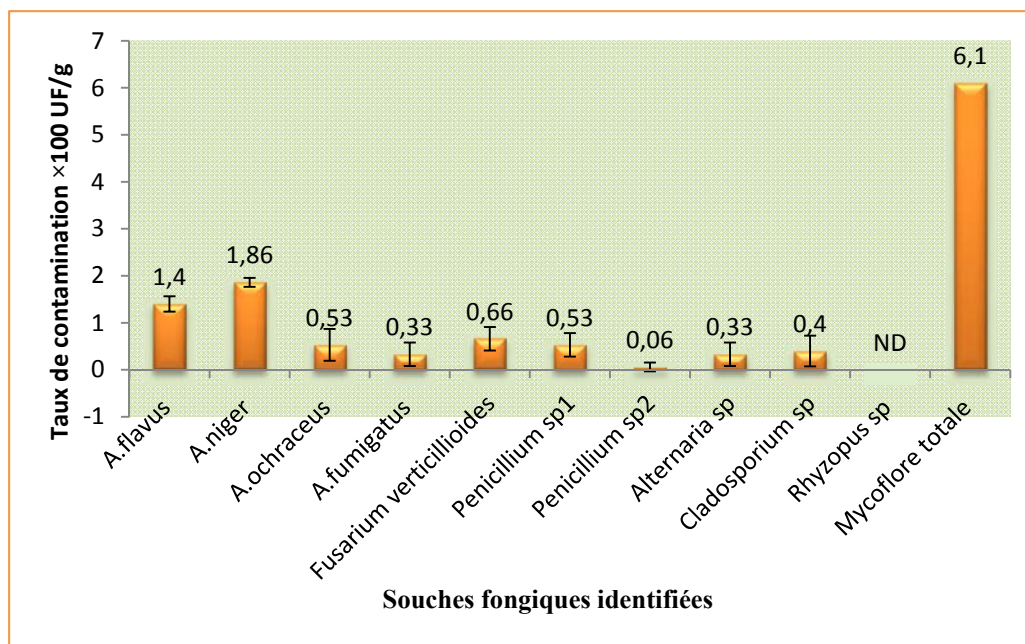
De plus, les résultats de l'isolement des souches fongiques du blé tendre sur ce même milieu (Fig. 24), indiquent qu'il est dominé, au même titre que le blé dur, par les deux espèces *Aspergillus flavus* et *A.niger* avec respectivement  $1.4 \times 10^2$ UF/g et  $1.86 \times 10^2$ UF/g, suivis de l'espèce *Fusarium verticillioides* avec un taux de contamination de  $0.66 \times 10^2$ UF/g. Les deux espèces ; *Penicillium sp1* et *A.ochraceus* enregistrent le même taux de contamination avec  $0.53 \times 10^2$ UF/g, ainsi que les deux espèces *A.fumigatus* et *Alternaria sp* avec un taux de contamination de  $0.33 \times 10^2$ UF/g. Les espèces *Penicillium sp2* et *Cladosporium sp* sont faiblement présents, avec respectivement, un taux de contamination de  $0.06 \times 10^2$ UF/g et  $0.4 \times 10^2$ UF/g.

Le taux de contamination de la flore fongique totale dénombrée sur le blé dur est supérieur à celle du blé tendre et atteint respectivement  $8.75 \times 10^2$ UF/g et  $6.1 \times 10^2$ UF/g.



**Figure 23.** Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu CDA.

ND : indénombrable



**Figure 24.** Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu CDA.

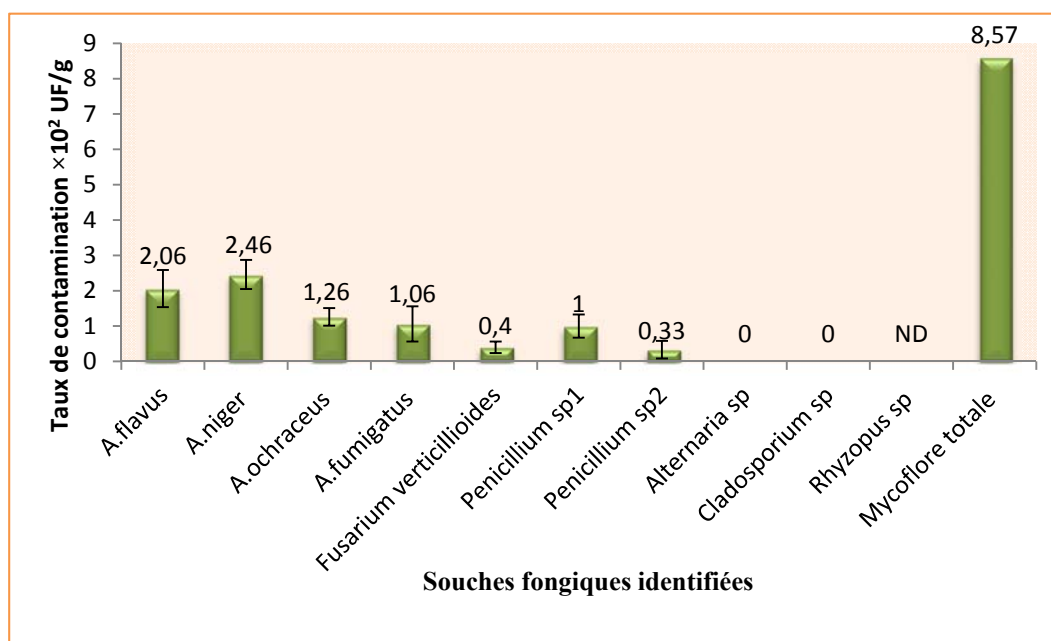
ND : indénombrable



### 1.3.3. Le milieu PDAac

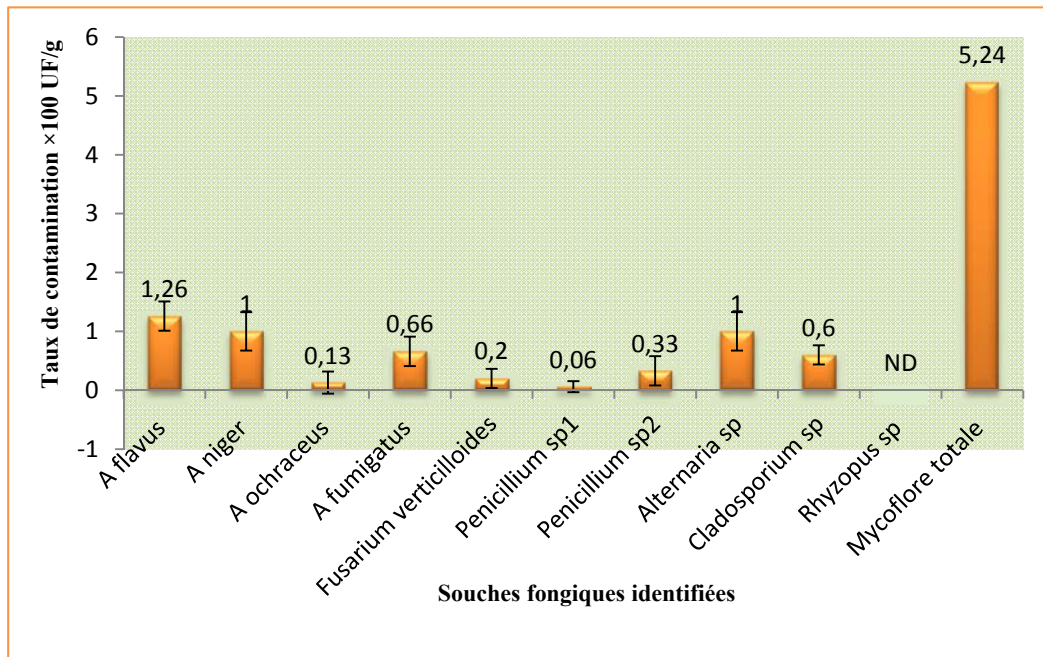
Les résultats relatifs à ce milieu démontrent que les taux de contamination par les *Aspergillus* sont importants sur le blé dur par rapport aux autres moisissures, notamment les deux espèces *A.niger* et *A.flavus* avec respectivement  $2.46 \times 10^2$ UF/g et  $2.06 \times 10^2$ UF/g, ainsi que l'espèce *Penicillium sp1* avec  $1 \times 10^2$ UF/g. On note l'absence de contamination par les genres *Alternaria sp* et *Cladsporium sp*.

Sur le blé tendre, les genres les plus prédominants sont les *Aspergillus* et *Alternaria sp* suivis du genre *Cladsporium sp* et l'espèce *Penicillium sp2*.



**Figure 25.** Moyenne de la flore fongique totale de blé dur détectée sur milieu PDAac.

ND : indénombrable



**Figure 26.** Moyenne de la flore fongique totale de blé tendre détectée sur milieu PDAc.

ND : indénombrable

La comparaison effectuée entre les flores fongiques révélées sur les trois milieux de culture permet de conclure que la moyenne de la flore fongique totale suit un ordre décroissant respectivement sur PDA, CDA et PDAc (Fig. 27). Et que la présence de celle-ci sur le blé dur ( $38.06 \times 10^2 \text{UF/g}$ ) est plus importante que sur le blé tendre ( $28.53 \times 10^2 \text{UF/g}$ ). (Fig. 28).

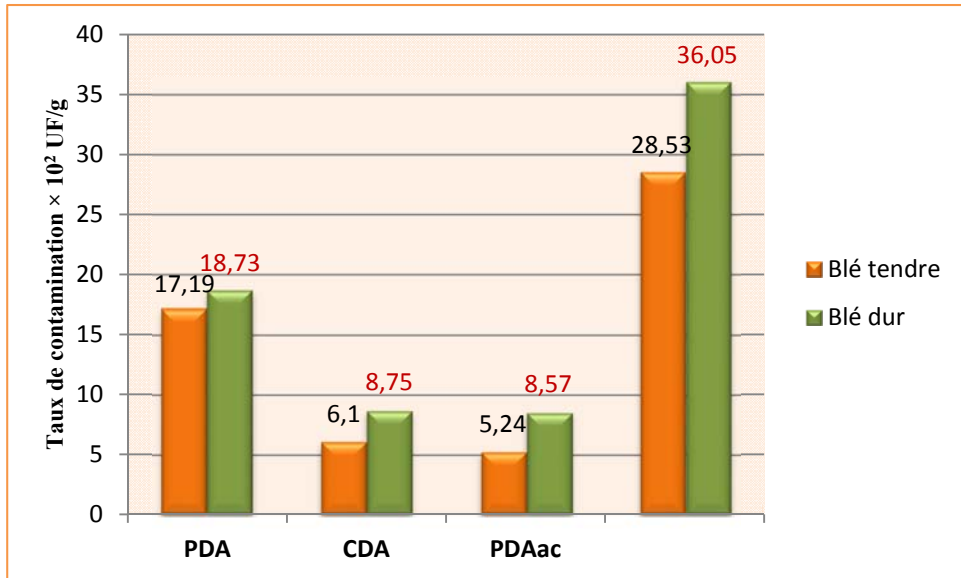


Figure 27. Moyenne de la flore fongique totale de blé dur et de blé tendre détectée sur les trois milieux

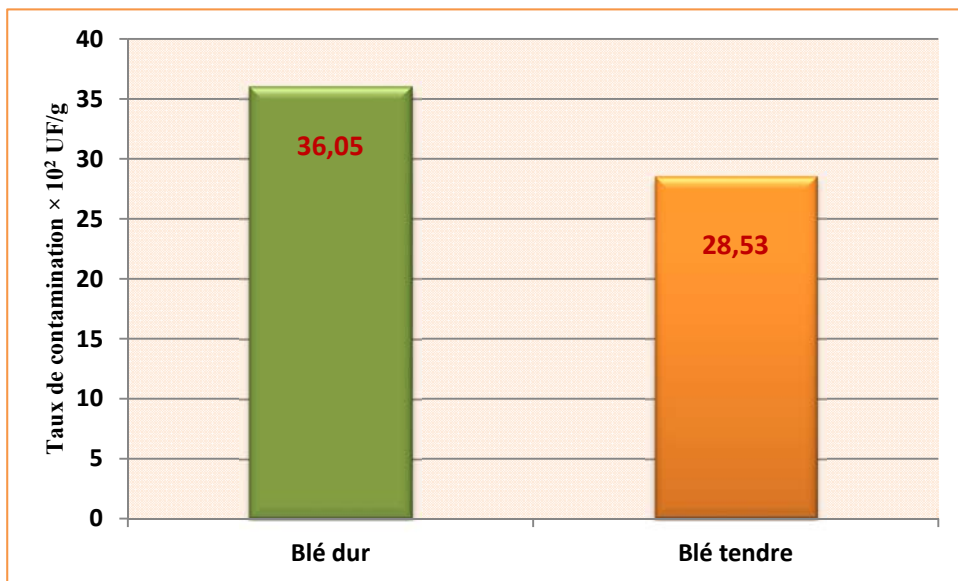


Figure 28. Moyenne de la flore fongique totale dénombrée sur le blé dur et sur le blé tendre

## 1.4. Activité antifongique des huiles essentielles

### 1.4.1. Rendements en huiles essentielles

Les rendements moyens en huiles essentielles des trois plantes ont été exprimés en ml par rapport à 100 grammes de matière végétale sèche (Tab. 4). Les trois huiles se caractérisent par une couleur jaune claire et limpide à odeurs pénétrantes.

