

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaid
Faculté Des Sciences
Département De Biologie
Laboratoire De Recherche : Produits Naturels

Memoire en vue de l'obtention du *Diplôme de Magistère en Biologie*
Option : Substances Naturelles : "Activités Biologiques et Synthèses"

Thème :

**Effet de quelques essences végétales sur la
croissance des moisissures de détérioration
des céréales**

Présentée par :

M. BELYAGOUBI Larbi

Inscrit sous le N°	11102
Date le	2007
Cat	8

Soutenue le :

Devant le Jury :

Président : M. TALEB BENDIAB S.M. Professeur à l'université de Tlemcen

Examineurs :

- M. MOUSSAOUI A. Maître de conférence à l'université de Tlemcen
- M^{me}. BELARBI M. Maître de conférence à l'université de Tlemcen
- M^{me}. ATIK BEKKARA F. Maître de conférence à l'université de Tlemcen

Promoteur: M. ABDELOUAHID D.E. Maître de conférence à l'université de Tlemcen

Année universitaire 2005-2006

DEDICACE

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie A :

mes parents ;

mes frères : Abdelkader, Ahmed et Youssef que dieu le bénisse;

mes sœurs : Fatima et Rahma ;

mes oncles : Sliman, Mohamed, Ahmed et Belkhir ainsi que leurs familles;

Pour leur présence de tous les instants,

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

LARBI

REMERCIEMENTS

Ce travail a été entièrement réalisé au département de biologie de la faculté des sciences, laboratoire de produits naturels. Nombreux sont ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail. Mes remerciements vont en particulier à :

Messieurs ABDELOUAHD D.E et MOUSSAOUI A maîtres de conférences à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire, guidés et encouragés scientifiquement tout au long de ce travail. Je les remercie vivement pour leur soutien, leurs conseils précieux et leurs critiques qui m'ont aidés au sein du laboratoire.

M. TALEB BENDIAB S.A professeur à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen pour avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour son aide précieuse.

M. MOUSSAOUI A, maître de conférence à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen pour son aide matérielle, surtout sa grande disponibilité et pour avoir accepté de juger ce travail. J'ai apprécié son humeur toujours joyeuse qui égayait le laboratoire.

Mme BELARBI M, maître de conférence à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen, qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude pour les services rendus au cours de la préparation de cette thèse, et d'avoir accepter de participer au jury.

Mme ATIK F, maître de conférence à la faculté des sciences de l'université de Tlemcen, qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude pour les services rendus au cours de la préparation de cette thèse, et d'avoir accepté de participer au jury.

Je remercie tous ceux que j'ai eu l'occasion de côtoyer au cours de ces deux années de magister, dans des sphères universitaires ou associatives mais avant tout amicales.

J'adresse encore mes remerciements à tous les membres du laboratoire de produits naturels qui contribuent par leur bonne humeur à créer un cadre de travail agréable.

RÉSUMÉ

Les grains de céréales forment un excellent substrat pour les moisissures où la flore fongique de stockage constitue un facteur important de détérioration et de sécrétion de mycotoxines.

Selon les analyses mycologiques des échantillons de céréales (blé tendre, blé dur, maïs, riz et orge), le maïs possède la plus grande charge d'un point de vue quantitative et qualitative.

Parmi les 118 souches, isolées les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* sont les plus dominantes suivi par les *Fusarium* et *Trichoderma*. Par contre, les mucorales sont les moins abondants. Parmi les souches isolées, sept ont été sélectionnés pour l'étude des effets antifongiques.

Les rendements en huile essentielle des plantes locales testées sont pour le *Thymus capitatus* 2,30%, l'*Origanum glandulosum* 1,90% et l'*Eucalyptus globulus* 0,64%.

Les huiles essentielles de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont fongicides à 4, 8 et 12,5 μ l, pour *Alternaria*, *F. oxysporum* et *R. stolonifer*, *Penicillium viridicatum* sbs *verrucosum* et *A. flavus* respectivement. Pour le *Trichoderma* les concentrations fongicides des huiles essentielles du *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont 8 et 12,5 μ l respectivement. De même pour, *A. niger* les concentrations fongicides de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont d'environ 50 μ l ou plus.

L'huile essentielle d'*E. globulus* est la moins antifongique des trois huiles testées. Les espèces sont classées par ordre décroissant selon leur sensibilité à cette l'huile essentielle à raison de 50 μ l/20ml de PDA comme suit: *Trichoderma*, *Rhizopus stolonifer*, *F. oxysporum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *A. niger* et *A. flavus*.

L'effet antifongique de l'huile essentielle de *T. capitatus* à 5,2 ou à 7,8 μ l/L durant le mois d'Août sur les spores et les mycéliums commence après cinq heures de traitement. Après 24 heures l'enceinte est saturée par les vapeurs des huiles essentielles et les observations microscopiques montrent que leurs effets sur les hyphes ou les spores sont presque identiques pour les différents niveaux du réacteur (5cm, 15cm et 30 cm). D'après les modifications et les désorganisations cellulaires ainsi observées par microscope optique, montrent que les moisissures sont très sensibles aux vapeurs de l'huile essentielle de *T. capitatus* surtout lorsqu'ils sont traités pendant le mois d'Août que pendant le mois de Septembre et aussi à la fin du mois d'Août où la température élevé facilite l'évaporation de l'huile.

La flore fongique externe du blé tendre (2kg) mis dans un silo artificiel traité par le *T. capitatus* (environ 52 μ l/L) est réduite de 24% après un traitement de 30 jours. Cette méthode présente un faible effet par rapport aux deux autres méthodes décrites précédemment, ceci peut être due aux problèmes méthodologiques (agitation, quantité, fumigation, espace intergranulaire, température de traitement, etc...).

En conclusion, selon les résultats des tests antifongiques ainsi réalisés, les plantes utilisées possèdent une très bonne activité antifongique et d'un rendement intéressant en huiles essentielles d'où la possibilité de leur application comme agents alternatifs des produits chimiques dans les structures de stockage des céréales.

Mots clés : céréales, stockage, silo, moisissures, détérioration, huiles essentielle, effet antifongique.

ABSTRACT

Cereal grains form an excellent substrate for the molds where the fungal flora of storage forms a significant factor of deterioration and secretion of mycotoxins.

According to mycological analysis of the cereal samples (common wheat, durum wheat, corn, rice and barley), the corn has the greatest load from a point of view quantitative and qualitative.

From the 118 stocks, isolated the *Aspergillus* and *Penicillium* species are the most dominant followed by *Fusarium* and *Trichoderma*. On the other hand, the mucorales are the less abundant. Among the strain isolated, seven were selected for the study of the antifungal effects.

The essential oil yields of the local plants tested are for *Thymus capitatus* 2,30%, *Origanum glandulosum* 1,90% and the *Eucalyptus globulus* 0,64%.

The essential oils of *T. capitatus* and of *O. glandulosum* is fungicidal at 4, 8 and 12,5 µl for *Alternaria*, *F. oxysporum* and *R. stolonifer*, *Penicillium* and *A. flavus*, respectively. For the *Trichoderma* fungicidal concentration of essential oils of *T. capitatus* and *O. glandulosum* is 8 and 12,5 µl respectively. In the same way, the fungicidal concentration of essential oils of *T. capitatus* and *O. glandulosum* is for *Aspergillus niger* is surrounding 50 µl or much.

The essential oil of *E. globulus* is the less antifungal activity of the three oils tested. The species are classified by descending order according to their sensitivity toward this essential oil at a rate of 50µl/20ml of PDA as follows: *Trichoderma*, *Rhizopus stolonifer*, *F. oxysporum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *A. Niger* and *A. flavus*.

The antifungal effect on the spores and the mycelium of essential oil of the *T. capitatus* at 5,2 or 7,8 µl/L during the august month started after five hours of treatment. After 24 hours the enclosure is saturated by the vapour of essential oils and the microscopic observations show that the effects on the hyphas or the spores are almost identical for the various levels of the reactor (5cm, 15cm and 30 cm). According to the modifications and the cellular disorganizations observed by optical microscope, demonstrate that the moulds are very sensitive to the vapour essential oil of *T. capitatus* especially when they are treated during the first period of august month than the september month and the final period of august where the high temperature facilitates the evaporation of oil.

The external fungal flora of the common wheat (2kg) put in an artificial silo treated with *T. capitatus* essential oils (approximately 52 µl/L) is reduced by 24% after a 30 days of treatment. This method presents a weak effect compared to the both methods described previously; this can be due to the methodological problems (agitation, quantity, fumigation, intergranular space, temperature of treatment, etc...).

In conclusion, according to the data obtained from the antifungal tests thus carried out, the plants used have a very good antifungal activity and an interesting yield of essential oils where the possibility of their application like alternative agents for the chemicals products used in the structures of storage of cereals.

Keywords: cereals, storage, silo, moulds, deterioration, essential oils, antifungal effect.

Sommaire

<i>Dédicace</i>	I
<i>Remerciements</i>	II
<i>Résumé</i>	IV
<i>Abstract</i>	V
<i>Liste des tableaux</i>	IX
<i>Liste des figures</i>	XI
<i>Liste des photos</i>	XII
<i>Liste des abréviations</i>	XIII
<i>Introduction</i>	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	3
PARTIE I : Les Céréales.....	3
I- Historique.....	3
II- Classification.....	4
III- Variétés et utilisation des céréales.....	4
III-1. Le blé.....	5
III-2. Le maïs.....	5
III-3. Riz.....	6
III-4. L'orge.....	6
IV- Commerce des Céréales.....	6
V- Structure et composition.....	7
VI- Stockage des Céréales.....	8
VI-1. Introduction.....	8
VI-2. Le stockage traditionnel du blé en Algérie.....	9
VI-3. Autres méthodes de stockage peu fréquent actuellement.....	9
VI-3.1. <i>Le stockage en gerbes</i>	9
VI-3.2. <i>Le stockage en épis</i>	9
VI-3.3. <i>Le stockage des grains avec leurs balles</i>	9
VI-4. Le stockage en sac du blé.....	10
VI-5. Le stockage du blé en vrac.....	10
VI-6. Le stockage du blé en silo.....	10
Partie II : Facteurs de détérioration des céréales.....	11
I- Introduction.....	11
II- Les vertébrés.....	11
III- Les arthropodes.....	11
IV- Bactéries.....	12
V- Moisissures.....	12
V-1. Définition des moisissures.....	12
V-2. Moisissures des céréales.....	13
V-2.1. <i>MYCÈTES DE CHAMP</i>	14
V-2.2. <i>MYCÈTES DE STOCKAGE</i>	14
V-3. Les effets néfastes des moisissures.....	15
Partie III : Les Huiles Essentielles.....	18
I- Introduction.....	18
II- Répartition, localisation et fonction.....	18
II-1. Répartition et sites d'accumulation des essences chez les plantes.....	18
II-2. Fonction.....	19

III- Composition chimique.....	19
III-1. Terpénoïdes.....	19
III-2. Composés aromatiques.....	19
III-3. Composés d'origines diverses.....	20
IV- Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	20
V- Procèdes d'obtention.....	21
V-1. L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.....	22
V-1.1. Hydrodistillation.....	22
V-1.2. Distillation à vapeurs saturées.....	22
V-1.3. Hydrodiffusion.....	22
V-2. Par expression des épicarpes de citrus.....	22
V-3. Hydrodistillation par micro-onde sous vide (VMHD).....	22
VI- Les plantes utilisées dans cette étude.....	23
VI-1. Classification des espèces.....	23
VI-2 <i>Thymus capitatus</i>	23
VI-2.1. Description botanique.....	23
VI-2.2. Propriétés.....	24
VI-2.3. Composition.....	24
VI-3. <i>Origanum glandulosum</i>	24
VI-3.1 Description botanique.....	24
VI-3.2. Propriétés.....	25
VI-3.3 Composition.....	25
VI-4. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. (gommier bleu).....	25
VI-4.1. Description botanique.....	25
VI-4.2. Propriétés.....	26
VI-4.3. Composition.....	26
Problématique.....	27
Matériels et Méthodes.....	28
I- Etude mycologique des céréales.....	28
I-1. Echantillonnage.....	28
I-2. Isolement.....	29
I-2.1. Méthode de dilution.....	29
I-2.2. Méthode d'Ulster.....	29
I-3. Identification.....	29
I-3.1. Identification des genres.....	29
I-3.2. Identification des espèces.....	30
II- Essais d'activité des Huiles Essentielles.....	31
II-1. La récolte du matériel végétal.....	31
II-2. Extraction d'huile essentielle.....	33
II-3. Calcule du rendement.....	34
II-4. Essais d'activités.....	34
II-4.1. Méthode de contact direct.....	34
II-4.2. Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles (in vitro).....	35
II-4.3. Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles sur le substrat (in vivo).....	37
Résultats et Interprétations.....	38
PARTRIE I : Analyses mycologique des céréales.....	38
I- Isolement des souches.....	38
II- Identification des souches.....	39
Partie II :Effet antifongique des essences végétales.....	41