**Tableau 4.** Rendements en huiles essentielles

Huiles essentielles	Rd (%)
<i>Ammoides pusilla</i>	0.05 %
<i>Pistacia lentiscus</i>	0.32 %
<i>Cedrus atlantica</i>	1,62 %

### 1.4.2. Essai d'activité antifongique des huiles essentielles

#### 1.4.2.1. Activité antifongique de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*

Dans le tableau 5, sont présentés les résultats de l'effet de la dose de l'huile essentielle des parties aériennes d'*Ammoides pusilla* sur les sept moisissures testées. L'examen des résultats montre que cette dernière a exercé un très bon pouvoir antifongique vis-à-vis de toutes les souches testées et ce avec les 2 doses. Les zones d'inhibition pour la première dose (10 $\mu$ l) varient entre 17 et 37 mm avec une inhibition totale des deux espèces à savoir ; *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus fumigatus*, où aucune croissance mycélienne n'a pu avoir lieu. En augmentant la dose (20 $\mu$ l), l'espèce *Aspergillus flavus* a été totalement inhibée. Tandis que pour les autres moisissures, les zones d'inhibition sont plus élevées et varient entre 32 et 53 mm (Fig. 29).

**Tableau 5.** Effet de la dose d'*Ammoides pusilla* (moyenne ± écart type)

Champignons	<i>Ammoides pusilla</i> (10 µl)	<i>Ammoides pusilla</i> (20 µl)	p
<i>Aspergillus flavus</i>	37,59 <sup>a</sup> ± 2,32	90,00 <sup>b</sup> ± 0,00	0,01
<i>Aspergillus ochraceus</i>	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	NS
<i>Aspergillus niger</i>	17,02 <sup>a</sup> ± 0,59	32,58 <sup>b</sup> ± 0,00	0,021
<i>Aspergillus fumigatus</i>	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	NS
<i>Penicillium sp<sub>1</sub></i>	33,21 <sup>a</sup> ± 0,00	53,97 <sup>b</sup> ± 1,19	0,01
<i>Penicillium sp<sub>2</sub></i>	32,86 <sup>a</sup> ± 0,22	35,16 <sup>b</sup> ± 1,19	0,01
<i>Fusarium verticillioides</i>	33,95 <sup>a</sup> ± 2,12	40,79 <sup>b</sup> ± 1,64	0,019

NS : non significatif.

Valeurs avec lettre différentes sur la même ligne, différent significativement entre elles

P. Probabilité

#### 1.4.2.2. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*

L'examen des résultats rapportés sur l'effet de l'huile essentielle des aiguilles du cèdre (Tab.6), montre qu'elle a une très faible activité antifongique vis-à-vis des sept moisissures testées et ce pour les deux doses. On n'a pas noté de zones d'inhibition pour la première dose (10 µl), uniquement sur l'espèce *Aspergillus ochraceus* où elle est égale à 7.91 mm. La croissance de la même moisissure est inhibée par la deuxième dose mais avec, encore une petite zone d'inhibition de 8.54 mm ; où on ne note pas de différence significative entre les deux doses ( $P > 0.05$ ), et de ce fait, l'espèce n'est pas considérée comme étant sensible. Cette dose de 20 µl n'a aucun effet inhibiteur sur les autres moisissures sauf pour l'espèce *Aspregillus niger*, qui, au même titre que l'espèce *A.ochraceus* enregistre une toute petite zone d'inhibition de 8.14 mm.

**Tableau 6.** Effet de la dose de *Cedrus atlantica* (moyenne  $\pm$  écartype)

Champignons	<i>Cedrus atlantica</i> (10 $\mu$ l)	<i>Cedrus atlantica</i> (20 $\mu$ l)	p
<i>Aspergillus flavus</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Aspergillus ochraceus</i>	7,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,66	8,54 <sup>a</sup> $\pm$ 0,51	NS 0,604
<i>Aspergillus niger</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	8,14 <sup>b</sup> $\pm$ 0,61	0,02
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Penicillium sp1</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Penicillium sp2</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Fusarium verticillioides</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS

NS : non significatif.

Valeurs avec lettre différentes sur la même ligne, différent significativement entre elles

P. Probabilité

#### 1.4.2.3. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

L'examen des résultats de l'effet des deux doses de l'huile essentielle des feuilles du lentisque, rapportés dans le tableau 7, indiquent un très faible pouvoir antifongique sur toutes les espèces de moisissures testées. De petites zones d'inhibition sont enregistrées uniquement pour l'espèce *Fusarium verticillioides*. La dose de 20  $\mu$ l de cette huile agit également sur l'espèce *Aspergillus ochraceus* avec une très petite zone d'inhibition de 8.54 mm.

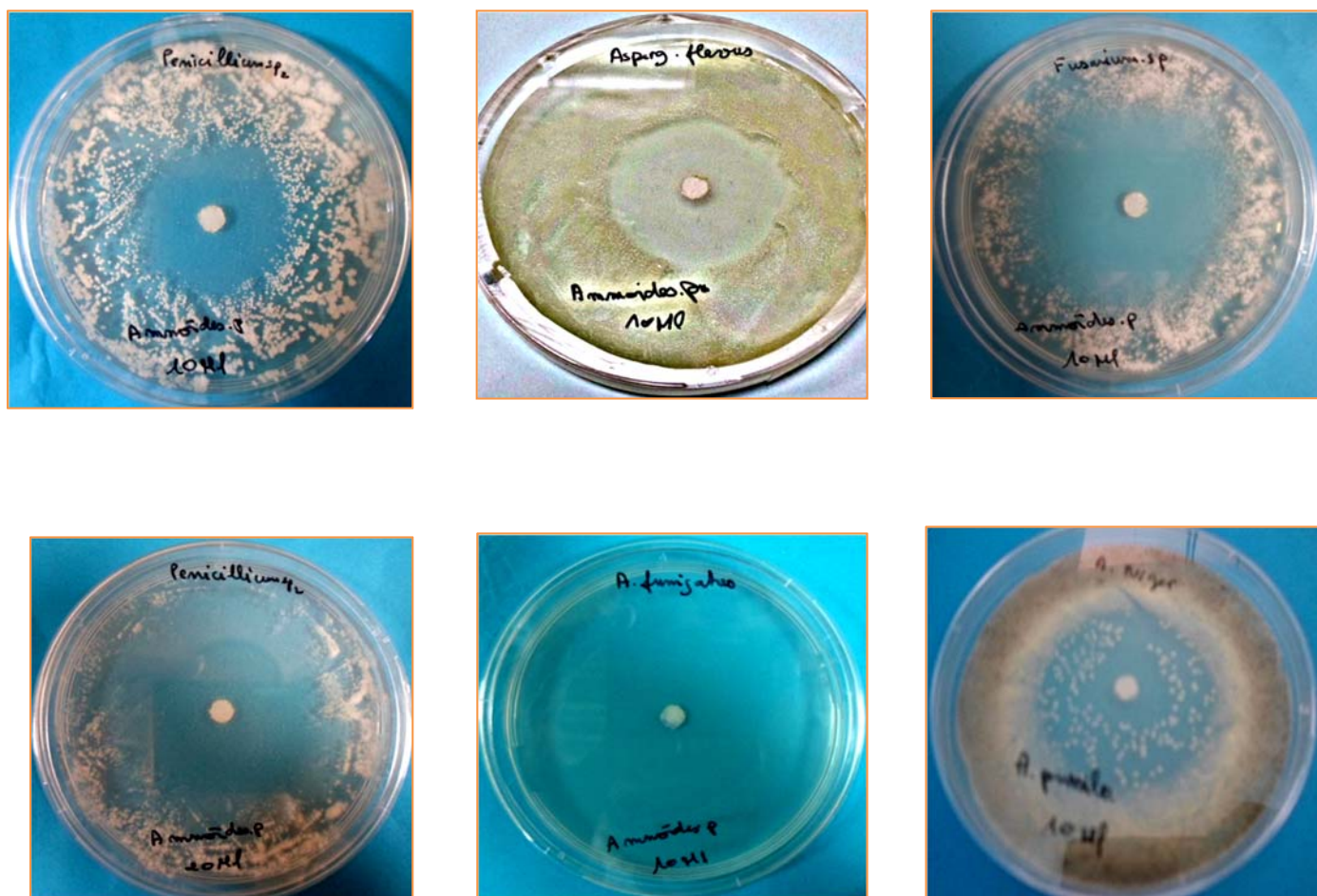
**Tableau 7.** Effet de la dose de la *Pistacia lentiscus* (moyenne  $\pm$  écartype)

Champignons	<i>Pistacia lentiscus</i> (10 $\mu$ l)	<i>Pistacia lentiscus</i> (20 $\mu$ l)	p
<i>Aspergillus flavus</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	8,54 <sup>b</sup> $\pm$ 0,80	0,03
<i>Aspergillus niger</i>	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	0,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	NS
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	NS
<i>Penicillium sp<sub>1</sub></i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	NS
<i>Penicillium sp<sub>2</sub></i>	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	NS
<i>Fusarium verticillioides</i>	8,67 <sup>a</sup> $\pm$ 0,49	9,34 <sup>a</sup> $\pm$ 0,74	0,08

NS : non significatif.

Valeurs avec lettre différentes sur la même ligne, différent significativement entre elles

P. Probabilité



**Photo 29.** Effet inhibiteur de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* (10µl /disque) sur les souches fongiques testées (**Photos originales**).



**Tableau 8.** La réponse en fonction du type des moisissures (moyenne ± écartype)

		<i>A.flavus</i>	<i>A.ochraceus</i>	<i>A.niger</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>F.verticillioides</i>
<i>Ammoides pusilla</i>	<b>10 µl</b>	37,59 <sup>a</sup> ± 2,32	90,00 <sup>b</sup> ± 0,00	17,02 <sup>c</sup> ± 0,59	90,00 <sup>b</sup> ± 0,00	33,21 <sup>d</sup> ± 0,00	32,86 <sup>d</sup> ± 0,22	33,95 <sup>d</sup> ± 2,12
	<b>20 µl</b>	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	32,58 <sup>b</sup> ± 0,00	90,00 <sup>a</sup> ± 0,00	53,97 <sup>c</sup> ± 1,19	35,16 <sup>d</sup> ± 1,19	40,79 <sup>e</sup> ± 1,64
<i>Cedrus atlantica</i>	<b>10 µl</b>	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	7,91 <sup>b</sup> ± 0,66	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
	<b>20 µl</b>	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	8,54 <sup>b</sup> ± 0,51	8,14 <sup>b</sup> ± 0,61	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
<i>Pistacia lentiscus</i>	<b>10 µl</b>	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	8,67 <sup>b</sup> ± 0,49
	<b>20 µl</b>	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	8,54 <sup>b</sup> ± 0,80	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	9,34 <sup>c</sup> ± 0,74

NS : non significatif.

Valeurs avec lettre différentes sur la même ligne, diffèrent significativement entre elles

#### 1.4.2.4. Comparaison de la réponse au traitement en fonction du type de moisissure

Les résultats rapportés dans le tableau 8, nous permettent de comparer entre les sept espèces de moisissures ayant subits un traitement de la même dose avec la même huile.

Comme cela a été rapporté dans la littérature (Djeddi *et al.*, 2007), une souche fongique est considérée comme étant extrêmement sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à  $\geq 20$  mm. L'examen des résultats nous révèle que toutes les moisissures étudiées appartenant à trois genres différents, se sont montrés extrêmement sensibles à l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*, à l'exception de l'espèce *Aspergillus niger* qui a enregistré le diamètre d'inhibition le plus petits à la dose 10  $\mu$ l, comparé aux autres moisissures. Ce diamètre d'inhibition est égal à 17.02 mm, et inférieur à 19 mm, ainsi l'espèce est considérée comme étant sensible. La première dose de cette huile (10  $\mu$ l) a été suffisante pour avoir une inhibition totale de deux espèces d'*Aspergillus* à savoir *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus ochraceus*. La plus grande surface d'inhibition est observée dans le cas d'*Aspergillus flavus*. En appliquant la deuxième dose, cette dernière est complètement inhibée. En revanche, cette fois la plus grande surface d'inhibition 53.97 mm est observée dans le cas de *Penicillium sp1*.