I- Tri des souches testées.....	41
II- Rendement des huiles essentielles.....	41
III- Effets antifongique des huiles essentielles.....	42
III-1. Méthode de contacte directe.....	42
III-2. Résultats d'effet des vapeurs des huiles essentielles (in vitro).....	48
III-3. Résultats de l'effet des vapeurs des huiles essentielles de <i>G. capitatus</i> sur le substrat (in vivo).....	58
III-3.1. Résultats d'isolement de moisissures par la méthode de dilution.....	58
III-3.2. Résultats d'isolement de moisissures par la méthode d'Ulster.....	59
Discussion.....	61
Conclusion.....	67
Références Bibliographiques.....	69

LISTES DES TABLEAUX

	<i>Pages</i>
Tableau 1: Composition globale des grains Valeurs moyennes et courants exprimés en pourcentage du grain sec.	7
Tableau 2: Les principales moisissures contaminant les céréales	16
Tableau 3: Classification des espèces botaniques.	23
Tableau 4: Origines et dates de prélèvements des échantillons.	28
Tableau 5: Origine et date des prélèvements des plantes.	31
Tableau 6: Coordonnées des régions de prélèvements (Atlas Mondial Microsoft Encarta, 1998).	31
Tableau 7: Nombre de souches isolées par type de céréales.	38
Tableau 8: souches identifiées et non utilisées dans les tests.	39
Tableau 9: Diamètre (en mm) des colonies par la méthode de « Single Spore » et la couleur sur milieu AFPA.	39
Tableau 10: Souches tests,	41
Tableau 11: Résultats des observations macroscopiques et microscopiques de l'effet des vapeurs des huiles essentielles dans différentes étapes d'incubation et de traitement et en comparaison avec le témoin,	48
Tableau 12: Résultats de l'effet fongicide - fongistatique des vapeurs d'huile essentielle de <i>T. capitatus</i> sur milieu Y.E.Sac.:	57
Tableau 13: Résultats de la méthode de dilution.	58
Tableau 14: Résultats de la méthode d'Ulster.	59
Tableau 15: Données De Base Sur La Situation Céréalière Mondiale [13]	
Tableau 16: La production Algérienne de céréales (en millions de tonnes) :	
Tableau 17: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition d' <i>A. flavus</i> (O ₂) à différentes concentrations des huiles essentielles.	
Tableau 18: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur <i>Aspergillus flavus</i> (O ₂).	
Tableau 19: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition d' <i>A. niger</i> (BDB ₅) à différentes concentrations des huiles essentielles.	
Tableau 20: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur <i>Aspergillus niger</i> (B.D.B ₅).	
Tableau 21: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de <i>Penicillium</i> (B.T ₂)	

à différentes concentrations des huiles essentielles.

Tableau 22: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Penicillium* (B.T₂).

Tableau 23: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Fusarium oxysporum* (F₁₆) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Tableau 24: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Fusarium oxysporum* (F₁₆).

Tableau 25: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Alternaria* (O₁₁) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Tableau 26: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Alternaria* (O₁₁).

Tableau 27: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Trichoderma* (R₃) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Tableau 28: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Trichoderma* (R₃).

Tableau 29: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Rhizopus stolonifer* (O₁) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Tableau 30: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Rhizopus stolonifer* (O₁).

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Coupe schématique d'un grain de blé	7
Figure 2 : Méthode de Single spore (Pitt, 1985 et Rameraz, 1982).	30
Figure 3: Réacteur d'étude d'effet des vapeurs des huiles essentielles	35
Fig. 4 : Silos artificiels d'étude d'effet des vapeurs des huiles essentielles	37
Fig. 5: Pourcentage des souches isolées.	38
Figure 6: les rendements des plantes en huiles essentielles.	41
Figure 7: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Aspergillus flavus</i>	42
Figure 8: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Aspergillus niger</i>	42
Figure 9: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Penicillium</i>	43
Figure 10: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Fusarium oxysporum</i>	43
Figure 11: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Alternaria</i>	45
Figure 12: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Trichoderma</i>	45
Figure 13: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur <i>Rhizopus stolonifer</i>	45
Figure 14: la C.M.I de l'huile de <i>T. capitatus</i> sur les souches test.	46

LISTE DES PHOTOS

	Page
Photo 1: <i>Thymus capitatus</i> (Belyagoubi, 2005)	23
Photo 2: <i>O. glandulosum</i> (Belyagoubi, 2005)	24
Photo 3: <i>E. globulus</i> (Belyagoubi, 2005)	25
Photo 4: Carte géographique des zones de prélèvement (Encarta, 1998),	32
Photo 5: Dispositif d'hydrodistillation.	33
Photo 6: Photos des souches isolées.	40
Photos 7: Effet de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> à différentes concentration (µl/20 ml du milieu PDA) sur <i>Alternaria</i>	47
Photo 8: Etude de l'effet des vapeurs de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> (1, 2 et 3) et l'effet fongicide - statique sur milieu Y.E.S. sur d' <i>Aspergillus flavus</i> (témoin, 1 ^{er} niveau et 3 ^{ème} niveau) (4).	54
Photo 9: Etude de l'effet des vapeurs de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> sur le mycélium et la sporulation d' <i>Aspergillus niger</i> (B.D.B 5),	55
Photo 10: Etude de l'effet des vapeurs de l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> sur le mycélium et la sporulation d' <i>Alternaria</i> (O11),	56
Photo 11: Résultats d'effet des vapeurs des huiles essentielles de <i>T. capitatus</i> sur le substrat (<i>in vivo</i>):	60

ABREVIATIONS

g. : gramme

Kg. : Kilogramme

ml : millilitre

L : litre

µl : microlitre

mg: milligramme

cm : centimètre

Mn : minute

H : heure

J : jour

°C ; degré Celsius

ppm: portion par million

Aw: activité de l'eau

% : pourcentage

Fig. : figure

C.M.I : concentration minimale inhibitrice

PDA : Potato Dextrose Agar

PDAac.: PDA acidifié

PDAr: PDA rose bengal

CDA : Czapek Dextrose Agar

CDAr: CDA rose bengal

CYA : Czapek Yeast Agar):

MEA : Malt Extract Agar

G25N : 25% Glycérol Nitrate Agar

Y.E.Sac. : Yeast Extract Sucrose acidifié

AFPA : *Aspergillus flavus*, *Parasiticus* Agar

Introduction

Les grains et graines de céréales constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme et des animaux domestiques et possèdent un pouvoir nutritionnel important (**Multon, 1982; Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**).

Dans la plupart des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la période de consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage. Cette nécessité est renforcée par l'importation des céréales dont leur production locale est insuffisante (blé tendre et maïs) ou inapplicable (riz).

Les céréales sont des produits stockés à long terme et présentent une facilité pendant leurs transport (**Doumandji et al., 2003**). Leur stockage au niveau de la wilaya de Tlemcen se fait dans des silos ou en vrac pour les grandes quantités. Par contre, les fellahs stockent leurs produits dans la plupart des cas dans des sacs. Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertèbres, insectes, moisissures, acariens,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales. Selon Pfohl-Leszkowicz (1999), les moisissures et leurs mycotoxines entraînent à l'échelle mondiale des pertes estimées de 5 à 10% des céréales et leurs dérivés.

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Ils sont omniprésents dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats. Les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales : Mycotoxines), réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques due aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés.

Actuellement, dans les silos de Tlemcen on utilise des fongicides et des insecticides comme la phosphine, le malathox et le digran, etc...

De nombreux travaux indiquent l'apparition des résistances des moisissures vis-à-vis de ces substances chimiques. Ces substances causent à la fois des problèmes toxicologiques et écologiques.

L'utilisation des plantes médicinales est une pratique très ancienne :

- Dans la cuisson et l'assaisonnement ;
- Comme une source très importante pour de nombreuses substances à activités antimicrobiennes (exemple : les huiles essentielles).

C'est dans cette perspective que nous avons essayé d'étudier l'action de quelques huiles essentielles sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales (blé tendre, blé dur, maïs, orge et riz) comme substances naturelles alternatives des produits chimiques utilisés dans les structures de stockage.

Les trois plantes testées sont l'*Eucalyptus globulus*, l'*Origanum glandulosum* et *Thymus capitatus* disponibles dans la région de Tlemcen. L'*Origanum glandulosum* et le *Thymus capitatus* sont des arbustes appartenant à la famille des Lamiacées qui est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (**Guignard, 1996**). L'*Eucalyptus globulus* est un arbre de la famille des Myrtacées.

L'étude de l'effet antifongique des huiles essentielles de ces plantes est faite par trois méthodes :

- Par contact direct en milieu de culture;
- Par l'effet des vapeurs des huiles essentielles dans un réacteur de 23 litres de volume ;
- Par l'effet des vapeurs de l'huile essentielle sur le substrat (blé tendre).

Synthèse bibliographique

PARTIE I : Les Céréales

I- Historique:

À travers l'histoire, le stockage des grains de céréale a fourni à des humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolte (**Druvefors, 2004**), l'exemple de prophète Youssef en Egypte pendant les sept années dans le Saint Coran :

L'évidence archéologique indique que le grain a été cultivé et stocké en vrac depuis 7.000 ans (**Lee, 1960 ; Roberts, 1976 in Reed, 1992**).

D'après Vavilon les centres d'origine des espèces de céréales cultivées seraient :

- Centre Ouest Chine : Millet
- Asie Sud-Est : Seigle –Riz
- Asie Centrale : Blé tendre
- Moyen-Orient : Blé –dur, Seigle, Avoine et Orge
- Abyssinie : Orge, Blé –dur
- Amérique Centrale : Maïs (**I.T.A. 1972**).

La culture du blé dur, originaire d'Afrique du Nord et Italie (**Prats et Clément – Grandcourt, 1971**).

II-Classification:

Les principales espèces cultivées appartiennent à la famille des graminées (blé tendre, blé dur, maïs, riz, avoine, seigle, millet, sorgho) ou des polygonacées (sarrasin) (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**).

Les graminées sont des monocotylédones (de l'ordre des glumiforales)

Les caractéristiques de l'inflorescence sont :

- Fleur en épillets entourés de bractées (glumes)
- Périanthe nul
- Ovaire uniloculé, uniovulé (**I.T.A. 1972**).

On désigne sous l'appellation céréales différentes espèces de plantes appartenant à l'embranchement des **phanerogames** (Règne Végétal) renfermant des plantes dont les organes reproducteurs sont apparents, au sous-embranchement des **angiospermes** regroupant les plantes à fleurs et à fruits typiques.

Famille : Graminées ou Poacées.

Espèces :

*- **Blé tendre** : *Triticum vulgare* ou *Triticum aestivum*

*- **Blé dur** : *Triticum durum*

*- **Maïs** : *Zea mays*.

*- **Riz** : *Oryza sativa*

*- **Orge** : *Hordeum vulgare*

*- **Sorgho** : *Sorghom sp.* (**Doumandji et al., 2003**).

III- Variétés et utilisation des céréales :

Les trois principales céréales cultivées et consommées dans le monde sont le blé, le maïs et le riz. Puis l'orge, le seigle, l'avoine, le sorgho et le millet,... . Au sein des céréales, on distingue généralement trois groupes : le **blé**, le **riz** et l'ensemble des autres céréales regroupées sous l'appellation **céréales secondaires**.

Le riz en Asie, le maïs en Amérique latine, le blé dans les plaines européennes et nord-américaines, le mil en Afrique marquent encore les différents modèles de consommation de ces différentes régions (**Duron, 1999**). Dans les céréales, ce sont classiquement les grains que l'on utilise pour l'alimentation humaine et animale. Le reste de la plante est par fois valorisée en alimentation animale soit à l'état sec sous forme de paille pour certaines céréales, soit à l'état frais ou en ensilage pour les autres (**Godon, 1991**).

III-1. Le blé :

Le blé est à l'origine même de l'agriculture. Il reste, après des millénaires, la première plante cultivée au monde (**Mosiniak et al., 2001**). Il existe deux espèces de blé (**Duron, 1999**):

-L'espèce la plus cultivée, le *Triticum vulgare* ou froment (**Prats et Clément-Grandcourt, 1971**) (3x14 chromosomes), qui est celle de tous les blés dits tendres (**Cheftel, Cheftel, 1977**). Il est essentiellement utilisé par l'industrie meunière pour la fabrication de farines destinées à l'alimentation humaine (panification) et animale (**Duron, 1999**), ainsi que la pâte utilisée en biscuiterie et en pâtisserie est préparée à partir de blés tendres (**Cheftel, Cheftel, 1977**).