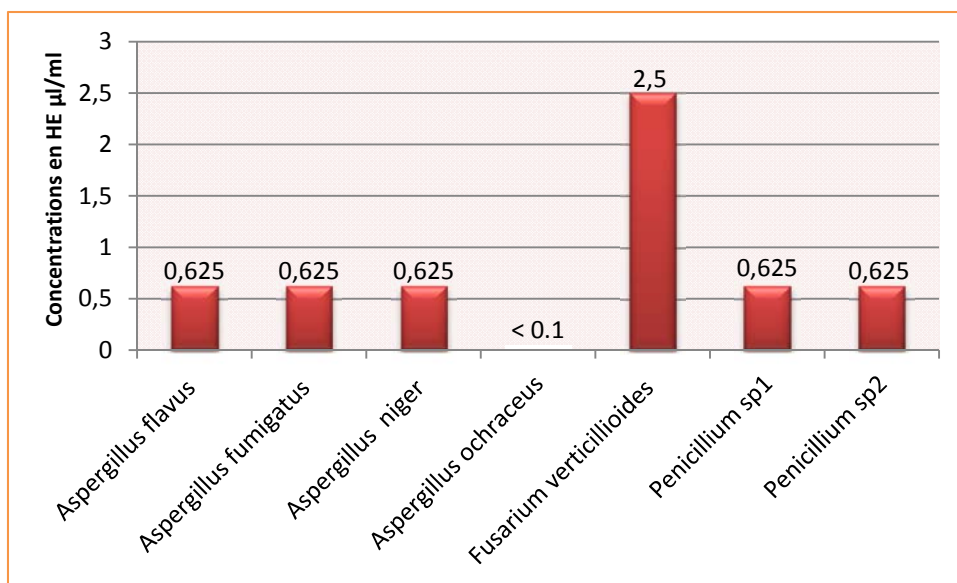
L'examen des résultats pour les deux huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et *Cedrus atlantica*, nous montre clairement que toutes les moisissures testées se sont montrés résistantes. La majorité des espèces se développent sans enregistrer la moindre inhibition par les huiles testées. Les espèces dont les diamètres d'inhibition sont inférieurs ou égales à 9 mm, comme la réponse de l'espèce *Fusarium verticillioides* envers l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*, ne sont pas pris en considération et l'espèce est qualifiée comme étant non sensible ou résistante à l'huile essentielle (Djeddi *et al.* 2007).

#### 1.4.2.5. Détermination de la CMI

L'analyse des résultats relatifs à la croissance des moisissures soumises à l'action de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* testée pour sa forte activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les moisissures étudiées, permet de déterminer la CMI ou la concentration minimale inhibitrice à partir de laquelle, aucune croissance n'est observée à l'œil nue (Fig. 30). En effet, la concentration de 0.625  $\mu$ l/ml était suffisante pour inhiber Cinq moisissures à savoir *A.flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *Penicillium sp1* et *Penicillium sp2*.

L'espèce *A.ochraceus* est la plus sensible à cette huile étant donné que sa croissance est inhibée à une concentration minimale inférieure à 0.1µl/ml. Tandis que l'espèce *F.verticillioides* est la plus résistante, elle n'est inhibée qu'à partir de 2.5µl/ml.

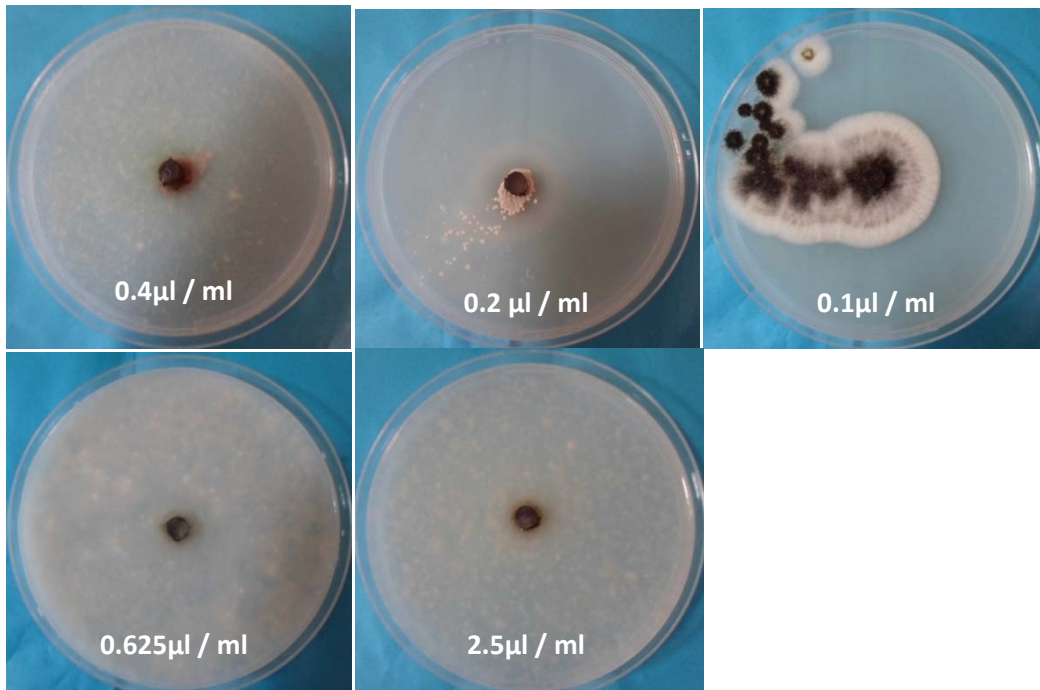
L'examen de la nature de cette activité révèle qu'il s'agit d'une activité fongistatique puisque la croissance de toutes les moisissures testées a repris sur le milieu PDA ne contenant pas de concentration en huile essentielle.



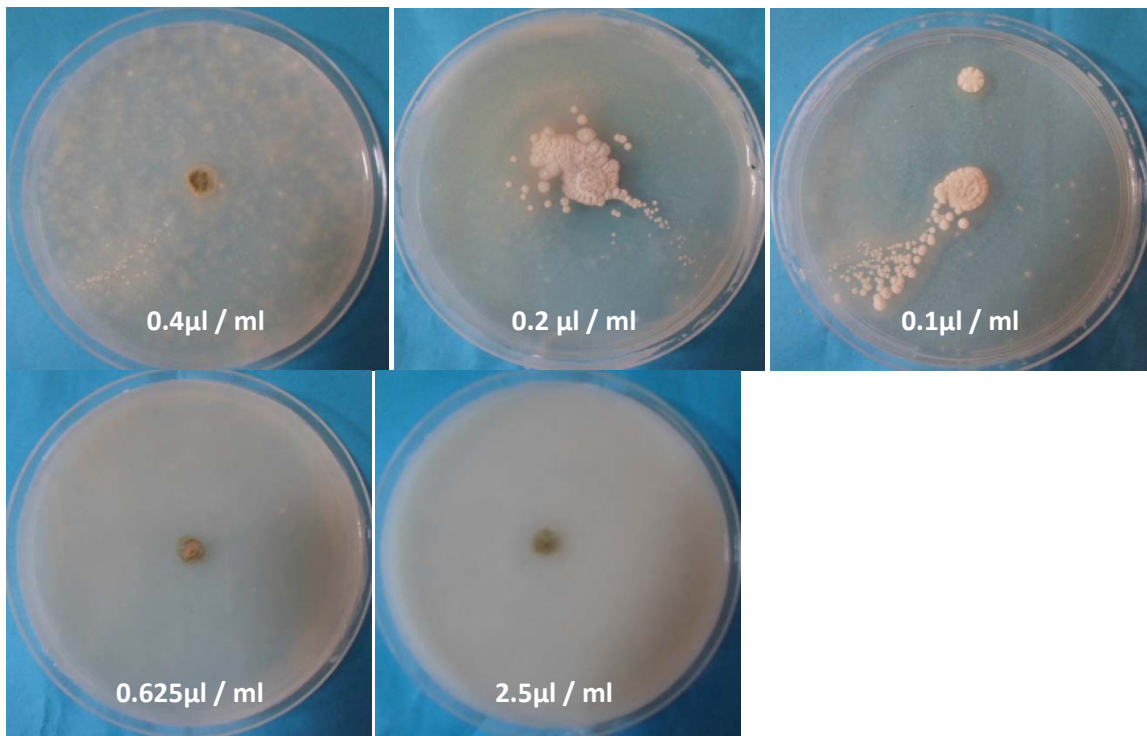
**Figure 30.** Résultats de la CMI de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*