-L'espèce *Triticum durum*, "blé améliorant" ou blé dur (2x14 chromosomes), contient une forte teneur en protéines (**Duron, 1999; Cheftel et Cheftel, 1977**). Cette espèce est utilisée d'une part par les semouleries et les industries de pâtes alimentaires et d'autre part pour en faire des aliments pour les animaux (**Duron, 1999**).

III-2. Le maïs :

Le maïs constitue l'aliment de base des habitants de nombreux pays (notamment d'Amérique latine) (**Cheftel et Cheftel, 1977**), il joue aussi un rôle important dans le régime (alimentation, nourriture) des millions d'Africains dus à ses rendements élevés par hectare, sa facilité de culture et d'adaptabilité de différentes zones agro-écologiques, utilisations alimentaires souples et aux caractéristiques de stockage (**Asiedu, 1989 in Fandohan, 2003**). Dans les pays développés, l'alimentation animale utilise une part croissante de la production de blé et surtout de maïs (**Alias et Linden, 1997**). Riche en amidon et en gluten, le maïs a plusieurs utilisations dans les secteurs (**Duron, 1999**):

* Alimentaire : huile de germe (**Cheftel et Cheftel, 1977**), préparations culinaires, farine, semoule, amidon, biscuiteries, confiserie, fabrication des glucoses et autres sucres, alimentation animale (des tourteaux à partir des germes, amidons (**Duron, 1999**) ou le gluten) et en fin la production d'alcool ou de boissons alcooliques (**Cheftel et Cheftel, 1977**).

* Non alimentaire : papeterie, cartons ondulés, pharmacie ou textile.

- On distingue le maïs blanc, le maïs jaune et le maïs hybride (**Duron, 1999**).

III-3. Riz :

Le riz appartient, à la tribu des Oryzées qui ne comprend que quatre espèces toutes propres aux régions chaudes du globe dont le riz cultivé (*Oryza sativa*) comprend quatre types culturaux correspondant à des modes de culture et à des qualités différentes : *O. sativa dura*, *O. sativa montana* que l'on peut cultiver dans les zones montagneuses à climat très pluvieux, sans inonder, *O. sativa glutinosa* et *O. sativa fluitans*. (Prats, Clément – Grandcourt, 1971).

Le riz est le deuxième céréale du monde après le blé, il constitue la base alimentaire de vastes régions développées ou en voie de développement (Angladette, 1966).

Il est surtout utilisé pour l'alimentation humaine. Contrairement au blé, il est le plus souvent consommé sous forme de grains (Cheftel et Cheftel, 1977). Le riz est utilisé en Japon pour la préparation de boisson alcoolisée: le koji (Alias et Linden, 1997).

III-4. L'orge :

Les orges forment un groupe botanique complexe de grandes graminées, dont l'orge cultivée : *Hordeum sativum* (Prats et Clément – Grandcourt, 1971).

Il existe plusieurs espèces d'orge. Sur le plan botanique, on distingue d'une part les escourgeons dont l'épi ressemble à celui du blé et d'autre part les orges à deux rangs qui ont un épi aplati. Sur le plan de la culture, on distingue les orges d'hiver et les orges de printemps. Hormis le cas de gel, les orges d'hiver ayant une période de végétation plus longue et un meilleur rendement agricole.

L'orge est cultivée pour son grain utilisé dans l'alimentation animale (orge fourragère) et pour la fabrication de la bière (orge de brasserie) après l'avoir transformée en malt (Duron, 1999).

IV- Commerce des Céréales:

Depuis toujours, il y'a le commerce et le transport des céréales, leur niveau de production ne cesse de progresser. Leur commerce mondial constitue la clé de voûte du système alimentaire mondial et présente à ce titre un intérêt stratégique. Près de 2 milliards de tonnes de céréales sont produites chaque année dans le monde et près de 12% sont échangées entre pays tiers (Duron, 1999). La production céréalière couvre 9,2 millions d'hectares (50% des terres arables) au niveau mondial (Valzi, 1991 in Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003). Pour plus de données sur la situation céréalière mondiale et Algérienne voir Annexe I.

V- Structure et composition :

Physiologiquement, le grain (Le fruit des graminées est un caryopse (le grain est soudé aux parois de l'ovaire) (I.T.A., 1972)) joue le rôle d'un fruit renfermant une graine, (cotylédon qui représente 82 à 85% du grain) (Godon, 1991). Elle est constituée par le germe qui donne la plantule, l'amande appelée endosperme ou albumen, tissu de stockage qui fournit au germe les réserves nécessaires pour sa croissance et les enveloppes protectrices ou son, composées par la paroi de la graine (testa) et par la paroi du fruit (péricarpe) (Doumandji et al., 2003). La structure des grains de diverses céréales est assez semblable.

A titre d'exemple, la figure (1) illustre la structure simplifiée du grain de blé (Cheftel, Cheftel, 1977).

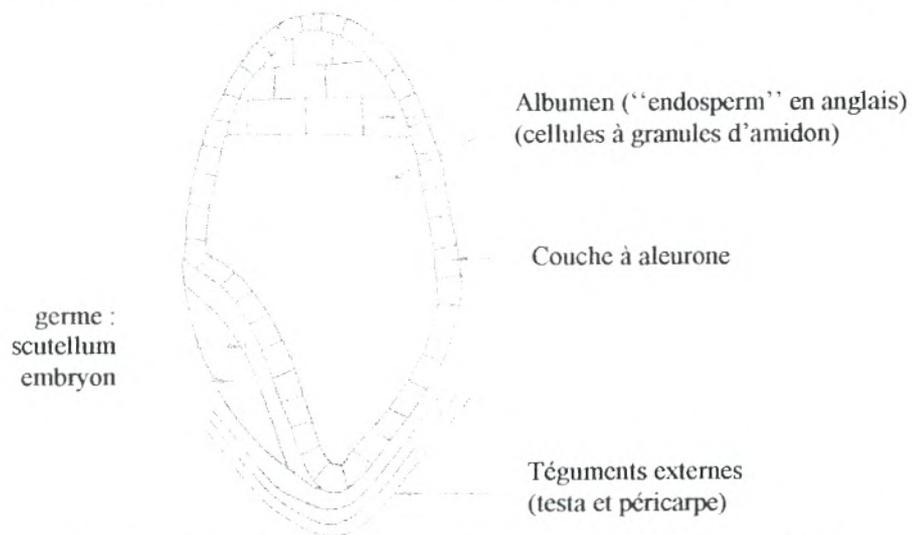


Fig. 1 : Coupe schématique d'un grain de blé (Cheftel, Cheftel, 1977).

Les grains céréaliers, sont surtout amylacés (Alias et Linden, 1997) ce qui est illustré dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1: Composition globale des grains Valeurs moyennes et courants exprimés en pourcentage du grain sec (Godon, 1991).pour le riz (Cheftel, Cheftel, 1977).

Céréales	Amidon Petits glucides	Protéines	Lipides	Cellulose Hemicelluloses Pentosanes	Minéraux
Avoine	61(±8)	13,5(±3)	6,0(±2)	16,0(±2)	3,5(±0,5)
Blé	75,6(±5)	14,5(±4)	2,0(±1)	5,7(±1)	2,2(±0,3)
Maïs	69,8(±6)	11,6(±3)	5,8(±2)	11,6(±1)	1,2(±0,1)
Orge	70,6(±5)	11,8(±3)	2,6(±1)	12,0(±1)	3,0(±0,2)
Seigle	74,2(±4)	13,5(±4)	2,0(±0,5)	8,0(±1)	2,3(±0,2)
Triticale	74,4(±5)	14,5(±4)	2,0(±0,5)	6,8(±1)	2,3(±0,2)
	Glucides solubles %	Protéines %	Lipides %	Fibres ^(*) %	Cendres %
Graine de Riz (paddy séché) ^(**)	63	7,5 à 9	2	9	6

^(*) Cellulose, hémicelluloses, pentosanes, et autres polysaccharides insolubles même en solution acide ou alcaline. ^(**) Selon Cheftel, Cheftel (1977).

Divers vitamines, surtout du groupe B (B1, B2, B6), sont présentes dans les grains mais à des concentrations beaucoup plus faible que dans les organes végétatifs ou les fruits. Le germe présente une richesse plus élevée surtout en vitamine E et B. (**Godon, 1991**).

On peut considérer que les grains et graines sont des formes naturelles de préservation, fortement protégées des agressions extérieures, protection par les enveloppes du grain, mais également par d'autres fonctions physiologiques comme certaines protéines ayant une action antifongique ou la production de composés volatils, bactéricides et fongicides. Les grains cassés, fissurés ou morts perdent ces défenses naturelles et sont plus vulnérables aux agressions et en particulier aux microorganismes (**Caharginer in Bourgeois, 1996**).

VI-Stockage des Céréales :

VI-1. Introduction :

La consommation quotidienne est assurée par une seule récolte, quelquefois deux dans l'année (**David in Multon, 1982**) d'où la nécessité du stockage. Ainsi que les grains stockés sont utilisation comme des semences pour la saison de croissance suivante (**Salunkhe et al.1985 in Ominski, 1994**).

Les premiers systèmes de stockage étaient de grands paniers faites de roseaux ou fioles d'argile qui sont immergés dans le sol, (**Druvefors, 2004**) ainsi que des puits, des paniers de femmes, des structures de bois ou de boue et des puits garnis de paille sont utiliser (**Reed, 1992**).

Le but des technologies de conservation et de préserver par tous les moyens appropriés l'intégrité des principales qualités des grains et graines (**Multon, 1982**), qui ne peut pas être améliorée pendant le stockage (**Chawla, 1984**).

Plus l'humidité est importante des grains à la récolte, plus les conditions sont favorables au développement fongique (**Harley, 1996 in Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**). Des bonnes pratiques de conservation consistent à éviter son altération en contrôlant trois principaux facteurs : la température, la teneur en eau du grain (a_w) et la durée du stockage. Le contrôle de la température se fait par l'utilisation des systèmes de ventilations. L'idéal serait de stocker un grain de 12 à 13% d'humidité (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**).

VI-2. Le stockage traditionnel du blé en Algérie :

Le paysan algérien, sur les Hauts plateaux, conservait tant bien que mal, le produit de ses champs d'orge et de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux généralement à un endroit surélevé ou proche de la ferme. C'est ce qu'on appelle « El matmour ». La capacité de ces lieux de stockage est variable. Elle est de l'ordre de quelques mètres cubes.

C'est une technique archaïque peut être encore utilisée dans certains régions isolées. L'inconvénient majeur de cette méthode de stockage, c'est la trop forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des moisissures et les phénomènes de fermentation bactérienne (**Doumandji et al., 2003**).

VI-3. Autres méthodes de stockage peu fréquent actuellement:

VI-3.1. Le stockage en gerbes :

C'est la méthode traditionnelle appliquée depuis de haut Moyen Age au moins dans presque toute l'Europe non méditerranéenne. On peut entasser les gerbes en plain air (gerbiers, meules), mais cette variante semble plutôt récente 18^{ème} siècle, l'usage le plus courant étant le stockage en grange, laquelle abrite aussi l'aire à battre au fléau. En gerbes, le grain est à l'abri de l'échauffement et du charançon (**Sigaut in Multon, 1982**).

VI-3.2. Le stockage en épis:

Le stockage en épis est une technique très répandue pour toutes sortes de céréales dans le monde. Il demande bien moins de volume que le stockage en gerbes, d'où un coût moindre en bâtiments et par conséquent le contrôle de l'ambiance du stockage est plus facile (**Sigaut in Multon, 1982**).

VI-3.3. Le stockage des grains avec leurs balles :

Bien qu'il soit assez peu fréquent, ce mode de stockage n'est pas sans intérêt. Il semble que la présence des balles ralentisse la propagation des insectes ou celle de l'échauffement par rapport à ce qui se passe dans le grain en vrac, sans exiger beaucoup de volume supplémentaire.

Le mélange grains-balles est parfois stocké en grenier, comme le grain en vrac. Plus souvent, semble-t-il, il est stocké dans un contenant clos, quoiqu'à parois non étanches au gaz (**Sigaut F. in Multon, 1982**).

VI-4. Le stockage en sac du blé :

Les grains sont conservés dans des sacs fabriqués en toile de jute. Les sacs entreposés dans divers locaux, magasins ou hangars. En cas de traitement chimiques, cette toile de jute permet le passage des fumigants, pesticides très volatiles capables d'agir sur l'appareil respiratoire des insectes. Souvent ce type de stockage est passager dans les milieux où l'autoconsommation est forte (**Doumandji et al., 2003**).

VI-5. Le stockage du blé en vrac:

Bien qu'il soit plus difficile à conserver les produits précédents, il est tellement plus commode de transporter et d'échanger le grain en vrac qu'on a toujours cherché à le stocker sous cette forme.

Les techniques destinées à conserver le grain dans un état aussi proche que possible de son état initial : les *silos souterrains* sont une des plus importantes d'entre elles (**Sigaut F. in Multon, 1982**).

Dans ce cas, les grains en tas sont laissés à l'air libre dans des hangars ouverts à charpente métallique. Malheureusement les contaminations sont possibles (**Doumandji et al., 2003**).

VI-6. Le stockage du blé en silo:

De nos jours, les silos permettent de stocker plusieurs types de céréales en même temps : ils sont multi-produits (**Duron, 1999**). Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en métal. Elles sont fermées à leur partie supérieure par un plancher sur lequel sont installés les appareils de remplissage des cellules. L'emploi des silos réduit la main d'œuvre, augmente l'aire de stockage et supprime l'utilisation des sacs onéreux. Il existe plusieurs types de silos : silos de ferme (500 à 10 000 quintaux), silos coopératifs (10 000 à 100 000 quintaux) et silos portuaires (50 000 quintaux) (**Doumandji et al., 2003**). Il existe aussi des silos de capacité de 175.000 à 250.000 tonnes. Toute livraison peut être suivie en temps réel et les relevés de poids délivrés peuvent être édités automatiquement (**Duron, 1999**).

Partie II : Facteurs de détérioration des céréales

I- Introduction :

Selon **Multon (1982)** et **Sinha 1973 in Multon (1982)** un lot de grains entreposés en vrac ou en sacs, est un éco- système constitué en fait par un microbiote relativement isolé, artificiellement créé par l'homme et caractérisé par un ensemble de propriétés bio-physico-chimiques originales.

Ce lot de grains (ou de graines) entreposé comporte inévitablement au moins deux entités vivantes : les grains eux mêmes (et plus particulièrement les germes ou certains tissus comme l'assise protéique des céréales par exemple), et les micro-organismes ; de façon non obligatoire, mais cependant fréquente, on y trouve également associés des insectes, des acariens, voire de petits vertébrés (rongeurs, oiseaux).

La microflore des grains et graines est banale, à tendance xérophile et cosmopolite. (**Multon, 1982**), elle constitue un envahisseur interne ou contaminant externe, ou tous les deux (**Christensen, 1982**) ; dont les bactéries, les levures et les mycètes filamenteux (**Magan, 2003**), les virus (où le rôle, au plan de stockage, paraît négligeable), les protozoaires enkystés et quelques lichens qui sont parmi les rares organismes vivants capables de supporter sans dommage une grande siccité : leurs teneurs en eau se situent entre 5 et 40%, contre 75 à 97% pour le reste du monde vivant (**Multon J. L., 1982**).

II- Les vertébrés :

Divers petits vertébrés (rongeurs, tels que souris, rats ; oiseaux) peuvent vivre aux dépens des stocks de grains mal protégés, dont ils peuvent consommer des quantités considérables. En outre leurs déjections peuvent servir de vecteurs à des germes pathogènes (**Multon, 1982**). Ainsi, ils interviennent dans le processus de contamination en provoquant des lésions physiques dans les tissus végétaux qui favorisent la pénétration des spores (**Le Bars, 1982 in Jouany et Yiannikouris , 2002**).

III- Les arthropodes :

Les insectes et les acariens sont les plus petits ravageurs des denrées entreposées. La présence de la plupart des arthropodes, et singulièrement d'acariens, est révélatrice de mauvaises conditions de conservation (**Multon, 1982**).

Les insectes, endommagent l'enveloppe des grains, ce qui favorise la pénétration des moisissures à l'intérieur de la graine (**Molinié et Pfohl-Leskowicz, 2003**).

Les acariens vivant sur les grains moisiss, récupèrent et transportent les spores de champignons sur leur corps, mais également dans leur tube digestif et leur fèces (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**), où beaucoup d'acariens consomment les moisissures, préférant d'ailleurs les espèces les plus abondantes (**Multon, 1982**).

Quelques insectes disséminent des espèces mycotoxigéniques, d'autres sont connus pour employer des moisissures de détérioration comme source de nourriture, alors que d'autres évitent certaines espèces fongiques (**Magan, 2003**). Là où les insectes et les rongeurs sont contrôlés, les moisissures sont souvent la cause unique de la détérioration (**Christensen, 1982**).

IV- Bactéries :

En plus de certains des mycètes thermophiles, les bactéries sont responsables des étapes finales du chauffage microbiologique qui se produit en grains et graines (**Christensen, 1982**). De nombreuses bactéries peuvent atteindre plusieurs millions par gramme sur les grains fraîchement récoltés. La population bactérienne est essentiellement constituée par des eubactéries qui renferment une très forte proportion d'Entérobactéries, notamment de coliformes pigmentés ou "bactéries jaunes", toujours abondantes sur les céréales (**Richard-Molard in Multon, 1982**).

V- Moisissures:

V-1. Définition des moisissures :

Un très grand nombre de Mucorales, Ascomycètes et surtout Hyphomycètes sont capables de détériorer les denrées alimentaires. Ces moisissures sont le plus souvent des saprophytes banaux (**Breton A. in Larpent, 1990**). La mycoflore est estimée entre 200 000 et 300 000 espèces (**Pfohl-Leszkowicz, 1999**).

Les moisissures sont omniprésentes dans la nature. Les plus répandues sont les *Penicillium* et les *Aspergillus*. Elles sont aérobies strictes (**Florent J. in Bouix et Leveau, 1993**), capables de se développer sur toutes sortes de nourriture : céréales, viande, lait, fruits, légumes, ... (**Filtenborg et al., 1996**). Hétérotrophes, peu exigeantes et possèdent un potentiel élevé de sécrétion d'enzymes exocellulaires (**Florent J. in Bouix et Leveau, 1993**).

La majorité des espèces se développe dans des zones de pH assez larges, entre 3 et 8 (**Florent in Bouix et Leveau, 1993**), et à une température entre 15 et 30 °C (**Sylviane**).

Certaines moisissures vivent en symbiose avec d'autres organismes : les plantes vertes (champignons mycorhiziens), les algues (lichens) et les bactéries.

Beaucoup mènent une vie parasite vis-à-vis des animaux et des plantes. Et s'attaquent aux végétaux en pleine croissance, aussi bien aux jeunes plantules qu'aux feuilles et aux fruits, et provoquent de sérieuses maladies (rouilles, mildious, etc.) (**Florent in Bouix et Leveau, 1993**).

Les moisissures (Micromycètes) ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent dans diverses familles de champignons microscopiques. Ils possèdent un appareil végétatif constitué par un *thalle* filamenteux, le *mycélium*, dont les filaments s'appellent des *hyphes* (**Moreau in Bourgeois, 1996**); qui sont non cloisonnés dans le cas des Phycomycètes, cloisonner chez les Septomycètes (**Leyral et Vierling, 2001**). Le mycélium peut différencier des organes spécialisés dans la multiplication et la dissémination, appeler *spores* (**Moreau in Bourgeois, 1996**); on peut distinguer des spores issues de la reproduction sexuées ou des spores d'origine végétative (**Leyral et Vierling, 2001**).

V-2. Moisissures des céréales :

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

Les fourrages et les céréales sont naturellement en contact avec des spores fongiques avant, pendant et après la récolte, durant le transport et le stockage. La croissance fongique est régie par de nombreux paramètres physico-chimiques, notamment la quantité d'eau libre (*aw*), la température, la présence d'oxygène, la nature du substrat et le pH (**Jouany et Yiannikouris, 2002**).

Les moisissures se développant aux champs nécessitent une forte humidité (20 à 25%) pour leur croissance (Hesseltine, 1976). alors que les moisissures de stockage sont capables de croître sur des substrats contenant de 10 à 18 % d'humidité (Lillehoj et Elling, 1983) (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**).

Les mycètes colonisant le grain ont été classifiés dans deux groupes, connus sous le nom de moisissures de champ et de stockage (**Christensen et Kaufman, 1969 in Magan et Lacey, 1988**) distinctes de points de vue écologique :

✓ V-2.1. MYCÈTES DE CHAMP :

Les céréales sont contaminées dès avant la récolte par une mycoflore dite "du champ" qui comprend un grand nombre d'espèces appartenant notamment aux genre *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Trichoderma*, etc. beaucoup de ces champignons sont fortement cellulotiques (**Breton in Larpent, 1990**).

Cette flore de champ rassemble les moisissures à tendance phytopathogène qui s'implante sur le grain avant la récolte (**Godon et Loisel, 1997**).

Par mais les maladies mycologique des céréales, la fusariose de l'épi provoquée par diverses espèces de *Fusarium*, est une maladie importante des céréales dans le monde (**Gabriele Schachermayr et al., 2000**). Les agents pathogènes de la brûlure des épis (*Fusarium* spp.) produisent des trichothécènes dont le rôle dans la pathogenèse a été démontré (**Eudes et al., 2001 ; Akinsanmi et al., 2004**).

✓ V-2.2. MYCÈTES DE STOCKAGE :

Au cours du stockage en silo, se développe une flore composée de champignons moins cellulotiques et plus osmophiles, qui provoque une acidification du substrat ; ce sont essentiellement des *Aspergillus* (*A. candidus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*), des *Eurotium* (*E. amstelodami*, *E. chevalieri*, *E. repens*) et des *Penicillium* (*P. cyclopium*, *P. glabrum*, *P. spiculosum*, *P. stoloniferum*) dont l'évolution est en fonction de la teneur en eau des graines et des interactions spécifiques. Ces espèces, en prenant de l'extension, éliminent peu à peu les champignons "du champ". Sur les graines très altérées on trouve, au terme de cette évolution, des champignons peu cellulotiques et non osmophiles, appartenant surtout aux Mucorales (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus*) (**Breton in Larpent, 1990**).

Deux autres mycètes de stockage, *Wallemia sebi* (Fr.) Arx et *Chrysosporium fastidium* Pitt, sont produits dans des circonstances quelque peu spéciales (**Christensen et al., 1982**).

Mais il faut noter que les principaux moisissures de stockage comportent seulement quelques espèces d' *Aspergillus* qui sont adaptées à une vie sans eau libre et, jusqu'à moins degré les espèces de *Penicillium*, qui se développent principalement dans les grains stockée à de basses températures et à une teneur élevée en humidité (**Christensen, 1982**).

La capacité des moisissures de stockage de germer, se développer et sporuler dans les grains stockés dépend de la disponibilité de l'eau dans le substrat, la température et la composition intergranulaire en gaz. L'activité fongique peut causer la détérioration rapide du grain, parfois avec l'échauffement spontané (**Magan et Lacey, 1988**). Elles se développent en particulier lorsque la ventilation du grain est mal-adaptée ou inexistante (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**).

Les facteurs environnementaux peuvent exercer une pression sélective influençant la structure de la communauté et la dominance de quelques espèces, particulièrement les espèces mycotoxigéniques. D'un point de vue écophysologique, il faut noter que les moisissures de détérioration colonisent le grain employant différentes stratégies (**Magan, 2003**).

Une troisième catégorie de moisissures, à comportements plus diversifiés constitue la flore « **intermédiaire** » et regroupe des germes capables d'un développement limité, en début de stockage, en conditions hydriques habituelles, mais qui peuvent prédominer largement en conditions particulières, et notamment sur grains insuffisamment secs. *Cladosporium*, *Trichoderma* et surtout les mucorales comme *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor*, sont, avec les levures *Candida*, *Torulopsis*, etc. les représentants habituels de cette flore intermédiaire, dont la mise en évidence révèle très souvent un stockage en conditions confinées et trop humides (**Godon, Loisel, 1997**).

V-3. Les effets néfastes des moisissures :

Les grains de céréale forment un excellent substrat pour les moisissures (**Mills, 1990**). Pendant le stockage, la récolte de céréale subit généralement la perte de qualité, qui est caractérisée par susceptibilité accrue à l'infection par les mycètes, les insectes et les acarides (**Fonte, 1989 in Ominski, 1994**).