### 1.4.2.6. Résultats de la CMI en photos

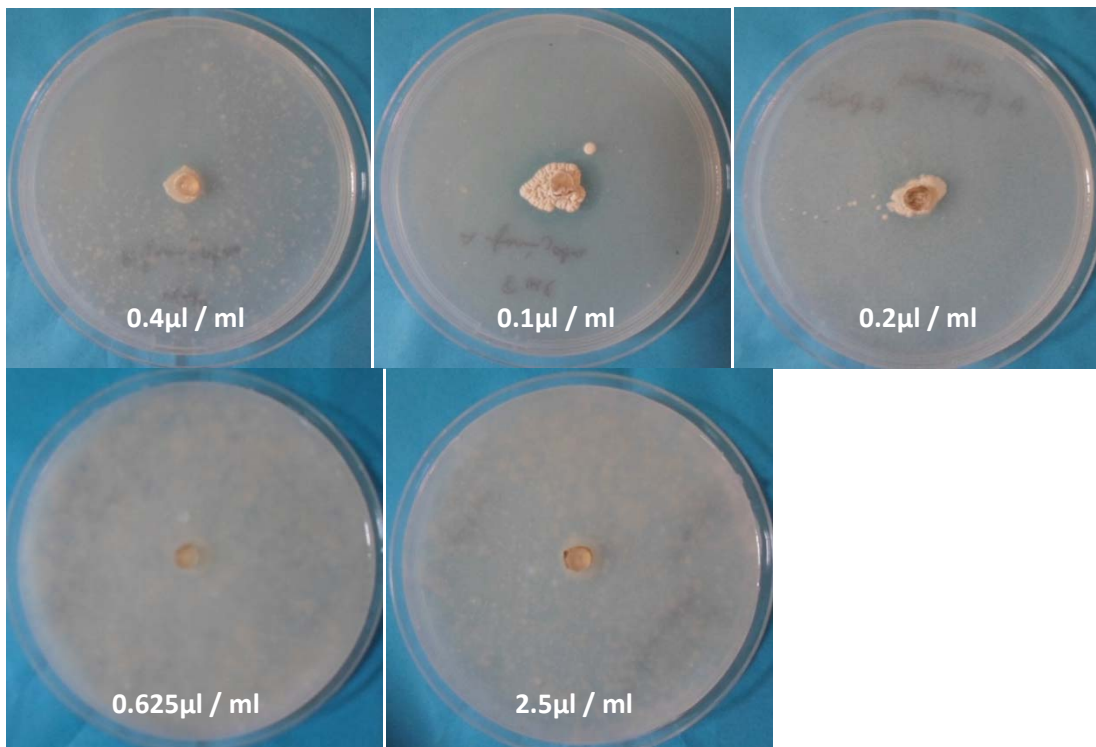
✓ *Aspergillus niger*



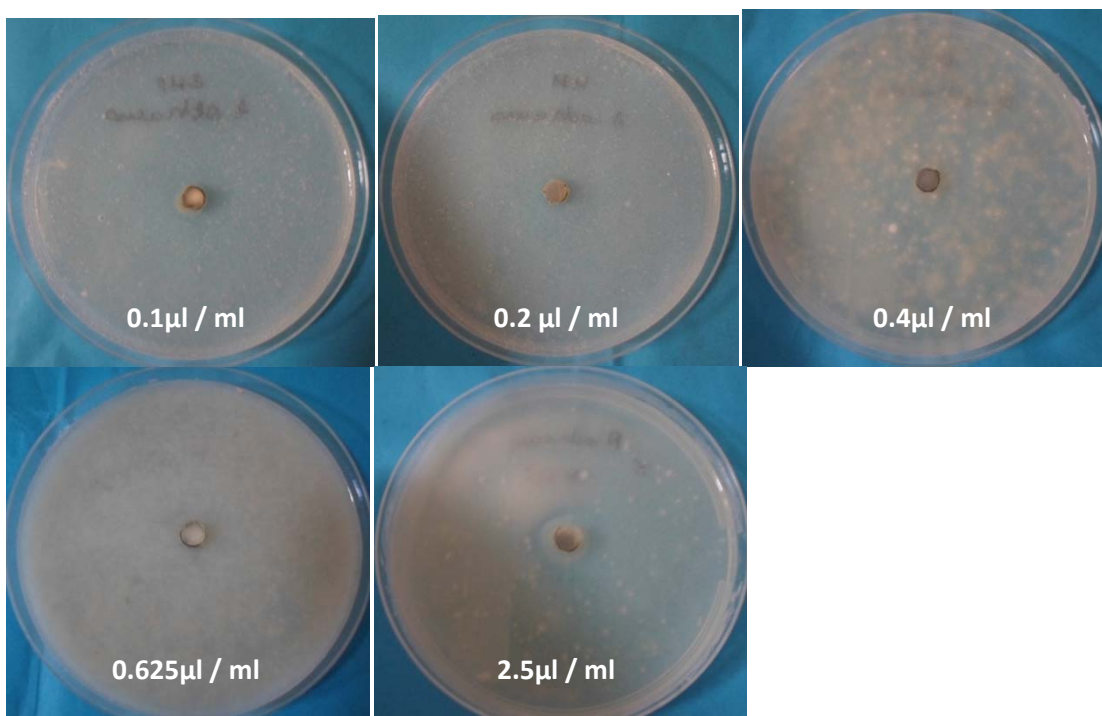
✓ *Aspergillus flavus*



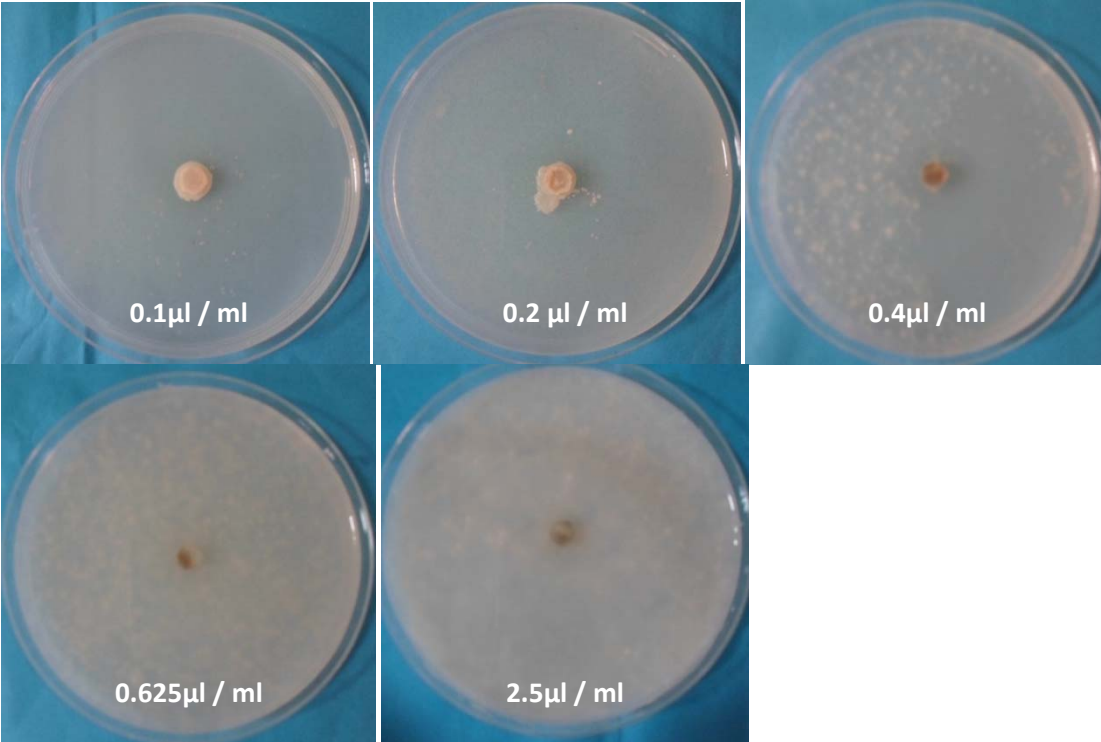
✓ *Aspergillus fumigatus*



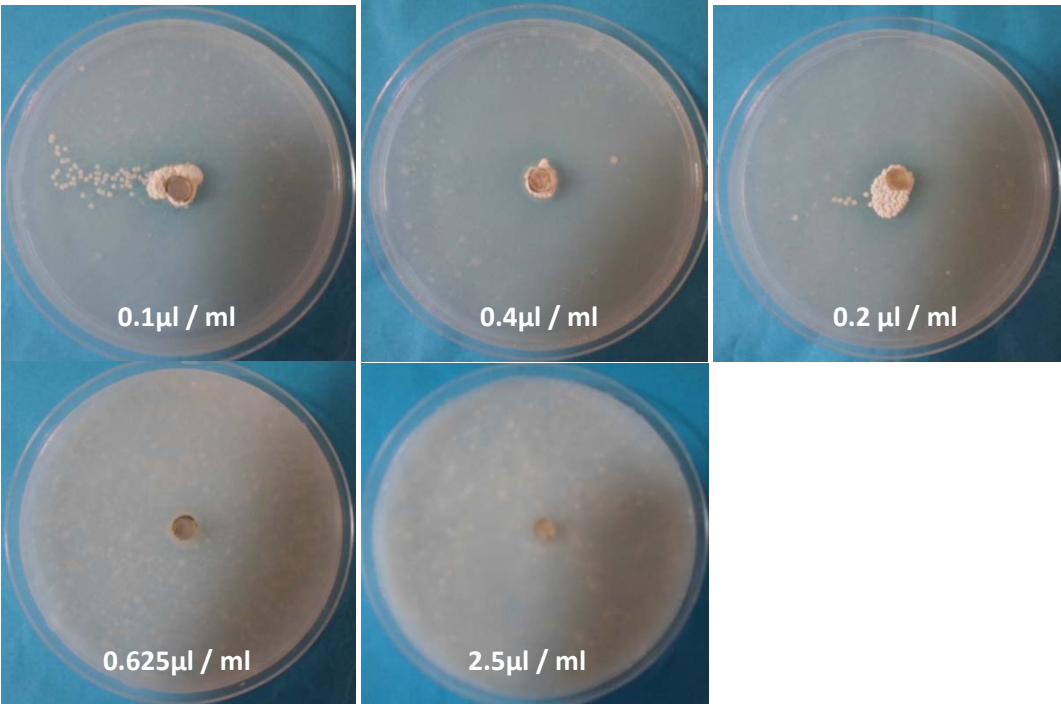
✓ *Aspergillus ochraceus*



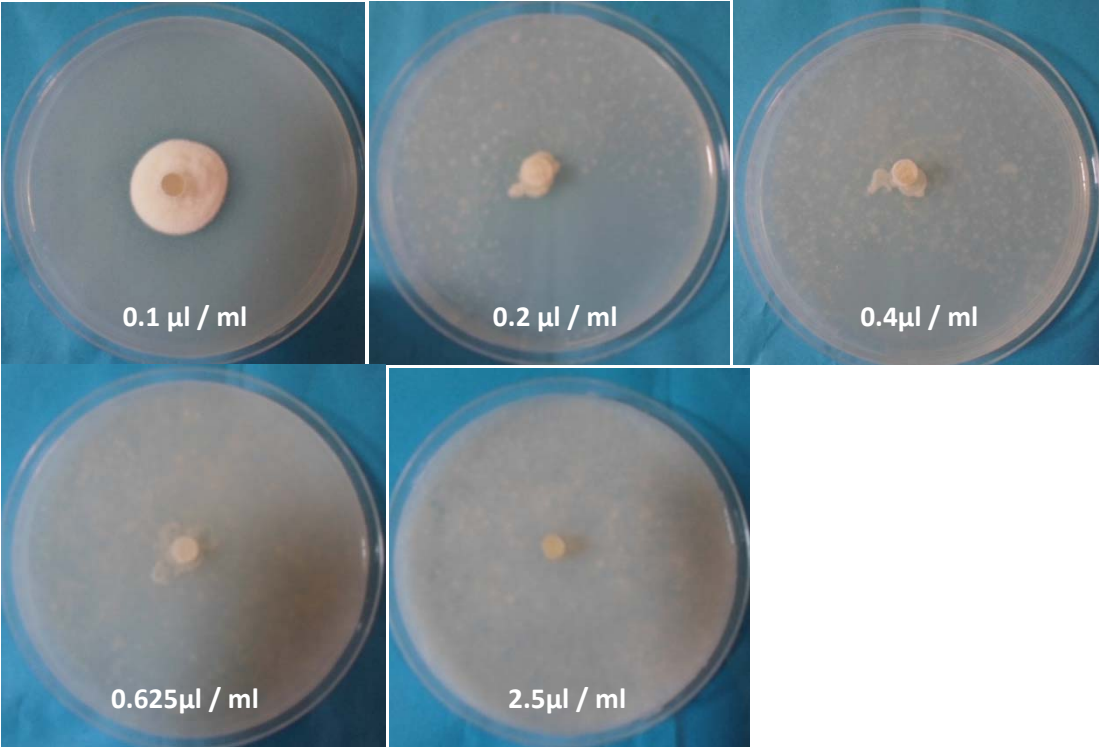
✓ *Penicillium sp1*



✓ *Penicillium sp2*



✓ *Fusarium verticillioides*



2. Discussion

## 2.1. Dénombrement et identification de la flore fongique

Pour mettre en évidence le maximum d'éléments d'une flore fongique, il est recommandé d'utiliser au moins deux milieux de culture gélosés (Moreau, 1996). Dans notre étude, nous avons choisit d'isoler les souches fongiques contenus dans les grains de blé, sur trois milieux à savoir PDA, CDA et PDAac. Ainsi, le PDA est un milieu organique à base de jus de pomme de terre et d'agar, ce qui favorise la sporulation des moisissures. Le CDA est un milieu minéral et le PDAac, un milieu à pH acide ce qui inhibe le développement des bactéries. Malgré ce choix, il est probable que certaines espèces soient sous-représentées par rapport à leur présence réelle dans les grains du blé.

Nos résultats d'isolement démontrent une charge fongique élevée sur le blé dur que sur le blé tendre. Cette flore fongique est composée par six genres de moisissures réparties en deux groupes ; ceux appartenant à la flore du champ (*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* et *Rhizopus*) et ceux appartenant à la flore post-récolte. Cette dernière est représentée essentiellement par 4 espèces d'*Aspergillus* et deux espèces de *Penicillium*. Nos résultats corroborent avec ceux trouvés par Belkacem-Hanfi et al. (2013) sur le blé dur en Tunisie et ceux avancés par Gacem et al. (2011) sur le blé tendre en Algérie.

Les genres les plus dominants sur le blé dur et le blé tendre sont respectivement *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Fusarium*. Par contre les espèces les plus dominantes sont *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*.

Selon Laïb (2012), si de très nombreuses études sont disponibles concernant la contamination mycotoxique des grains, les enquêtes sur la contamination fongique de ces matières premières sont plus rares. Cependant, Champion (1999), souligne que le taux d'infection des lots de grains de blé est extrêmement variable, il dépend des conditions climatiques de l'année et des conditions de récolte. Le développement des *Penicillium* et des *Aspergillus* s'accompagnent en générale d'une diminution du reste de la mycoflore. Or, dans notre étude, il apparait bien que ces deux moisissures ne présentent pas des taux très élevés, notamment les *Penicillium*. Ainsi, selon Moreau (1996), les conditions de récolte des grains et surtout celles de stockage ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que le facteur temporelle lié au stockage (Belkacem-Hanfi et al., 2013).

Pour mettre en évidence quelques espèces de moisissures, nous avons opté pour une identification sur critères morphologiques. Cette dernière s'avère longue et fastidieuse et



nécessite une expérience confirmée. De plus, les caractéristiques morphologiques et physiologiques sont influencées par les conditions de culture et peuvent amener à de mauvaises identifications (Diguta, 2010). L'observation des caractères morphologiques est faite par un examen microscopique soigneux aux divers stades du développement de la moisissure. Cet examen ne pourra, le plus souvent, être réalisé que si la moisissure a été isolée et cultivée sur un milieu de culture gélosé qui lui convienne.

Selon Moreau (1996), la description des caractères cultureux tels qu'ils se présentent dans des conditions précises (vitesse de croissance, texture et coloration des thalles, revers des cultures) peut apporter des éléments d'appréciation intéressante.

Aussi Champion (1999), signale que l'identification des *Aspergillus* est plus facile que celle des *Penicillium*. Ceci a été vérifié dans notre cas.