Les mycètes causent beaucoup de genres de détérioration ou de dommages dans le grain. Ceux-ci incluent la diminution de la germination, la décoloration, les changements chimiques et alimentaires, le chauffage, le durcissement (**Christensen, 1982**) et des mauvais goûts qui à comme conséquence le rejet du produit (**Kinderlerer, 1989**).

L'activité fongique mène également aux pertes de matière sèche et de valeur nutritive (**Magan et Lacey, 1988**). Il y a aussi des problèmes de santé dus à la formation des mycotoxines et des spores allergéniques (**Olsson, 2000**).

Il y a aussi les modifications des propriétés rhéologiques (caractéristiques plastiques) des pâtes (**Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003**). Les moisissures et mycotoxines entraînent des problèmes pour les producteurs de volailles et bétails (performances réduites des animaux et diminution de la reproduction, pertes dues aux maladies),...

- **Les mycotoxines :**

L'enquête réalisée par Pittet à l'échelle mondiale (1998) montre que de 25 à 40 % des céréales sont contaminées par des mycotoxines (Jouany et Yiannikouris, 2002) métabolites secondaires de diverses moisissures (Pfohl-Leszkowicz, 1999) à faible poids moléculaire (Adebanjo et Bankole, 2003) (PM < 1000 d), il sont peu solubles dans l'eau et difficilement métabolisées par les organismes vivants. En particulier, par leur structure chimique, elles sont très stables, par exemple à l'acidité et surtout à la chaleur (Dragacci). Les céréales sont des vecteurs de mycotoxines très important car elles sont universellement consommées par l'homme et par les animaux. Se sont des contaminants naturels des céréales ; il est donc normal d'en trouver en faible quantité dans les récoltes. Elles peuvent être contaminées à plusieurs moments (en plein champ ou lors du stockage), et en général ce sont les insectes qui sont les vecteurs (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Plusieurs sortes de mycotoxines sont retrouvées dans les céréales (tableau 2).

Tableau 2: les principales moisissures contaminant les céréales (adapté de Pfohl-Leszkowicz, A., 1999 in Molinié et Pfohl-Leszkowicz, 2003).

Champignons	Toxines	Denrées
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'Ergot	Blé et dérivés, seigle
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes (DON, NIV, toxine T-2, DAS), Zéaralénone, Fumonisines, Fusarine, Moniliformine	Blé, maïs, orge, riz, seigle, avoine
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines, Stérigmatocystine, Ochratoxine A	Maïs, blé
<i>Penicillium</i>	Patuline, Citrinine, Pénitrem A, Ochratoxine A	Blé, riz, orge

Les mycotoxines peuvent être produites par cinq genres de champignons : les *Aspergillus*, les *Penicillium*, les *Fusarium*, les *Claviceps* et les *Alternaria*. Plus de trois cents mycotoxines, dont la structure chimique est identifiée, ont été produites artificiellement à partir des quelques 350 types de moisissures (Moll et Moll, 1995).

La présence de moisissures sur les graines ne signifie pas nécessairement la formation de mycotoxines (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

La plus dangereuse de ces mycotoxines est sans doute l'aflatoxine B1 produite par *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* (Godon, Loisel, 1997). Elle possède un effet cancéroneurique (Shotwell, 1977).

Il existe des souches produisant des mycotoxines et des souches qui n'en produisent pas ou peu (Moreau C. in Bourgeois, 1996). Ils pouvant être ingérés, inhalés ou absorbés par la peau l'humain et les animaux (Adebanjo et Bankole, 2003). Les mycotoxines possèdent des effets aigus à court terme ainsi que des effets à long terme (Moll et al. Moll, 1995). On y trouvera globalement des activités hémorragiques, immunotoxiques, hépatotoxiques, néphrotoxiques, neurotoxiques, oestrogéniques, tératogène ainsi que des effets mutagènes et cancéroneurs (Moll et Moll, 1995).

Partie III : Les Huiles Essentielles

I- Introduction :

L'utilisation des plantes aromatique et des huiles essentielles en thérapeutique, remonte aux temps les plus anciens (**Belaiche, 1979**).

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

La norme **AFNOR NF T 75-006** (février 1998) donne comme définition d'huile essentielle (=essences=huiles volatiles): « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épisperme des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premières modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistribution, aération,...]. » (**Bruneton J., 1999**).

II- Répartition, localisation et fonction :

II-1. Répartition et sites d'accumulation des essences chez les plantes :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex. : Myrtaceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : (fleur, des écorces, des bois, des racines, des rhizomes des fruits et des graines. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. (**Bruneton, 1999**).

Le stockage et la synthèse des huiles essentielles peuvent s'effectuer dans des cavités, alvéoles ou poches (cas des hespéridées) ou canaux sécréteurs (cas des *Pinus*, des *Commiphora*, des *Boswilli*). Mais il arrive que ces sites consistent en formations très superficielles (poils ou trichomes glandulaires) (**Garnéro, 1991**).

II-2. Fonction :

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure (**Bruneton, 1999**).

Les fonctions possibles des huiles essentielles sont multiples (protection contre les prédateurs de la plante, attraction des insectes pollinisateurs, inhibition de la germination et de la croissance, inhibition de la multiplication des bactéries et des champignons). Il est souvent difficile de les préciser pour chaque cas particulier (**Richter, 1993**). Pour quelques auteurs, ils pourraient constituer des supports à une « communication » (**Bruneton, 1999**).

L'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes, exposée à des climats désertiques (**Belaiche, 1979**).

III- Composition chimique :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

✓ **III-1. Terpénoïdes :**

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et sesquiterpènes (**Bruneton, 1999**).

Mais selon **Richter (1993)**, même les diterpènes ont un point d'ébullition peu élevé qui détermine leur caractère volatil, ainsi les monoterpènes constituent, souvent avec les sesquiterpènes et les diterpènes, la plus grande partie des huiles essentielles.

✓ **III-2. Composés aromatiques :**

Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés C₆-C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (*i.e.* les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (**Bruneton, 1999**).

✓ **III-3. Composés d'origines diverses :**

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation d'acides gras ou de terpènes, autres composés).

Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînés par la vapeur d'eau (**Bruneton, 1999**).

IV- Facteurs de variabilité des huiles essentielles :

✓ **IV-1. Les dénominations trompeuses du matériel végétal :**

En effet, une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue (**Garnéro, 1976 ; Garnéro, 1991**).

✓ **IV-2. Influence du cycle végétatif :**

Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal autant en ce qui concerne le rendement et la composition chimique en huile essentielle. (**Garnéro, 1991**).

✓ **IV-3. Influence des facteurs extrinsèques :**

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, régime hydrique), la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe. (**Bruneton, 1999**). Ainsi les facteurs géographiques et édaphiques influencent (**Garnéro, 1991**).

✓ **IV-4. La récolte du matériel végétal :**

Le ramassage du matériel végétal pose très souvent le problème de la contamination par d'autres espèces végétales surtout s'il s'agit de plantes à croissance rapide ou de végétaux qui poussent dans des lieux où se trouvent de nombreuses autres espèces végétales (**Garnéro, 1976 ; Garnéro, 1991**).

✓ **IV-5. Les transformations du matériel végétal :**

Le matériel végétal qui va subir l'hydrodistillation n'est pas toujours traité immédiatement. Des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement en tas peuvent se produire et se révéler fâcheuses pour la qualité de l'huile essentielle, surtout s'il s'agit de fleurs (**Garnéro, 1991**).

✓ **IV-6. Les hybridations ; Les facteurs de mutation, la polyploïdie et les aberrations chromosomiques :**

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans un peuplement végétal (Garnéro, 1991). Une race chimique peut apparaître par mutation. Ce cas a «été signalé avec l'exemple pour le Houblon (*Humulus lupulus* L.) .Dans la plupart des cas, la polyploïdie augmente les rendements en huile essentielle (Carvi, Menthe, Camomille) (Garnéro, 1991).

✓ **IV-7. Le polymorphisme chimique :**

On entend par chimiotype, le type chimique d'une plante classé en fonction du constituant majoritaire de ses huiles essentielles. Par ailleurs, on étend par chimiotype mixte ou intermédiaire, le type chimique d'une plante classé en fonction de deux ou plusieurs constituants majoritaires de prépondérances voisins (Benmansour, 1998 in Bekhchi-Benhabib, 2001).

Pour une même espèce botanique, il peut exister plusieurs races chimiques ou « chimiotypes ». On a parfois utilisé l'expression de « formes physiologiques ». (Garnéro, 1991).

✓ **IV-8. Influence du procédé d'obtention:**

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc.

Il faut enfin signaler que la cinétique de distillation n'est pas la même pour tous les constituants d'une huile essentielle (carbures, alcools, cétones, etc.), la composition du distillat varie en fonction du temps. (Bruneton, 1999).

V- Procèdes d'obtention :

L'obtention des huiles essentielles fait appel à deux méthodes générales :

- soit l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.
- soit l'expression à froid des écorces ou zestes de fruits de citrus (Garnéro, 1991).

La technique à employer devrait être choisie selon les caractéristiques d'huile essentielle. (Crespo et al., 1991).

✓ **V-1. L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation :**

V-1.1. Hydrodistillation : L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un, alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1999**).

V-1.2. Distillation à vapeurs saturées :

La plante est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de alambic, et n'est pas en contact avec l'eau (**Belaiche, 1979**). Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le déclenchement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

V-1.3. Hydrodiffusion :

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie (**Bruneton, 1999**).

✓ **V-2. Par expression des épicarpes de citrus :**

Le principe de la méthode est très simple : les « zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique. Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface de fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation (**Bruneton, 1999**). Ces essences sont des produits très fragiles en raison de leur composition terpénique et aldéhydique (**Garnéro, 1991**).

✓ **V-3. Hydrodistillation par micro-onde sous vide (VMHD):**

Dans ce procédé récemment développé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation, traditionnelle (temps dix fois plus rapide et température plus basse) (**Bruneton, 1999 ; Mengal et al. 1993**). Il existe d'autres techniques d'extraction : par enflourage, par les solvants organiques ; etc.... (**Crespo et al., 1991**).

VI- Les plantes utilisées dans cette étude:

VI-1. Classification des espèces :

Tableau 3 : Classification des espèces botaniques (Guignard, 1977).

<i>Espèce</i>		
<i>Taxonomie</i>	- <i>Eucalyptus globulus</i>	- <i>Thymus capitatus</i> - <i>Origanum glandulosum</i>
Règne	VÉGÉTAL	VÉGÉTAL
Embranchement	PHANÉROGAMES	PHANÉROGAMES
Sous-embranchement	ANGIOSPERMES	ANGIOSPERMES
Classe	DICOTYLÉDONES	DICOTYLÉDONES
Sous-classe	DIALYPÉTALES	GAMOPÉTALES
Série	CALICIFLORES	
Subdivision		SUPEROVARIÉES TÉTRACYCLIQUES
Ordre	MYRTALES	LAMIALES
Famille	MYRTACÉES	LABIÉES
Genre	<i>Eucalyptus</i>	<i>Thymus</i> <i>Origanum</i>

VI-2 *Thymus capitatus* :

VI-2.1. Description botanique :

Le *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. Et Link. à les caractéristiques suivants : Calice comprimé latéralement, fortement rétréci à son extrémité, en forme d'utricule, à dents serrées les unes contre les autres. Corolle de 8-10mm, longuement saillante, plus de 2 fois plus longue que le calice. Arbrisseau rigide à feuilles linéaires ou linéaires- lancéolées ciliolées. Inflorescences en glomérules courts et très denses – Rocailles - très rare : secteur oranais, sous secteur de l'Atlas Tellien :

Tlemcen- | Méditerranéen | - « Zaateur » (= *Satureia capitata* L.)
(Quézel et Santa , 1963).



Photo 1: *Thymus capitatus*

VI-2.2. Propriétés:

Le *Thymus capitatus* a plusieurs applications dans la médecine. Il est employé comme agent tonique, antitussive et dans le traitement des maladies de peau (Vampo et al., 1988 ; Doyen et al., 1989).

Il est connu que l'ingestion de *T. capitatus* donne des effets antipyrétique, carminative et disphoretique (Roberto, 1984). Son infusion est employée dans le traitement du rhumatisme,... (Roberto, 1984) la décoction de *T. capitatus* est employée comme antispasmodique et emménagogue (Bedevian, 1936 ; Boulos, 1982) (Kandil et al., 1994).

L'huile essentielle de *T. capitatus* (= thym capité = Origan d'Espagne) à un activité antispasmodique, utilisée dans l'asthme bronchique depuis le Moyen- Age. Ces essences possèdent aussi des propriétés bactéricides (Valnet, 1984) et des activités antifongiques (Kandil et al., 1994).