## 2.2. Essai d'activité antifongique

### 2.2.1. Les rendements moyens

En comparant les rendements moyens des trois plantes, on peut constater que l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation des feuilles du cèdre a donné un rendement plus important que celles du lentisque. Alors que le rendement de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* est le plus faible.

En effet, le rendement de l'huile essentielle du cèdre récolté à Chreaa (Blida) est de 1.62%, et se rapproche de ceux énoncés par Boudaren *et al.* (2004), qui notent que les feuilles du cèdre récoltées à Tala Guilef dans la région de Dujrdjura, donnent un rendement de 1.7% ; alors que dans la région des Aurès, 1.2%. En outre, Derwish *et al.* (2010), rapportent que les feuilles de *Cedrus atlantica* récoltées dans la région de Boulman au Maroc, enregistrent un rendement moyen de 1.82%. En revanche, ce rendement est faible par rapport à celui des huiles essentielles extraites des graines de la même plante au Maroc et qui, selon Ghafouri *et al.* (2014) atteint 3.6%.

Le rendement moyen de l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* de Tipaza est de 0.32%. Ce dernier est supérieur à ceux rapportés par Arab *et al.* (2014) dans la région de Boumerdes avec 0.25% et Benhammou & Atik-Bekkara (2009) avec 0.07% dans la région de Tlemcen. En revanche, il se rapproche de celui avancé par Gardeli *et al.* (2008) récolté dans la Zante (île grecque) pendant la période de floraison.

Quant à l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*, de Amoucha (Sétif), dont le rendement est le plus faible avec 0.05 %, comparé aux deux rendements précédents et inférieur à ce qui est rapporté dans la bibliographie. [Baby et al. \(2012\)](#) rapportent un rendement de 2.6% de l'huile essentielle extraite des fruits secs de *Carum copticum* Benth. and Hook. (syn *Ammoides pusilla*). Ainsi que [Kedia et al. \(2015\)](#) avec un rendement de 2.8%.

On peut conclure que d'une manière générale, les rendements en huiles essentielles des plantes semblent dépendre de la nature des parties de plantes utilisées, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante et la période de récolte ([Arab et al. 2014](#)).

### 2.2.2. Essais d'activité antifongique

Les résultats de ce travail préliminaire nous ont permis de mettre en évidence l'activité antifongique de trois huiles essentielles extraites de trois plantes différentes, à savoir, les parties aériennes d'*Ammoides pusilla*, ainsi que les feuilles de *Pistacia lentisqus* et *Cedrus atlantica* sur les moisissures du blé stocké.

Parmi les souches qu'on a pu isoler et identifier, on a choisit de mener le teste antifongique sur sept espèces redoutables par leur présence sur le blé à savoir *A.flavus*, *A.niger*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2* et *Fusarium verticilliodes*. Ce choix est également justifié par leur incidence dans l'élaboration de mycotoxines dangereuses pour la santé humaine et animale, comme les aflatoxines produites par *A.flavus* et les fumonisines produites par *F.verticilliodes*.

Nous avons procédé au teste antifongique par la méthode de dilution. C'est un teste préliminaire qui consiste en un criblage de l'activité antifongique de nos huiles essentielles. Il nous permet de sélectionner pour chaque espèce de moisissure, l'huile essentielle qui a un bon pouvoir antifongique parmi les trois huiles testées. C'est donc une étude qualitative. De cette dernière, il en ressort que l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* est sans réserve, très active sur l'ensemble des moisissures testées. Tandis que celles du lentisque et du cèdre, ont montré une très faible activité antifongique vis-à-vis de ces mêmes moisissures étudiées.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par [Kedia et al. \(2015\)](#). Ces derniers rapportent que cette huile essentielle est dotée d'un large spectre de toxicité fongique causant l'inhibition totale de la croissance de 19 moisissures d'altération des aliments dont les espèces *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.flavus*, *Penicillium sp* et *Fusarium sp* isolées à partir du blé. En outre,

Böhme *et al.* (2014) rapportent que cette huile essentielle inhibe complètement la croissance d'*Aspergillus parasiticus*. Singh *et al.* (1979) in Kamal jeet *et al.* (2012) ont noté un pourcentage d'inhibition allant de 72 à 90 % de la croissance de dix champignons, dont l'espèce *Fusarium chlamydosporum*. De même, Singh *et al.* (2004) in José Abad *et al.* (2007) rapportent que cette huile cause l'inhibition totale de la croissance de plusieurs moisissures telles que ; *A.niger* et *F.moniliforme* à une dose de 6µl. Les mêmes résultats sont observés également contre les bactéries. Ainsi, Singh *et al.* (2007) rapportent que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Trachyspermum ammi* (syn. *Ammoides pusilla*) évaluée par la méthode de diffusion sur milieu solide cause une inhibition totale de la croissance de *Bacillus subtilis* à la dose de 10µl.

En effet, l'activité antifongique élevée de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* peut être expliquée par sa richesse en thymol qui est un composé phénolique majeur présent dans celle-ci (Sharifimood *et al.*, 2014 ; Moazeni *et al.*, 2012 ; Goudarzi *et al.*, 2011 ; Abdelouahid & Bekhichi, 2004). Ceci est confirmé par Bekhichi (1997) in Felidj *et al.* (2010), qui a constaté des teneurs très importantes en Thymol, Limonène,  $\gamma$ -Terpinène,  $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ - pinène d'après les résultats de l'analyse de la composition chimique de cette huile essentielle, ce qui lui confère une importante action stimulante et un remarquable pouvoir antimicrobien. Par ailleurs, Abdelouahid et Bekhichi (2004), ont démontré que cette huile extraite des plantes récoltées dans la région de Tlemcen, est plus active sur les champignons que sur les bactéries et que son activité s'avère plus intéressante comparativement aux antifongiques classiques utilisés.

D'après Cheurfa (2013), les composés chimiques de grandes efficacité antimicrobienne sont les phénols (thymol, carvacrol), les alcools ( $\alpha$ -terpinène et Linalol), les aldéhydes, des cétones, et plus rarement les terpènes.

Les résultats de cette étude qualitative, méritent une étude quantitative qui consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Ainsi, cinq espèces de moisissures ont exprimé une sensibilité similaire à l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* puisqu'elles ont été inhibées à la même concentration minimale inhibitrice de 0.625 µl/ml. On remarque aussi qu'il y'a une efficacité d'inhibition plus marquée de cette huile essentielle sur la croissance de l'espèce *Aspergillus ochraceus*, dont la CMI est inférieur à 0.1µl/ml. Cette même espèce s'est montrée extrêmement sensible et a été complètement inhibée par les deux doses 10 et 20µl. La CMI la plus élevée est observée pour l'espèce *F.verticilliodes* et qui atteint 2.5µl/ml. L'huile essentielle a présenté un effet fongistatique pour toutes les espèces de moisissures.

Des résultats similaires ont été trouvés par [Kedia et al. \(2015\)](#) qui notent une inhibition totale de l'espèce *A.flavus* à une CMI de 0.8µl/ml. Selon [Sharma & Tripathi \(2006\)](#), la différence dans les valeurs des CMI obtenues des huiles essentielles dépend particulièrement de la méthode utilisée.

Le pouvoir antifongique de ces huiles essentielles, ont fait l'objet de nombreuses études *in vitro*. Cependant, les différentes méthodes utilisées pour évaluer cette activité ne permettent pas de faire la comparaison entre les huiles des différentes espèces végétales étudiées ([Giordani & Kaloustian, 2006](#)).

Plusieurs travaux ont étudié le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons. Ainsi, le mode d'action de l'effet fumigant de l'huile essentielle d'*Ammoïdes pusilla* sur l'espèce *A.flavus* a été étudié par [Kedia et al. \(2015\)](#) et montre des perturbations au niveau de la membrane plasmique des hyphes. Ces derniers paraissent avec des conidiophores et conidies déformées et des dépressions visibles en comparaison avec les hyphes du témoin. Les degrés d'anomalie augmentent en fonction de la concentration de l'huile essentielle. Ces distorsions peuvent être dues à la fuite du contenu des cellules. Par conséquent, la membrane plasmique des champignons est la principale cible des huiles essentielles.

En outre, les mêmes auteurs ont mesuré la quantité d'ergostérol dans la membrane plasmique. Ce dernier, est un constituant essentiel de la membrane fongique qui assure le maintien de la fonction de la cellule et de son intégrité. Une diminution dose-dépendante de la teneur en ergostérol a été observée avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle. Celle-ci Inhibe la synthèse de l'ergostérol dans la cellule du champignon d'où l'effet antifongique (fongistatique) résultant de cette inhibition. Stoppant ainsi la croissance des champignons.

D'après [Paul et al. \(2011\)](#), la plupart des études sur le mécanisme de composés phénoliques se sont concentrées sur leurs effets sur les membranes cellulaires. En fait, non seulement ces composés phénoliques attaquent les membranes cellulaires, affectant ainsi leur perméabilité et la libération de constituants intracellulaires. Mais aussi interfèrent avec les fonctions de la membrane telle que le transport d'électrons, l'absorption des nutriments, la synthèse des protéines et des acides nucléiques et l'activité enzymatique. Ainsi, ils expliquent dans leur étude que l'activité bactériostatique des composés phénoliques comme le thymol contenu dans les huiles essentielles d'*Ammoïdes pusilla* peuvent avoir plusieurs cibles envahissantes qui pourraient conduire à l'inhibition des bactéries testés.

Nos résultats obtenus pour la faible activité antifongique de *Cedrus atlantica* corroborent avec ceux de Ghafouri et al. (2014), qui ont étudié l'activité antifongique de l'huile essentielle des grains du cèdre récoltés au Maroc contre trois espèces de moisissures dont *A.niger*, *P.expansum* et *P.digitatum*. Ces derniers n'ont enregistré aucune inhibition de l'huile essentielle. Nos résultats concordent également avec ceux de Shin (2003) qui n'a noté aucune inhibition par la même méthode de diffusion de cette huile essentielle extraite des bois du cèdre sur la croissance d'*Aspergillus flavus* et *A.niger*. Ceci est principalement dû à leur composition chimique riches en hydrocarbures terpéniques et pauvre en terpènes phénoliques (Ghafouri et al. 2014).

Contrairement au cèdre, Mansouri et al. (2010) rapportent que les huiles essentielles des rameaux du genévrier ; *Juniperus thurifera* et *Juniperus oxycedrus*, riches en pinènes avec respectivement 36,26 % et 52,13 %, montrent une efficacité contre toutes les espèces de moisissures testés à savoir *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*. Or que notre huile essentielle est très pauvre en pinènes (5.6 – 23.4%), et ce d'après les résultats du profil chimique rapportés par Boudaren et al. (2004) en Algérie.

Nos résultats obtenus pour l'activité antifongique de *Pistacia lentiscus* semblent en accord avec ceux rapportés par Koutsoudaki et al. (2005) ou les bactéries testés ont montré une résistance aux huiles essentielles extraites de la résine du lentisque.

D'après Boucharouch et al. (2010), l'huile essentielle de *P.lentiscus* serait riche en monoterpénoïdes. Ces derniers sont connus pour leur efficacité contre les champignons (Singh et al., 2002). Or, dans notre cas c'est le contraire, ceci peut être expliqué probablement par un faible taux de ces composants dans l'huile essentielle, comme le souligne Khia et al. (2014). Ces auteurs rapportent une faible activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes de *Rosmarinus officinalis* de provenance différente contre 3 moisissures, à savoir *Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum* et notent qu'elle est dû au taux réduit du camphre et verbenone dans l'huile essentielle, ces deux constituants sont connus dans la littérature comme étant des agents antimicrobiens actifs.

En somme, d'après nos résultats sur l'activité antifongique des trois huiles essentielles testées, il en ressort que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs

proportions jouent un rôle déterminant (Laib, 2012). En outre, des études ont prouvé que l'activité antifongique des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des huiles (Ghanmi *et al.*, 2010).

# Conclusion générale

## Conclusion et perspectives

Les fongicides chimiques ont certes permis l'amélioration des rendements en agriculture et la protection des denrées stockées. Cependant leur utilisation abusive a engendré à long terme l'apparition de phénomène de résistance, en plus de la pollution de l'environnement. De ce fait, la recherche continue de nouveaux produits antifongiques reste donc une nécessité à laquelle il faut répondre et la stratégie de développer de nouvelles molécules à partir de substances végétales peut ainsi être intéressante (Amri *et al.*, 2013).

Au terme de cette étude, on remarque que l'isolement des moisissures à partir des variétés de blé dur et de blé tendre, sur différents milieu de culture PDA, CDA et PDAac, a permis d'identifier 10 souches, à savoir : *Aspergillus niger*, *A.flavus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Fusarium verticillioides*, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp*.