VI-2.3. Composition :

L'hydrodistillation du genre *Thymus* est la méthode préférée par la plupart des chercheurs où le rendement est de 0,1% à 3,6% (Crespo et al., 1991).

Selon les travaux de Kandil et al. (1994), le criblage phytochimique préliminaire de l'herbe de *T. capitatus* a indiqué la présence de saponines, alcaloïdes, tanins, glycosides, résines, flavonoïdes et des huiles fixes et essentielles (carvacrol (90%) et thymol (10%)).

Selon Sendra et Cunat (1980) l'analyse de la fraction phénolique de l'huile essentielle de *T. capitatus* révèle 7 composants majoritaires. L'un d'entre eux était le carvacrol et les autres sont les Di-isopropylphenol et 5-methyl-di-isopropylphenol (Kandil et al., 1994). Dans le *T. capitatus* il y'a 92 constituants principaux (carvacrol, ac. Hydroxytritperpénique pantacyclique, ...) (Valnet, 1984).

VI-3. *Origanum glandulosum*:

VI-3.1 Description botanique : L'*Origanum* « Zateur » est une plantes herbacées ou sous – ligneuses à la base. Inflorescences en épis réunis en inflorescences composées.

O. glandulosum Desf. : Calice non bilabié, à 5 dents subégales. Epis linéaires glabres ou faiblement pubescents. Tiges toutes dressées. Epis denses, à fleurs restant contiguës après la floraison. Corolle (blanche ou rosée) à lèvre inférieure bien plus longue que la lèvre supérieure (Quézel et Santa, 1963).



Photo 2: *O. glandulosum*

VI-3.2. Propriétés :

Selon **Valnet (1984)**, l'*O. glandulosum* a les mêmes propriétés et les indications que l'*O. vulgare* dont leurs propriétés et les suivantes :

- Usage interne : bactéricide, sédatif antispasmodique, apéritif, stomachique, expectorant (fluidifiant des sécrétions bronchiques), antiseptique des voies respiratoires et emménagogue.
- Usage externe : parasiticide et antalgique.

L'origan possède aussi des propriétés : antitussif, aromatique, calmant, carminatif, digestif, tonique, antiseptique (**Baba Aissa, 1999**), sédatives (origan excite d'abord, puis calme le système nerveux)(**Perroti et al., 1999**), ...

Plusieurs espèces de l'origan sont utilisées comme épices (utilisation alimentaire, exemple : pizzas) dans tout le bassin méditerranéen (**Bruneton, 1999**).

VI-3.3 Composition :

Les parties utilisées sont les sommets fleuris. Les principaux constituants d'origan sont: huile essentielle (thymol, carvacrol, linalol, bornéol, pinène, caryollène...), tanins, résine, flavonoides, stérols...

Selon les travaux de **Boutekedjirit**, porter sur l'*O.glandulosum* d'Alger l'analyse CG/SM a permis de montre qu'elle contient des hydrocarbures monoterpéniques, des monoterpènes oxygènes et des sesquiterpènes. Les constituants majoritaire sont : la carvacrol (44,1%), le thymol (26,4%), le p-cymène (9,7%) et le γ -trpinène (7,3%). Le rendement par entraînement à la vapeur d'eau est de 1,6%.

VI-4. *Eucalyptus globulus* Labill. (gommier bleu).

VI-4.1. Description botanique :

Grand arbre ornemental hétérophylle poussant rapidement, pouvant atteindre 60m de hauteur, à tronc lisse. Les feuilles polymorphes, larges et opposées sur les plantes juvéniles âgées sont alternes et falsiformes, à pétiole tordu et orientées verticalement en raison de leurs deux faces semblables (**Marburg, 1999**). L'*Eucalyptus* est un arbre originaire d'Australie où il compose plus de 90% des forêts naturelles. Le genre est très vaste puisqu'on dénombre près de 700 espèces (**Anonyme, 2003**).

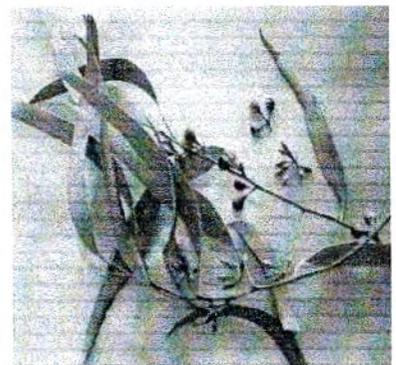


Photo 3: *E. globulus*

VI-4.2. Propriétés :

On utilise les feuilles en infusion, en inhalation, fumigation et sous forme de cigarettes (**Sijelmassi, 1991**). L'*Eucalyptus* est un antiseptique et un antispasmodique des voies respiratoires (**Sijelmassi, 1991**), sédatif, hypoglycémiant, antirhumatismal, stimulant et vermifuge. On l'utilise donc pour soigner les maladies de refroidissement, le diabète, les douleurs rhumatismales, certaines affections des voies urinaires, les migraines, les sinusites et les vers intestinaux (**Perroti et al., 1999**). L'extraction d'huile essentielle est réalisée à partir des feuilles et rameaux (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

À une dose de 10 à 30 ml, l'huile essentielle est mortelle chez l'homme (**Tibballs, 1995 in Marburg, 1999**). Le cinéole, facilement résorbé par voie pulmonaire digestive aussi, bien que par voie cutanée ou rectale, est éliminée par voie rénale (**Bruneton, 1999**) et voie pulmonaire (**Marburg, 1999**).

VI-4.3. Composition :

Le rendement en huile essentielle est de 1,5 à 3,5% des feuilles. Le constituant majeur de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* officinale est le cinéole (70 à 85% ; = 1,8 cinéole, eucalyptol). De petites quantités de monoterpènes sont présentes (α -pinène, β -pinène, δ -limonène, α -phellandrène, p-cymène, terpinéol...) (Formáčcek et Kubeckzka, 1982; Renedo et Mira, 1990) ainsi que quelques sesquiterpènes (aromadendrène, globulol, lédol et viridifloral) (Penfold et Willis, 1961) (**Marburg, 1999**).

Problématique

La protection des céréales contre les agents de détérioration est d'une grande importance pour la survie de l'homme. L'utilisation abusive des substances chimiques tel que la phosphine (PH₃), le malathox et le digran, peut générer des résistances des agents de détérioration et donnant des résidus dans les grains ou leurs produits. Aussi, elle peut être à l'origine des effets sélectifs et biostatiques (effet de l'ammoniac sur les moisissures (**Bruneton in Larpent, 1990**)) ou des problèmes écologiques dues aux rejets dans la nature de gaz fumigants et des substances chimiques.

Les plantes sont la source pour de nombreuses substances tel que les huiles essentielles dont elles font l'objet de notre étude. le choix de ces substances est baser sur leur effet antimicrobien et sur leur volatilité qui facilite leur application au niveau des silos. De plus les plantes testées présentent certaines caractéristiques :

- ✓ Absence de toxicité des huiles essentielles, car elles sont utilisées dans la cuisson ou dans les traitements thérapeutiques ;
- ✓ Rendement plus ou moins important et disponibilité au niveau de notre région;
- ✓ Avoir un effet antifongique ;
- ✓ Absence de modification du goût des produits céréaliers et même si possible de l'améliorer;

Selon ces critères le choix est effectué sur les plantes suivantes :

- *Thymus capitatus*
- *Origanum glandulosum*
- *Eucalyptus globulus*

Les deux espèces *Mentha spicata* (Nanaa) et *Mentha rotundifolia* (Doumrane) ont subit des tests préliminaires.

Pour l'étude de l'effet antifongique des huiles essentielles, nous avons procédé comme suite :

- Isolement et identification des moisissures à partir des échantillons de céréales (orge, blé tendre, blé dur, riz et maïs) ;
- Extraction des huiles essentielles à partir des plantes en question ;
- Essais d'activité antifongique des huiles essentielles par trois méthodes :
 - Méthode de contact direct ;
 - Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles (*in vitro*) dans une enceinte;
 - Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles sur le blé tendre (*in vivo*).

Matériels et Méthodes

I-Étude mycologique des céréales :**I-1. Échantillonnage :**

Les grains et graines de céréales analysés sont d'origines différentes, les prélèvements ont été réalisés du 25/11/2004 au 11/02/2005 ; un poids déterminé de chaque type de céréales (Tableau 4) est mis dans un sachet propre et amené au laboratoire pour être analysé.

Tableau 4: Origines et dates de prélèvements des échantillons

Type de céréales	Date de prélèvements	Poids (g.)	Origine
Riz I	25/11/2004	240	Commerce d'Alimentation générale « Tlemcen »
Orge I	25/11/2004	180	Vendeur d'alimentation de bétails - Tlemcen -
Blé dur I	25/11/2004	1000	Vendeur d'alimentation de bétails « Tlemcen »
Blé dur II	07/02/2005	530	Silos de la grande station de stockage « Abou Tech Fine » - Tlemcen -
Blé tendre I	07/02/2005	670	Silos de la grande station de stockage « Abou Tech Fine » - Importation -
Maïs I	08/02/2005	590	Maïserie de MAGHNIA (Echantillon de laboratoire) - Importation -
Orge II	11/02/2005	610	Ferme dans la wilaya de Tlemcen (Mansourah)

I-2. Isolement :

Pour isoler la mycoflore des échantillons de céréales considérés, nous avons utilisé deux méthodes :

I-2.1. Méthode de dilution :

De chaque échantillon, 5g de grains broyés ou non sont additionnés à 45 ml d'eau physiologique, ce qui correspond à la dilution 10^{-1} . Ensuite, 1 ml de cette dernière est ajoutés à 9ml d'eau physiologique pour avoir la dilution 10^{-2} .

Des boîtes de Pétrie contenant les milieux : PDA, PDAac., PDAr, CDA et CDAr (voir Annexe II) sontensemencées avec 1ml des dilutions, le surnagent est éliminer après 10 à 15mn ; et l'incubation dure 5 à 7j à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$.

L'ajout de l'acide lactique (25%) ou du rose bengal à raison de 1 à 1,5ml par flacon ($\approx 200\text{ml}$) empêche le développement des bactéries. De plus, le rose bengal ralentit la croissance des moisissures à croissance rapide et donne plus de chance d'isoler les moisissures a croissance lente.

I-2.2. Méthode d'Ulster :

Dans cinq boîtes de Pétrie tapissier de papier filtre humidifié, on dépose 10 grains de céréales par boîte. L'observation des moisissures est réalisée après 5 à 7j à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$.

Les souches isolées subissent des repiquages successifs sur milieu PDAac. afin de les purifiées.

I-3. Identification :

I-3.1. Identification des genres :

L'identification des genres de moisissures repose sur :

✓ Des caractères cultureux (macroscopique) : vitesse de croissance, couleur et texture da thalle,...

✓ Des observations microscopiques : réalisées par la méthode de microculture (Haris, 1989) ou de scotche et en se référant au manuel de Barnett & Hunter, 1972 et Breton *in* Larpent, 1990; cette méthode consiste à :

Ensemencer les souches sur des morceaux de PDAac. Porter sur des lames stériles.

Ces morceaux sont coupés à partir d'une boîte coulée en couche épaisse pour éviter la déshydratation ; ensuite une lamelle est déposée sur l'inoculum.

Les lames sont déposées dans une enceinte tapissée avec du papier imbibé avec de l'eau.

Après 2 à 3j d'incubation à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$, sur des nouvelles lames stériles, on dépose 2 à 3 gouttes de lactophénol ou bleu de coton pour permettre le gonflement du mycélium et faciliter l'observation microscopique des mycéliums collés sur la lamelle enlevée des morceaux de PDAac. ; L'observation se fait x10, x40 et x100.

I-3.2. Identification des espèces:

Les espèces appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont identifiées par la méthode de Single spore (Pitt, 1985 et Rameraz, 1982), qui consiste à inoculer un tube à hémolyse remplie 2/3 de son volume d'agar 0,3 à 0,4% et qui à pour but la dilution des spores pour l'ensemencement des milieux de culture. Après agitation du tube, des gouttes de cette suspension sont déposées sur les milieux : CDA, CYA, MEA et G25N (voir Annexe II) selon la figure ci-dessous :

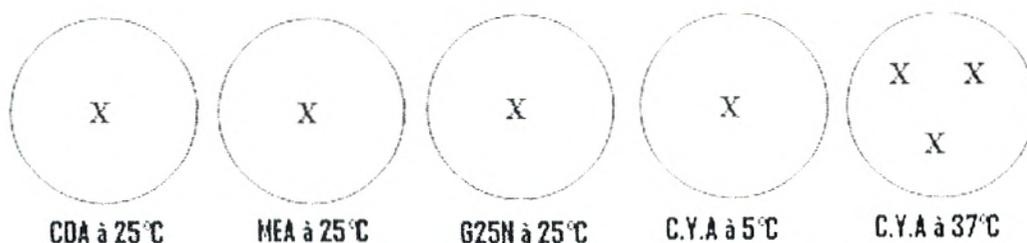


Fig. 2 : Méthode de Single spore (Pitt, 1985 et Rameraz, 1982).

Les diamètres des colonies et leurs couleurs sont rapportés après une et deux semaines de croissance. L'identification des espèces de *Penicillium* est réalisé selon le manuel de Ramirez, 1982 et pour les espèces d'*Aspergillus* selon le livre de Pitt et Hocking, 1985.

Confirmation sur milieu AFPA :

Ce milieu confirme l'appartenance au groupe *Aspergillus flavus, parasiticus*. Dans ce milieu, la couleur du revers de la colonie est jaune-orange après une incubation de 5 à 7 jours à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$. A l'inverse d'*A. niger* qui, quelques fois, donne un reverse jaune et non orange.

Il y'a aussi *A. ochraceus* qui produit un revers jaune mais sa croissance est lente par rapport à *A. flavus* (PITT et al. 1985).

II- Essais d'activité des Huiles Essentielles :

II-1. La récolte du matériel végétal :

Le prélèvement des plantes à été réaliser entre le 22/04/2005 et le 06/07/2005.

Le matériel végétal est séché à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

Tableau 5: Origine et date des prélèvements des plantes.

Plante	Origine	Dates de prélèvements
<i>Origanum glandulosum</i>	Beni Mester (Inndouz)	22/04/2005 et 01/05/2005
<i>Thymus capitatus</i>	Beni Mester (Inndouz)	22/04/2005 06/07/2005
<i>Eucalyptus globulus</i>	Mansourah	14/05/2005
<i>Mentha viridis</i>	Beni Mester (Zalboun)	17/05/2005
<i>Mentha rotundifolia</i>	Oued de Ain Makdad, Oued de Imama et l'Oued de Bouhanek : Mansourah	17/04/2005 et 23/04/2005

L'identification des espèces botaniques est réalisée au niveau de laboratoire d'écologie gestion des écosystèmes naturels (Tlemcen) par Ferouani F. Z.

Tableau 6: Coordonnées des régions de prélèvements (Atlas Mondial Microsoft Encarta, 1998).

Région	Tlemcen	Mansourah	Beni Mester	Inndouz
Latitude	34° 53' Nord	34° 52' Nord	34° 52' Nord	34° 51' Nord
Longitude	1° 19' Ouest	1° 20' Ouest	1° 25' Ouest	1° 24' Ouest



■ : Zone de prélèvement

Photo 4: Carte géographique des zones de prélèvement (Encarta, 1998).

II-2. Extraction d'huile essentielle :

Après séchage du matériel on procède à l'extraction par la technique d'hydrodistillation (photo 5).

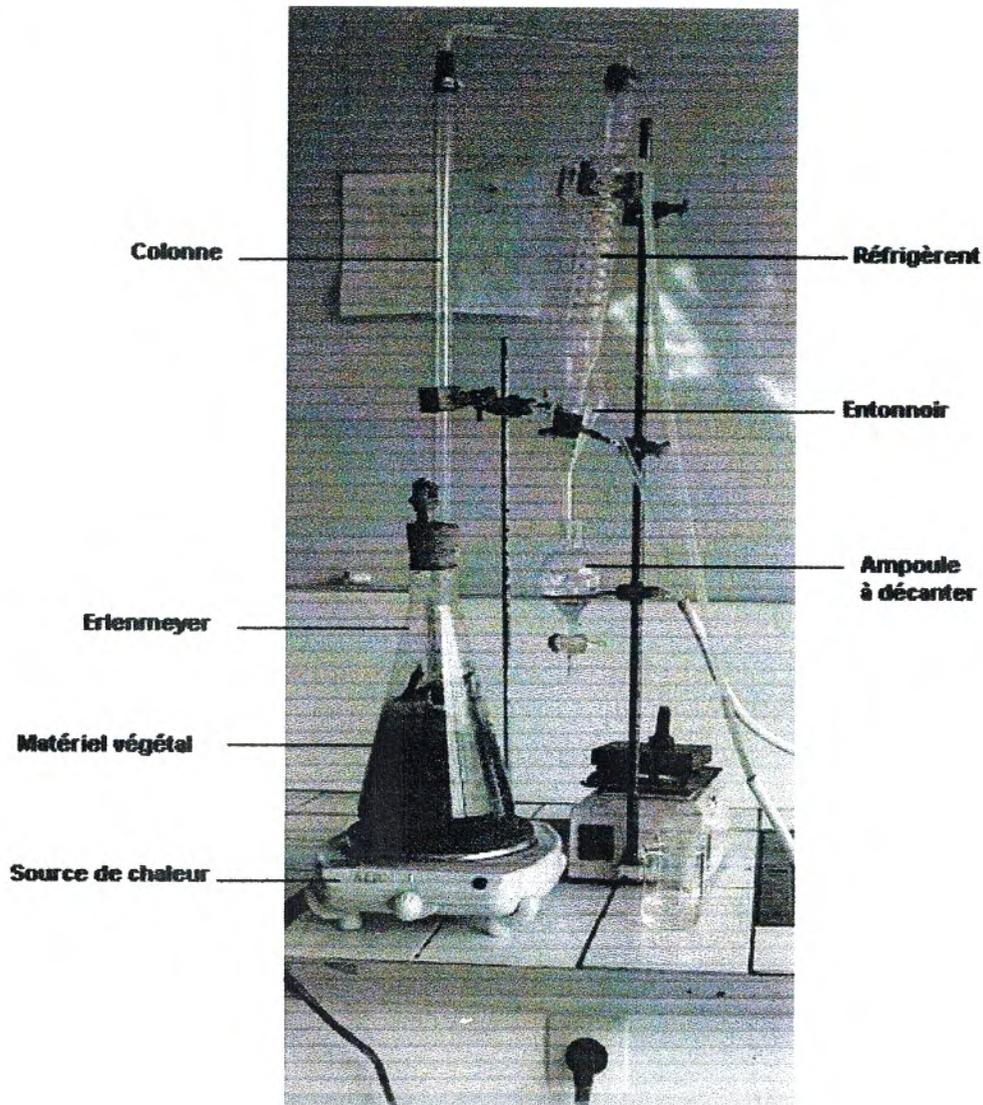


Photo 5 : Dispositif d'hydrodistillation

- 100 à 150 gramme du matériel végétal sont additionnés à l'eau (1200 à 1500ml) et sont portés à l'ébullition pendant 90 mn à 210 mn selon la plante.

-L'huile extraite est conservée à l'abri de la lumière dans des tubes en verre à 5°C.

II-3. Calcule du rendement:

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (Carre, 1953 in Bekhechi-Benhabib, 2001).

$$Rd\% = \frac{m_1 \cdot 100}{m_0}$$

m_1 : masse en gramme d'huile essentielle ;
 m_0 : masse en gramme de la matière végétale sèche ;
 Rd : rendement en huile essentielle.

II-4. Essais d'activités :

Afin de tester le pouvoir antifongique de ces huiles, nous procédons comme suit :

- a)- Méthode de contact direct (*Thymus capitatus*, *Origanum glandulosum* et *Eucalyptus globulus*).
- b)- Réactions antifongiques à des vapeurs des huiles essentielles direct (*Thymus capitatus*).
- c)- Essais antifongiques des vapeurs d'huile essentielle de *Thymus capitatus* dans un silo artificiel (in vivo).

II-4.1. Méthode de contact direct :

- La méthode utilisée est celle de Fandohan (2004) où les trois huiles essentielles : *Thymus capitatus*, *Origanum glandulosum* et *Eucalyptus globulus* sont testées avec des concentrations : 0.1, 0.2, 0.4, 0.625 et 2.5 µl/ml de milieu PDA.

Ces concentrations sont obtenues par l'addition de 2, 4, 8, 12,5 et 50 µl d'huile essentielle à 20ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai. Après agitation des tubes, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétrie en verre de 9cm de diamètre.

L'inoculation se fait par le dépôt au centre de la boîte d'un disque du mycélium d'environ 0,6 cm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 7 jours.

Une boîte de Pétrie contenant 20ml de milieu PDA sans huile essentielle est inoculée pour servir de témoin.

Après incubation à 28 ± 4 °C pendant 2 à 7 jours en tenant compte de la croissance de témoin, on calcule l'indice antifongique (Pourcentage d'inhibition) qui est déterminé par la formule :

$$\text{Indice antifongique} = (1 - Da / Db) \times 100 \quad \text{(Wang et al, 2005) avec :}$$

Da : le diamètre de la zone de croissance de l'essai

Db : le diamètre de la zone de croissance du témoin.

Pour chaque concentration 3 tests sont réalisés.

Pour les boîtes qui ne présentent pas de croissance le disque de mycélium est transféré sur un milieu PDA neuf pour confirmer s'il s'agit d'un effet fongistatique ou fongicide.

Après l'inhibition de la croissance on détermine la C.M.I de l'huile de *Thymus capitatus* par la même méthode.

Le choix de *Thymus capitatus* est fait parce que il y a peu d'étude sur cette espèce et aussi parce que cette espèce possède un effet fongicide puissant et un bon rendement.

Pour les deux autres méthodes d'étude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles nous n'avons utilisé que l'huile de *Thymus capitatus* choisie.

II-4.2. Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles (in vitro) :

Les essais ont été inspirés des travaux de **De Billerbeck, 2000** où les tests sont réalisées dans une enceinte (réacteur) en verre (Fig.3) de volume général d'environ 23L fermée hermétiquement et stérilisée par le formol et lavée par l'eau pour enlever les traces de formol.

L'obtention d'un dispositif à 3 niveaux se fait à l'aide des rondes en plastique de 15 cm de diamètre troués dans plusieurs endroits pour permettre le passage des vapeurs d'huiles.

Des lames en verre (2,6x 7,6 cm) sont utilisées comme support où 1 à 3 morceaux épais de PDA (environ 2x2 cm) sont déposées (Figure 3). Ces lames sont préalablement dégraissées dans l'éthanol 96% et stérilisées au four Pasteur à 150°C pendant 30mn.

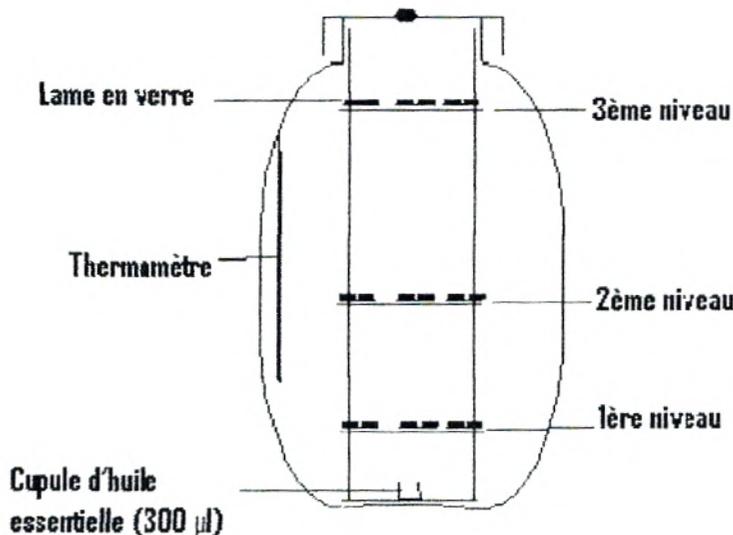


Fig. 3: Réacteur d'étude d'effet des vapeurs des huiles essentielles

50 µl de Tween 80 sont additionnés à 5 ml d'eau distillé. Cette solution de dilution est stériliser à l'autoclave (120°C/ 20 mn) et homogénéiser avant complet refroidissement. Cet agent tension actif (Tween 80 à 1%) sert à une meilleure dispersion des spores et des fragments de mycélium.

Un fragment d'une préculture 2 à 7j des souches et additionné au Tween 80 à 1%. Après agitation au vortex, des morceaux épais de PDA (2x2 cm) sont ensemencés avec 1 à 3 gouttes de la dilution.

L'incubation se fait à 25°C ± 4°C pendant 12H (soit il y a une formation d'un mycélium pour la plupart des souches ou germination des spores).

300 µl de l'huile de *Thymus capitatus* est déposé à la base de réacteur dans une cupule. Le premier niveau se trouve à environ 5 cm de dépôt, le deuxième à environ 15 cm et le troisième à environ 30cm du dépôt.