Ainsi, sur le milieu PDA, les genres les plus prédominants sont les *Aspergillus* avec une contamination qui atteint  $11.95 \times 10^2$ UF/g chez le blé dur et  $10.32 \times 10^2$ UF/g chez le blé tendre. Sur le milieu CDA, la contamination est dominée par les deux espèces *Aspergillus flavus* et *A.niger* avec respectivement  $2.93 \times 10^2$ UF/g et  $2.6 \times 10^2$ UF/g. sur le blé dur et  $1.4 \times 10^2$ UF/g et  $1.86 \times 10^2$ UF/g sur le blé tendre, de même sur le milieu PDAac, avec respectivement  $2.46 \times 10^2$ UF/g et  $2.06 \times 10^2$ UF/g.

Les résultats des rendements moyens d'extraction des huiles essentielles de *Cedrus atlantica*, *Pistacia lentiscus*, et *Ammoides pusilla* sont de 1.62%, 0.32% et 0.05% respectivement. Ces rendements semblent influencés par plusieurs facteurs responsables de cette variabilité, dont les plus importants sont le climat, le sol, la période de récolte et la méthode de conservation et d'extraction (Amarti *et al.*, 2011).

Nous avons évalué la sensibilité de sept moisissures isolées à partir du blé, à savoir ; *Aspergillus flavus*, *A.niger*, *A. fumigatus*, *A.ochraceus*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp* vis-à-vis de ces trois huiles essentielles. Les zones d'inhibition d'*Ammoides pusilla* à la dose 10µl varient entre 17 et 37 mm pour *Aspergillus niger* et *A.flavus* respectivement. En revanche, à 20µl, l'espèce *Aspergillus flavus* a été totalement inhibée.

Pour l'espèce *Cedrus atlantica*, la zone d'inhibition de l'espèce *A.ochraceus* est faible de l'ordre de 7.91 et 8.54 mm à 10 et 20 µl respectivement. Enfin, à ces mêmes doses



respectives, *Pistacia lentiscus*, provoque une zone d'inhibition de l'espèce *Fusarium verticillioides* de 8.67 et 9.34 mm.

Ainsi, cinq espèces de moisissures, à savoir, *A.flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *Penicillium sp1* et *Penicillium sp2*, ont exprimé une sensibilité similaire à l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*, à une concentration minimale inhibitrice de 0.625 µl/ml. De plus, l'espèce *A.ochraceus* est la plus sensible avec une CMI inférieur à 0.1µl/ml. Tandis que l'espèce *F.verticillioides* est la plus résistante, avec une CMI à partir de 2.5µl/ml. Enfin, l'huile essentielle de cette espèce dont le composé majoritaire est de nature phénolique, a montré un large spectre d'inhibition sur les 3 genres, à savoir, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Ce qui représente une efficacité antifongique remarquable.

En perspective, et afin d'élucider certains points qui sont restés partiels, il serait intéressant :

- ✓ De mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*, afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés responsables de cette activité antifongique.
- ✓ D'étudier le mode d'action des huiles essentielles pour maximiser leur exploitation et leur utilisation comme fumigants dans la protection des céréales stockées.
- ✓ De caractériser le potentiel des souches fongiques productrices de mycotoxines et d'évaluer l'activité antimycotoxinogène de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla*.

En somme, aucune méthode ne devrait être ignorée ou négligée contre les moisissures, dans l'esprit de développer au niveau des céréales stockées un concept de lutte intégrée.

# Références bibliographiques

- **Anonyme, 2012** – *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 3p.
- **Abdelouahid D.E., Bekhechi C., 2004.** Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nûnkha), Biol et Santé 4 (2), 1-10.
- **Abd-Elhady H. K., 2012-** Insecticidal activity and chemical composition of essential oil from *artemisia judaica* l. against *callosobruchus maculatus* (f.) (coleoptera: bruchidae), journal of plant protection research, Vol. 52, N°. 3 : 352-358.
- **Abis S., 2012.** Le blé en Méditerranée : sociétés, commerce et stratégies. Économie et territoire, relations commerciales. CIHEAM. Paris. 241-247.
- **Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlick B., White N. D.G., 2001-** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les céréales. 58 p.
- **Afzal H., Shazad S. et Qamar Un Nisa S., 2013.** Morphological identification of *Aspergillus* species from the soil of Larkana District (Sindh, Pakistan). Asian J Agri Bio, 1(3):105-117.
- **Amarti F., El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A., Khia A., Guedira A., Rahouti M. et Chaouch A., 2011.** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. Springer-Verlag France .Phytothérapie 9:149–157.
- **Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Gargouri S. et Jamoussi B., 2013.** Propriétés antifongiques des huiles essentielles de *Biota orientalis* L. Springer-Verlag France. Phytothérapie, 1-5.
- **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aaarab L., El Ajjouri M., Chaouch A., - 2010.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc, Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 14, 141-148.
- **Aydin A., Aksu H. et Gunsen U., 2011.** Mycotoxin levels and incidence of mould in Turkish rice. Environ Monit Assess 178:271–280.
- **Arab K., Bouchenak O., & Yahyaoui K., 2014-** Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L., J. fundment. Appl. Sci. 6 (1) : 79-93.
- **Battais F., Richard C. et Leduc V., 2007.** Les allergènes du grain de blé. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique 47, 171–174.

- **Baby C., Gopal K., & Mohamed A., 2012-** Composition of volatile oil of *Carum Copticum* Benth. And Hook fruits., International Research Journal of Pharmacy, (7) : 131-132 pp.
- **Boudra, H., 2009** - Les mycotoxines dans les fourrages : un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants. *Fourrages*, 199, 265-280.
- **Berhaut P., Le Bras A., Niquet G., Griaud P., 2003-** Stockage et conservation des grains à la ferme, ARVALIS, Institut du végétale, Ed. Tec et Doc, Paris, 108 P.
- **Bessot J.C., Metz-Favre C. de Blay F. et Pauli G., 2011.** Acariens de stockage et acariens pyroglyphides : ressemblances, différences et conséquences pratiques. *Revue française d'allergologie* 51 ; 607-621 pp.
- **Barrett J. R., 2000.** Mycotoxins of Molds and maladies. *Environmental Health Perspectives*, Vol 108, n°1. 20-23.
- **Boutibonnes P., Auffray Y., Malherbe C., Kogbo W., Marais C., 1984** - Propriétés antibactériennes et génotoxiques de 33 mycotoxines. *Mycopathologia* 87, 43-49 pp.
- **Bourais I., & Amin A., 2006-** Aflatoxines toxiques redoutables dans nos aliments, *Les technologies de laboratoire*, 4-8 pp.
- **Bruneton J., 1999-** Pharmacognosie Phytochimie : Plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition. Ed. Tec et Doc, Paris, 1120p.
- **Burt S., 2004** - Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223 – 253 pp.
- **Bouchikhi Tani Z., Bendahou M. et Khelil M.A., 2010.** Lutte contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* et la mite *Tineola bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'Algérie. *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, No. 1 ; 55-68
- **Boukssaim h., Ghanmi m., Satrani b., Aafi a., Aberchane m., Khia a., Alaoui m.s.b., Chaouch a., et Farah a., 2013** - Caractérisation chimique et microbiologique des huiles essentielles des rameaux, des cônes et du bois de *Cupressus atlantica*, arbre forestier endémique du Maroc. *Phytothérapie* 11:294-300 pp.
- **Belhattab R., Larous L. , Kalantzakis G., Boskou D. et Exarchou V., 2004.** Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Food, Agriculture & Environment* Vol.2 (1) : 69-73.
- **Belkacem-Hanfi N., Semmar N., Perraud-Gaime I., Cherni M., Cherif I., Boudabous A., Guesmi A. et Roussos S., 2013.** Spatio-temporal analysis of post-

harvest moulds genera distribution on stored durum wheat cultivated in Tunisia. Journal of Stored Products Research 55 116\_123.

- **Bardeau F., 2009-** Les huiles essentielles : Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Ed. Fernand Lanore, France, 315p.
- **Benhammou N. & Atik Bekkara F., 2009.** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). Ennabili (éd.) 2009. *Recherches sur les plantes aromatiques et médicinales*. Actes du congrès international des 22-24 mars 2007, Mezraoua (Taounate) & Fès, Maroc, 281-285.
- **Bencharif A., Rastoin J.L., 2007.** Concepts et Méthodes de l'Analyse de Filières Agroalimentaires : Application par la Chaîne Globale de Valeur au cas des Blés en Algérie. UMR Moisa, Montpellier :Working Paper ; n° 7, 23 p
- **Boucharouch O., Mediouni Ben-Jemâa J., Wissem W.,A., Talou T., Marzouk B., Abderraba M., 2010-** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research 46 : 242-247.
- **Butt M.S., Nasir M., Akhtar S., Sharif K., 2004-** Internet journal of food safety, Vol 4 : 1-6.
- **Caid-Serghini H., Ecchemmakh T., Elamrani A., Khalid A., Boukroute A., Mihamou A., Demandre C., 2008-** Altérations accompagnant le vieillissement accéléré de blé tendre. Cahiers Agricultures vol. 17, n°1 : 39-44.
- **Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T., Villard j. 2005-** Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). Revue Francophone des Laboratoires, N°373 :61-66.
- **Cahagnier B., 1998-** Céréales et produits dérivés. In : Bourgeois C. M., Mesclé J.-F., Zucca J. (coord.). *Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 392-414.
- **Cahagnier B., 1998-** Moisissures des aliments peu hydratés. Tech & Doc, Paris , 222p
- **Champion R., 1997 -** Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France, 398 p.
- **Couic-marinier F., Lobstein A., 2013 -** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques N° 525, 22-25 pp.
- **Caillet S., & Lacroix M., (2007)-** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de

Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).

- **Chizzola R., 2013-** Regular monoterpenes and Sesquiterpenes (Essential oil), Natural Products, Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2974-3008 pp.
- **Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., & Penn P., 2002-** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, 157 pp.
- **Diguta C. F., 2010-** Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisins. Thèse Doc. Univ. De Bourgogne, Institut universitaire de la vigne et du vin, 154p.
- **Dealarras C., 2007-** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec &Doc ; éditions médicales internationales, pp 776
- **Devi M.P., Chakrabarty S., Ghosh S.K., Bhomick N., 2015 –** Essential oil : its economic aspect extraction, importance, uses, hazards and quality *In* Sharangi A.B., Datta S. (coord.). *Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Directions*. Ed. Springer, India, 342 p.
- **Desmares C., Laurent A. & Delerme C., 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS*. Anatole, France, 18p.
- **Dufresne P., & St-Germain G., 2013-** Identification des champignons d'importance médicale : Stage de laboratoire, Laboratoire de Santé Publique du Québec, 57 p.
- **Derwich E., Benziane Z., & Boukir A., 2010-** Chemical composition and *in vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *Int. J. Agric. & Biol. Sci.*, 12 : 381-385 pp.
- **Derbré S., Licznar-Fajardo P., & Sfeir J., 2013 -** Intérêt des huiles essentielles dans les angines à *Streptococcus pyogenes*. *Actualités pharmaceutiques* n° 530 ; 46-50.
- **De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P., Marquier P., 2002-** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles, *Hygiène*, Vol X, N° 3, 248- 250.
- **Djenane D., Yangüela J., Montañés L., Djerbal M. & Roncalés P., 2011-** Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22; 1046-1053.

- **Djeddi S., Bouchenah N., Seattar I., Skaltsa H.D., 2007-** composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria, *Chemistry of natural compounds* ; Vol. 43 ; N°4.2007.
- **Djermoun A., 2009-** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, *Revue Nature et Technologie*, N°1, 45-53.
- **Doukani K., Tabak S., Gourchala F., Mihoub F., Ounes M., Benbaguara M., 2013-** Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par stockage souterrain (Matmora), *Revue Ecologie-Environnement* (9).
- **Ebadollahi A., Rahimi-Nasrabadi M., Batooli H. et Geranmayeh J., 2013.** Evaluation of the insecticidal activities of three *Eucalyptus* species cultivated in Iran, against *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal Of Plant Protection Research*, Vol. 53, No. 4; 347-352.
- **Fredot E., 2012-** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 613p.
- **Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M., 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *salvia Officinalis*.L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.Soc.Alger.Chim.*, 2006, 16(2), 193-202.
- **Farah A., Satrani B., Fechtal M., Chaouch A. et Talbi M., 2014.** Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583). *Acta Botanica Gallica*, 148:3, 183-190.
- **Filténborg O., Frisvad J.C. et Thrane U., 1996.** Moulds in food spoilage. *International Journal Of Food Microbiology* 33; 85-102.
- **Feillet P., 2000-** Le grain de blé : Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 154p
- **Fandohan P., Gbenou J., Gnonlofin B., 2004-** Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and Fumonisin contamination in Corn. *J.Agric.Food Chem.*52 : 6824-6829 pp.
- **Foughali M., 1987-** Stockage et conservation des céréales ; cas de la coopérative de céréales et de légumes secs de Khmis meliana, Thèse Ing. 75p
- **Gueye M. T., Seck D., Wathelet J.-P. Lognay G., 2011 -** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(1), 183-194 pp.

- **Gwimer J., Harnisach R., Mück O., 1996-** manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p.
- **Guiraud J. P., 1998-** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330.
- **Gibson A.M., Baranyi J., Pitt J.I., Eyles M.J. et Roberts T.A., 1994-** Predicting fungal growth: the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. *Food Microbiology* 23 (1994) 419-431.
- **Gelinas P., 1995-**Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.
- **Guiraud J P., & Rosec J P., 2004-** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, Ed. AFNOR, Saint-Denis-la-plaine, France, 300pp
- **Giordani R., Hadeff Y. et Kaloustian J., 2008-** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79 (2008) 199–203.
- **Giordani R. et Kaloustian J., 2006.** Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytotherapie* (2006) Numéro 3:121-124.
- **Grbic M.L., Stupar M., Vukojevic J., Grubišic D., 2011-** Inhibitory effect of essential oil from *Nepeta rtanjensis* on fungal spore germination, *Cent. Eur. J. Biol*, 6(4): 583-586.
- **Gacem M.A., Ould El Hadj Khelil A. Et Gacemi B., 2011.** Etude de la qualité physico-chimique et mycologique du blé tendre local et importe stocke au niveau De L’office Algérien Interprofessionnel Des Céréales (OAIC) de La Localité De Saida (Algérie). *Algerian journal of arid environment* vol. 1, n° 2, Décembre 2011: 67-76.
- **Ghanmi M. , Satrani B., Aafi A. , Isamili M.R. , Houti H. , El Monfalouti H., Benchakroun K.H. , Aberchane M. , Harki L. , Boukir A. , Chaouch A. et Charrouf Z., 2010.** Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l’armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie* (2010) 8: 295–301.
- **Ghafouri R., Strani B. , Zair T. , Ghanmi M. , Aafi A , El Omari M. et Bentayeb A, 2014-** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica* (Endl.) Manettiex Carrière seeds essential oil. *Mediterranean Journal of Chemistry* 2014, 3(5), 1027-1036.



- **Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., Perrin F., Gabarrou J-F- 2013-** INRA Productions Animales, 26 (1), 13-24.
- **Gardeli C., Papageorgiou V., Mallouchos A., Theodosios K., Komaitis M., 2008-** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L. : Evaluation of antioxydant capacity of methanolic extracts, Food Chemistry, 107 : 1120- 1130.
- **Gock M.A., Hocking A.D., Pitt J.I., Paulos P.G., 2003-** Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi, International Journal of Food Microbiology, 81 : 11-19.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawish D., Aitour S., 2006 -** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiacée. Lebanese Science Journal, Vol. 7, N° 2, 13-22 pp.
- **Isman M.B., 2000 -** Plant essential oils for pest and disease management, Crop Protection 19: 603-608.
- **José abdad M., Ansuategui M., Paulina Bermejo. 2007-** Active antifungal substances from natural sources. 116-145.
- **Jocteur G., 2007-** Les huiles essentielles à l'approche de l'hiver : une alternative naturelle pour booster votre conseil, le troisième forum des pharmaciens, Lyon, 7p.
- **Kheladi M., 2009-** l'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes. Recherches économiques et managériales. N° 6 : 32-67 pp.
- **Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L. et Vergnes M.F., 2008-** Etude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne, Phytothérapie, 6: 160–164.
- **Khalfi-Habes O., Boutekedjiret C., Hacib H., 2009-** Évaluation du potentiel biocide de trois huiles essentielles extraites de plantes algériennes sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera : Bostrychidae). *Colloque international sur la gestion des risques phytosanitaires, Marrakech, Maroc, 9-11 Novembre 2009.* pp. 297-305.
- **Kaddem S.E. 1990-** Les plantes médicinales en Algérie : Identification, description, principe actif, propriétés et usage traditionnel de plantes commune en Algérie. Association Nationale IBN SINA pour la protection des médecines traditionnelles, 181 p.

- **Kedia A., Prakash B., Mishra P.K., Dwivedy A.K., & Dubey N.K. 2015-** *Trachyspermum ammi* L. Essential oil as plant based preservative in food system, *Industrial Crops and Products*, 69 :104-109.
- **Kamel J., Nisha D., Thankur N., Tomar S., Shalta L., Thankur R. 2012-** *Trachyspermum ammi* (ajwain): A comprehensive review. Vol 3(5): 133-138.
- **Khia A., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M., Quaboul B., Chaouch A., Amusant N., Charrouf Z., 2014** - Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc, *Phytothérapie*, 12:341-347.
- **Kim S.I, Roh J.Y, Kim D. H, Lee H.S, Ahn Y.J, 2003-** Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*, *Journal of Stored Products Research*, 39: 293–303.
- **Koutsoudaki C., Krsek M., & Rodger A., 2005-** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* Var. chia., *J. Agric. Food Chem.* Vol. 53 (20) : 7681-7685 pp.
- **Larpent J-P., Larpent-Gouraud M., 1990-** Mémento technique de microbiologie : Microorganismes eucaryotes et procaryotes, Structure, Métabolisme, Systématique, Applications industrielles, Milieux de culture et réactifs. 2<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 417p.
- **Lardry J.M., & Haberkorn V., 2007-** L'aromathérapie et les huiles essentielles., *Kinesither Rev* ;(61):14-7.
- **Lardry J.M. & Haberkorn V., 2007-** Les huiles essentielles : principes d'utilisation, *Kinesither Rev* ; (61):18-23.
- **Lucchesi M. E., 2005-** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat*. Université de La Réunion, 72p.
- **Lis-Balchin M. et Deans S.G.,1997-** Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes.*, *Journal of Applied Microbiology*, 82, 759–762.
- **Linares J.C., Taïqui L., Camarero J.J., 2011-** Increasing Drought Sensitive and Decline of Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) in the moroccan Middle atlas forests, *Forests*, 2 : 777-796.

- **Mahmoudvand H., Sepahvand A., Jahanbakhsh S., Ezatpour B., Ayatollahi Mousavi S.A., 2014-** Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle et de divers extraits de *Nigella sativa* et de son composant principal, lathymoquinone, contre des Dermatophytes pathogènes, Journal de Mycologie Médicale, 24 : 155-161.
- **Mahilrajan S, Nandakumar J., Kailayalingam R., Manoharan N.A. et SriVijeindran S., 2014-** Screening the antifungal activity of essential oils against decay fungi from palmyrah leaf handicrafts., Biological Research, 47:35.
- **Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Aafi A. et Farah A., 2010-** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc., Phytothérapie ,8: 166–70.
- **Multon J.L., 1982** – Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Ed Tec &Doc, vol 1, 576 pp.
- **Multon, J.L., 1982.** Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Dérivés ; Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, pp. 576.
- **Merghache S., Hamza M. et Tabti B., 2009-** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie, Afrique Science 05(1) 67 – 81.
- **Merghache D., Boucherit-Atmani Z., Boucherit K. 2012-** Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*), Phytothérapie, 10:215–221
- **Moreau C., 1996-** les mycotoxines. In : Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). *Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Ed. Tec & Doc. Paris, pp.176-185.
- **Molkhou P., 2007-** Intolérance et allergie au blé, Journal de pédiatrie et de puériculture, 20 : 228-232.
- **Ndiaye D.S.B., 1999-** Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux, Coopérative Autrichienne pour le développement, 61p.
- **Negi P.S., 2012-** Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application., International Journal of Food Microbiology 156: 7–17
- **Ngamo L.S.T., & Hance Th., 2007-** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical., Tropicultura, 25, 4 : 215-220

- **Moazeni M., Saharkhiz M. J., & Hosseini A.A., 2012-** In vitro lethal effect of Ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) essential oil on hydatid cyst protoscoleces, *Veterinary Parasitology.*, 187 : 203-208 pp.
- **Optis M., Shaw K., Stephenson P., et Wild P., 2012-** Mold Growth in On-Reserve Homes in Canada: The Need for Research, Education, Policy, and Funding., *Journal of Environmental Health.*, Vol. 74 N°6: 14-21.
- **Ouraïni D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Benlemlih M., Alaoui belabbas M., 2005** - Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie* N° 1: 3-12 pp.
- **Ouelhadj A., Beddar K., Djenane D., 2006-** Chemical composition and Antifungal activity of the *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus* essential oils of Mediterranean regions in laboratory medium and Strawberry fruit. 25 P.
- **Pandey A.K., Singh P., Palni U.T., Tripathi N.N., 2014-** *In vivo* evaluation of two essential oil based botanical formulations (EOBBFs) for the use against stored product pathogens and pests, *Aspergillus* species and *Callosobruchus* species (Coleoptera : Bruchidae), *Journal Of Stored Products Research*, 59 : 285-291.
- **Pandey R., Singh N.N., 2008-** Effectiveness of biocontrol based IPM modules against *Lipaphis erysimi* kaltenbach (Hemiptera : Aphididae), *Journal of plant protection research*, 48 (1) : 1- 7.
- **Proctor, D.L., 1995** - Techniques d'emmagasinage des grains : évolutions et tendances dans les pays en développement, *Bulletin des services agricoles de la FAO* n°109, FAO, Rome.
- **Pfohl-Leszowicks A, 1999-**les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque.
- **Pitt J.I., Hocking A.D., 1991-** Significance of fungi in stored products, *Proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand : Fungi and mycotoxins in stored product*, 16-21.
- **Pitt J.I., 2013** – Mycotoxins. *In* Morris G.J., Potter M. (coord.). *Foodborne Infections and Intoxications, Fourth edition*. Ed Elsevier. pp 409-418.
- **Pauli G., Bessot J-C., 2013-** Les acariens : biologie, écologie et actualités des allergènes moléculaires. *Revue française d'allergologie* 53 (2013) S45- S58.
- **Pfohl-leszkowicz A., 2009** - Mycotoxines : facteur de risque de cancers Mycotoxins: a cancer risk factor. *J. Afr. Cancer* 1: 42-55 pp.

- **Portelli C., 1999-** Les Mycotoxines. 22 P.
- **Paul S., Dubey R.C., Maheswari D.K., Kang S.C., 2011-** *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. Vol 22 : 725\_731.
- **Quezel P., & Santa S., 1963-** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tom 2, Centre nationale de la recherche scientifique, Paris, 1170 p.
- **Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F., et Million L., 2010-** Pollution atmosphérique, Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées, Revue française d'allergologie 50 : 611–620.
- **Reboux G., 2006** – Mycotoxines : effet sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 46 (2006) 208 – 212.
- **Reboux G., Roussel S. et Grenouillet F., 2006-** Moisissures de l'environnement agricole Fungi in agricultural environment., Journal de Mycologie Médicale 16: 248–262
- **Regnault-Roger C., 2005-** Molécules allélochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes : nature, rôle et bilan de leur utilisation au XXe siècle. In : Regnault-Roger C. (coord.). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Ed. Lavoisier, Paris, pp. 625-650.
- **Regnault-Roger C., Philogène, B.J.R., Vincent, C., 2002-** *Biopesticides d'origine végétale*. 1re édition, Lavoisier, Tech & Doc, Paris, pp.337.
- **Regnault-Roger C., 2008-** Recherche de nouveaux biopesticides d'origine végétale à caractère insecticide : démarche méthodologique et application aux plantes aromatiques méditerranéennes. In : Regnault-Roger, C., Philogène, B.J.R., Vincent, C. (eds.), *Biopesticides d'origine végétale*. 2ème édition, Lavoisier, Tech & Doc, Paris, pp. 26-49.
- **Roux-Sitruk D., Chaumont J.P., Cieur C., Millet J., Morel J.M., Tallec D., 2008-** Conseil en aromathérapie, ed Pro-Officina Wolters Kluwer France 187pp
- **Rodrigues P., Venâncio A., Lima N. 2013-** Incidence and diversity of the fungal genera *Aspergillus* and *Penicillium* in Portuguese almonds and chestnuts. Vol 137 : 197- 209.
- **Regnault-Roger C., Philogène, B.J.R., Vincent, C., 2002-** *Biopesticides d'origine végétale*. 1re édition, Lavoisier, Tech & Doc, Paris, pp.337.

- **Regnault-Roger C.**, 2009- Moyens alternatifs et agriculture durable en Afrique de l'Ouest. *Phytoma. La défense des végétaux*. N° 624-525 pp. 41-44.
- **Righi A.F., Righi K., Mohamed-Anouar K., Pujad-Villar J., 2014-** Biological control against the cowpea weevil (*Callosobruchus chinensis* L., Coleoptera : Bruchidae) using essential oils of some medicinal plants, *Journal Of Plant Protection Reasearch*, 54 (3) : 212-217 pp.
- **Rastoin J.L., & Benabderrazik L.H., 2014-** Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb Pour un co-développement de filières territorialisées. IPEMED, Institut de Prospective Economique du Monde Méditerranéen.
- **Shewry P R., Underwood C., Wan Y., Lovergove A ., Bhandari D ., Toole G ., Clare Mills E.N ., Denyer K., Mitchell R. A.C. 2009-** Storage product synthesis and accumulation in developing grains of wheat. *Journal of Cereal Science* Vol 50: 106-112.
- **Satrani B., Aberchane M., Farah A., Chaouch A., Talbi M., 2006 -** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta Bot. Gallica* , 153 (1). 97-104 pp.
- **Satrani B ., Farah A .,Fechtal M .,Talbi M ., Bouamrani M.L., 2004-** Composition chimique et activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* (L.) Lam. du Maroc. Vol 151 (1) : 65-71.
- **Samson R.A., Visagie C.M., Houbraken J., Hong S.-B., Hubka V., Klaassen C.H.W., Perrone G., Seifert K.A., Susca A., Tanney J.B., Varga J., Kocsubé S., Szigeti G., Yaguchi T., Frisvad J.C., 2014 -** Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 78: 141–173.
- **Sanchez-Gonzalez L., Vargas M., Gonzalez-Martinez C., Chiralt A., Chafer M., 2011-** Use of essential oils in bioactive edible coatings, *Food Eng. Rev.*, 3 : 1-16.
- **Seye F., Bawine T., Boukraa S ., Zimmer J.Y., Ndiaye M., Delvigne F ., Francis F. 2014-** Effect of entomopathogenic *Aspergillus* strains against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) . ORIGINAL RESEARCH PAPER
- **Smadja J. 2009-** Les huiles essentielles, Colloque GP3A, Tananarive.
- **Silou T., 2003.** Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles d'*E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Université Marien Ngouabi. Faculté des sciences, pp. 1-6.

- **Smith-Palmer A., Stewart J. and Fyfe L., 1998**-Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 26: 118-122 pp.
- **Sharma N., & Tripathi A., 2006** - Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. Vol 22: 587-593.
- **Sharma N., Bhandari A S., 2014**- Management of Pathogens of Stored Cereal Grains. 87-107.
- **Shin S., 2003** - Anti-Aspergillus Activities of Plant Essential Oils and Their Combination Effects with Ketoconazole or Amphotericin B. *Arch Pharm Res* Vol 26, N° 5, 389-393 pp.
- **Singh G., Singh O P., Reo G P., Sharma S. R., 2002**- The vapour action of essential oils and monoterpendenoid against pathogenic fungi. Vol 4 (1&2) : 69-79.
- **Tatsadjieu N.L., Jazet dongmo P.M., Ngassoum M.B., Mbofung C.M.F., 2009** - Investigations on the essential oil of *Lippia rugose* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control* 20, 161–166 pp.
- **Tchoumboungang F., Dongmo P.M.J., Sameza M.L., Mbanjo E.G.N., Tiako-Fosto G.B., Zollo P.H.A., Menut C., 2009**- Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1), 77-84.
- **Tia E.V., Lozano P., Menut C., Lozano Y.F., Martin T., Niamké S., Adima A.A., 2013**- Potentialités des huilles essentielles dans la lutte biologique contre la mouche blanche *Bemisia tabaci* Genn. *Phytothérapie* 31-38
- **Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perrone G. Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T., Samson R.A., 2014**- Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*, *Studies in Mycologie*, Vol 78 : 343- 371.
- **Vigan M., 2009**- Les huiles essentielles : leur retour et leur toxicité
- **Varma J., & Dubey N.K., 2001**- Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities, *International Journal Of Food Microbiology*, 68 : 207-210.
- **Waongo A., Yamkoulga M., Dabir-Binso C.L., Ba M.N., Sanon A., 2013**- Conservation post-récolte des céréales en zone sud-saoudienne du Burkina Faso :

## Références bibliographiques

Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3) : 1157-1167.



## Annexes

### Composition des milieux de culture

#### Milieu PDA (Potatos Dextrose Agar)

Laver et couper les pommes de terre en petit morceaux (200g), les mettre dans 700 ml d'eau distillée et porter à ébullition, ensuite filtrer et compléter avec :

Dextrose (Glucose, Saccharose)	10g
Agar	15g
Eau distillé	1000 ml

#### Milieu CDA (Czapek Dextrose Agar)

Saccharose	30g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g
KCL	0.5g
MgSO <sub>4</sub>	0.5g
FeSO <sub>4</sub>	0.01g
NaNO <sub>3</sub>	3g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

#### Czapek Concentré(pour les milieux G25N et MEA)

NaNO <sub>3</sub>	30g
KCL	5g
MgSO <sub>4</sub>	5g
FeSO <sub>4</sub>	0.1 g
Eau distillée	100 ml

#### Milieu MEA (Malt Extract Agar)

Extrait de malt	20g
Peptone	1g
Glucose	20 g
Agar	5g
Eau distillée	1000 ml

### **Milieu CYA (Czapeckyeast Agar)**

Czapeck concentré	10 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	41g
Extrait de levure	5g
Sucrose	30 g
Agar	12 g

### **Milieu G25N**

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	40.75 g
Czapek Concentré	7.5 ml
Extrait de levure	3.7 g
Glycérol	250 g
Agar	12g
Eau distillée	750 ml

### **Eau physiologique**

NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

### **Bleu de coton**

Lactophénol	
Bleu de méthylène	0.5 g

## نشاط مضاد الفطريات لبعض الزيوت الأساسية على بعض الفطريات من القمح المخزن

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط مضاد الفطريات لثلاث زيوت أساسية على بعض الفطريات من القمح المخزن. تم عزل الفطريات من أنواع من القمح الصلب (Anza, Ain Abid, Arz) و القمح اللين (Vitron, Ofanto, Simeto, Chen S, Mexicali, Boussalem) من تعاونية الحبوب و الخضر الجافة لخميس مليانة، في أوساط زراعية مختلفة (PDA, CDA و PDAa)، الذريات التي تم التعرف عليها هي *Fusarium verticillioides*, *Penicillium sp<sub>2</sub>*, *A.fumigatus*, *Penicillium sp<sub>1</sub>*, *A.ochraceus*, *A.flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium sp* و *Rhizopus sp*. تسيطر أنواع *Aspergillus* على وسط PDA فيما يخص التلوث، مع  $11,95 \times 10^2$  UF/g على القمح الصلب و  $10,32 \times 10^2$  UF/g على القمح اللين. فيما يخص وسط CDA، تسيطر كل من *A.flavus* و *A.niger* مع  $2,93 \times 10^2$  UF/g على القمح الصلب و  $1,86 \times 10^2$  UF/g على القمح اللين. نفس الشيء بالنسبة لوسط PDAac، مع 1.26 و  $2,46 \times 10^2$  UF/g تبعاً. بالإضافة إلى ذلك، فإن متوسط نتائج استخراج الزيوت الأساسية ل: *Cedrus atlantica*, *Pistacia lentiscus* و *Ammoides pusilla* يقدر ب 1.62%، 0.32% و 0.05% تبعاً. تتراوح مناطق التثبيط بمقدار  $10 \mu\text{l}$  بين 17 و 37 مم بالنسبة ل: *A.niger* و *A.flavus* تبعاً. تم تثبيط نوعين بشكل تام، ألا و هي *A.ochraceus* و *A.fumigatus*، من جهة أخرى، فإنه بمقدار  $20 \mu\text{l}$ ، تم تثبيط نوع *A.flavus* بشكل تام و رفع مناطق التثبيط فيما يخص الأنواع الأخرى. إضافة إلى ذلك، تعتبر *A.ochraceus* الأكثر حساسية ل: *A.pusilla*، ب: CMI يقدر ب  $0,1 \mu\text{l}$  / مم، و تعتبر *F.verticillioides* الأكثر مقاومة، مع CMI ابتداء من  $2,5 \mu\text{l}$  / مم. بالنسبة ل *C.atlantica* و *P.lentiscus*، فإن نشاط مضاد الفطريات جد ضعيف و الذريات جد مقاومة.

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد الفطريات، الزيوت الأساسية، فطريات، قمح، تخزين، خميس مليانة.

### Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique de trois huiles essentielles sur quelques moisissures du blé stocké. Les moisissures ont été isolées à partir des variétés de blé dur (Vitron, Ofanto, Simeto, Chen S, Mexicali, Boussalem) et de blé tendre (Anza, Ain Abid, Arz), de la CCLS de Khemis Miliana, sur différents milieu de culture PDA, CDA et PDAac. Les souches identifiées sont, *Aspergillus niger*, *A.flavus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *Penicillium sp<sub>1</sub>*, *Penicillium sp<sub>2</sub>*, *Fusarium verticillioides*, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp*. La contamination sur milieu PDA est dominée par les genres *Aspergillus*, avec  $11,95 \times 10^2$  UF/g sur blé dur et  $10,32 \times 10^2$  UF/g sur blé tendre. Sur milieu CDA, elle dominée par *A.flavus* et *A.niger* avec respectivement  $2,93 \times 10^2$  UF/g sur blé dur et  $1,86 \times 10^2$  UF/g sur blé tendre. De même sur milieu PDAac, avec 1.26 et  $2,46 \times 10^2$  UF/g respectivement. En outre, les rendements moyens d'extraction des huiles essentielles de *Cedrus atlantica*, *Pistacia lentiscus* et *Ammoides pusilla* sont de 1,62%, 0,32% et 0,05% respectivement. Les zones d'inhibition de *A.pusilla* à la dose de  $10 \mu\text{l}$  varient de 17 et 37 mm pour *A.niger* et *A.flavus* respectivement. Deux espèces ont été totalement inhibée à savoir *A.fumigatus* et *A.ochraceus*. Par contre à  $20 \mu\text{l}$ , l'espèce *A.flavus* à été totalement inhibée et les zones d'inhibition élevées pour les autres espèces. De plus, *A.ochraceus* est la plus sensible à *A.pusilla*, avec une CMI de  $0,1 \mu\text{l}/\text{ml}$  et *F.verticillioides* est la plus résistante, avec une CMI à partir de  $2,5 \mu\text{l}/\text{ml}$ . Pour *C.atlantica* et *P.lentiscus*, l'activité antifongique est très faible et les souches sont résistantes.

**Mots clé :** Activité antifongique, huiles essentielles, moisissures, blé, stockage, Khemis miliana.

### Antifungal activity of some essential oils on molds of stored wheat

The purpose of this study is to assess antifungal activity of three essential oils on some molds of stored wheat. The molds have been isolated from durum wheat varieties (Vitron, Ofanto, Simeto, Chen S, Mexicali, Boussalem) and soft wheat (Anza, Ain Abid, Arz), of Khemis Miliana CCLS (Cereals and dried vegetables cooperative), on different growth mediums (PDA, CDA and PDAac). The strains identified are *Aspergillus niger*, *A.flavus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *Penicillium sp<sub>1</sub>*, *Penicillium sp<sub>2</sub>*, *Fusarium verticillioides*, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp*. The contamination on PDA medium is dominated by *Aspergillus*, with  $11,95 \times 10^2$  UF/g on durum wheat and  $10,32 \times 10^2$  UF/g on soft wheat. CDA medium is dominated by *A.flavus* et *A.niger* with respectively  $2,93 \times 10^2$  UF/g on durum wheat and  $1,86 \times 10^2$  UF/g on soft wheat. Similarly on PDAac medium, with 1.26 and  $2,46 \times 10^2$  UF/g respectively. Furthermore, the average extraction yields of essential oils of *Cedrus atlantica*, *Pistacia lentiscus* et *Ammoides pusilla* are 1,62%, 0,32% and 0,05% respectively. Inhibition zones of *A.pusilla* at the dose of  $10 \mu\text{l}$  vary between 17 and 37 mm for *A.niger* and *A.flavus* respectively. Two species were totally inhibited, namely *A.fumigatus* and *A.ochraceus*. However, at  $20 \mu\text{l}$ , *A.flavus* has been totally inhibited and the inhibition zones raised for the other species. Moreover, *A.ochraceus* is the most sensitive to *A.pusilla* with  $0,1 \mu\text{l}/\text{ml}$  CMI and *F.verticillioides* is the more resistant, with CMI from  $2,5 \mu\text{l}/\text{ml}$ . as regards *C.atlantica* and *P.lentiscus*, antifungal activity is very low and the strains resistant.

**Key words:** Antifungal activity, essential oils, molds, wheat, storage, Khemis miliana.