Le traitement des lames se fait à une température ambiante comme c'est le cas dans les silos de stockage, et la lecture se fait par observation microscopique du mycélium(x10 ou x40) et macroscopique après différentes étapes : temps zéro (ensemencement) ,12H de préculture, 5H et 24H de traitement).

La température à l'intérieur de l'enceinte est contrôlée à l'aide d'un thermomètre. En parallèle, une enceinte d'environ 3,2L stérilisé sert pour l'incubation des lames témoins en absence d'huile essentielle.

Après incubation de 24H, le volume d'huile non volatilisé est mesuré, ainsi que des petits morceaux coupés à partir du centre de PDA (2x2cm) traité sert à l'ensemencement d'un tube à essais contenant 10ml du milieu Y.E.Sac. pour voir s'il s'agit d'un effet fongicide ou fongistatique.

Les traitements on été réalisés pendant le mois d'août ainsi que le début de septembre.

II-4.3. Etude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles sur le substrat (*in vivo*) :

Dans cette partie de travail nous avons tenté de reproduire les conditions de stockage en silo. Comme substrat test nous avons choisi le blé tendre d'importation à cause de son stockage et de sa consommation importante dans notre pays,

Les graines sont prélevées à partir de silo de la grande station de stockage « Abou Techfine » le 13/09/2005.

Une enceinte en verre de 2,7L de volume (Fig. 4) est remplie avec 2 kg de blé tendre fermer avec une grille en plastique empêchant le passage des graines et permette le transport des vapeurs de l'huile essentiel.

L'enceinte est renversée et fermé hermétiquement par un couvercle d'une boîte de Pétrie en verre, sur la quelle est déposée une cupule en verre contenant ^{150 μ l} d'huile essentielle de *Thymus capitatus*.

Une autre enceinte d'environ 3,2L de volume sert pour l'incubation de blé tendre témoin (2 kg) sans dépôt d'huile essentielle.

Après 30 jours de traitement, des analyses mycologiques sont réalisées par la méthode de dilution et d'Ulster à trois niveaux de prélèvement du silo artificiel (base, moyen et haut) pour voir l'effet sur la flore fongique et en prélevant aussi du témoin pour la comparaison.

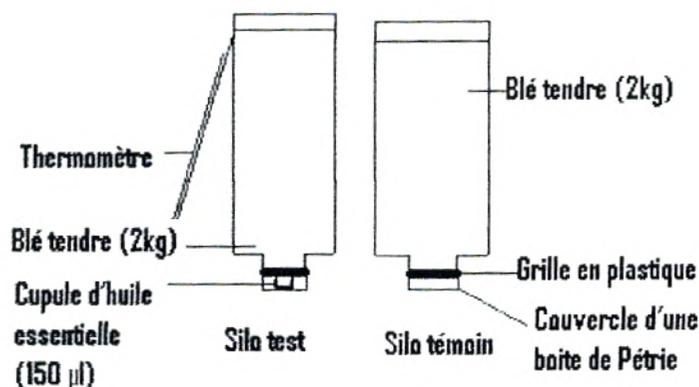


Fig. 4 : Silos artificiels d'étude d'effet des vapeurs des huiles essentielles

PARTRIE I : Analyses mycologique des céréales :

I- Isolement des souches :

Les analyses mycologiques montrent que le maïs possède la plus grande charge de point de vue quantitative et qualitative. Il constitue un substrat favorable à la croissance des moisissures avec 55 souches par mis les 118 souches isolées. Ensuite le blé dur II, le blé tendre I, l’orge II et le blé dur I avec des charges de 17, 15, 11 et 09 respectivement. Le riz et l’orge I sont les moins contaminés avec des charges de 06 à 05 souches respectivement (tableau 7).

Tableau 7: nombre de souches isolées par type de céréales.

Type de céréales / Souche	Riz I	Orge I	Blé dur I	Blé dur II	Blé tendre I	Maïs I	Orge II
<i>Aspergillus</i>	01	05	08	01	02	14	00
<i>Aspergillus niger</i>	00	00	00	02	05	02	01
<i>Penicillium</i>	01	00	00	03	07	17	01
<i>Fusarium</i>	00	00	00	01	00	12	02
<i>Trichoderma</i>	01	00	00	00	00	06	00
Mucors	00	01	00	00	01	01	00
Divers	02	00	01	10	00	03	07
Nombre total (118)	05	06	09	17	15	55	11

En terme de genre, *Aspergillus* domine avec 34,7% dont 8,5% dû à *A. niger* ; en deuxième lieu *Penicillium* avec 24,6%. Les autres : divers 17 %, *Fusarium* 12,7%, *Trichoderma* 6% et *Mucor* 2,5% (Figure 5).

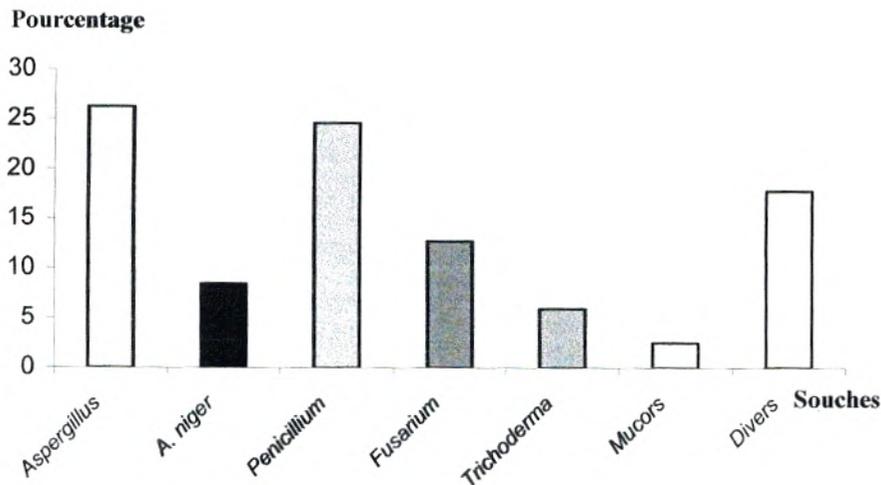


Fig. 5: Pourcentage des souches isolées.

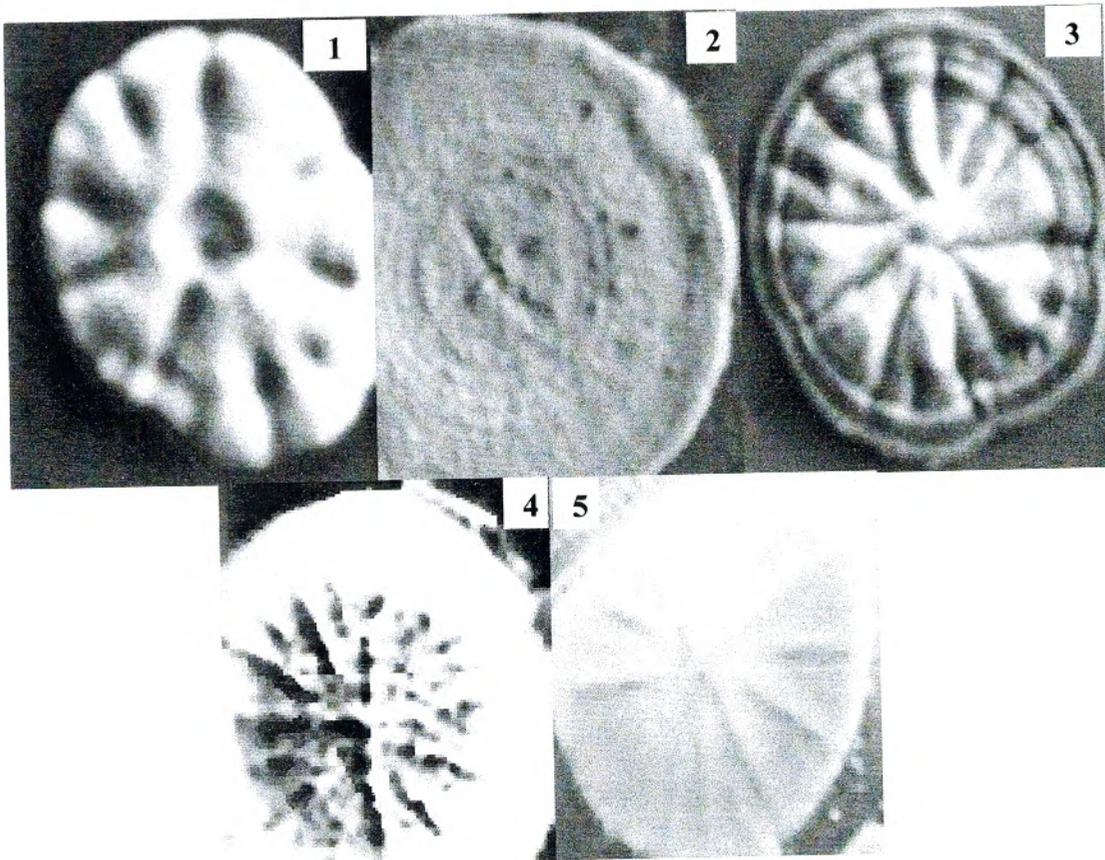


Photo 6: Photos des souches isolées :

- 1- *Penicillium* sur milieu CYA 4°C
- 1- *Penicillium* (B.T₂) sur milieu CDA
- 2- *Penicillium* (B.T₂) sur milieu G25N
- 3- *Aspergillus flavus* (O₂) sur milieu AFPA (Recto)
- 4- *Aspergillus flavus* (O₂) sur milieu AFPA (Verso)

Partie II : Effet antifongique des essences végétales:

I- Tri des souches testées:

Un classement préliminaire par groupe de souches présentant les mêmes caractéristiques: aspect morphologique du mycélium, couleur de thalle, vitesse de croissance et présence de métabolites secondaires à été réaliser.

Ensuite sept souches ont été sélectionnées pour les tests antifongiques (tableau 10) qui sont des espèces causant la détérioration des céréales ou provoquant des risques sanitaires (la sécrétion des mycotoxines) ou les deux.

Pour les *Fusarium*, nous avons utilisé une souche de référence (*F. oxysporum*) responsable des problèmes au niveau de stockage des céréales et non les souches isolées et cela est à cause de leurs vitesses de croissance lentes. Concernant la souche de référence de *Fusarium oxysporum* (F₁₆) son origine est: Laboratoire de mycologie, Département de biologie, Université Abou Bekr Belkaid - M. Moussaoui A. -

Tableau 10: Souches tests.

Code de la souche	Genre (Espèce)
O ₂	<i>Aspergillus flavus</i>
B.D.B ₅	<i>Aspergillus niger</i>
B.T ₂	<i>Penicillium viridicatum</i> sbs <i>verrucosum</i>
F ₁₆	<i>Fusarium oxysporium</i> (souche de référence)
O ₁₁	<i>Alternaria</i>
R ₃	<i>Trichoderma</i>
O ₁	<i>Rhizopus stolonifer</i>

II- Rendement des huiles essentielles:

Selon la figure ci-dessous le rendement le plus élevé en huile essentielle est celui de *T. capitatus* avec 2,30% puis de *Origanum glandulosum* (1,90). L'*Eucalyptus globulus* présente le plus faible rendement (0,64%).

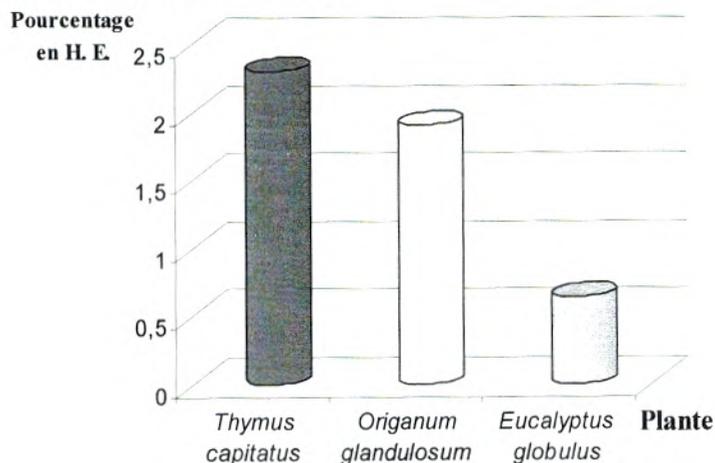


Fig.6: les rendements des plantes en huiles essentielles.

III– Effets antifongique des huiles essentielles :

III-1. Méthode de contact directe :

Pour l'effet antifongique des huiles essentielles, parmi, les trois tests, certains sont éliminés dont les résultats semblent être incorrectes (Annexe III).

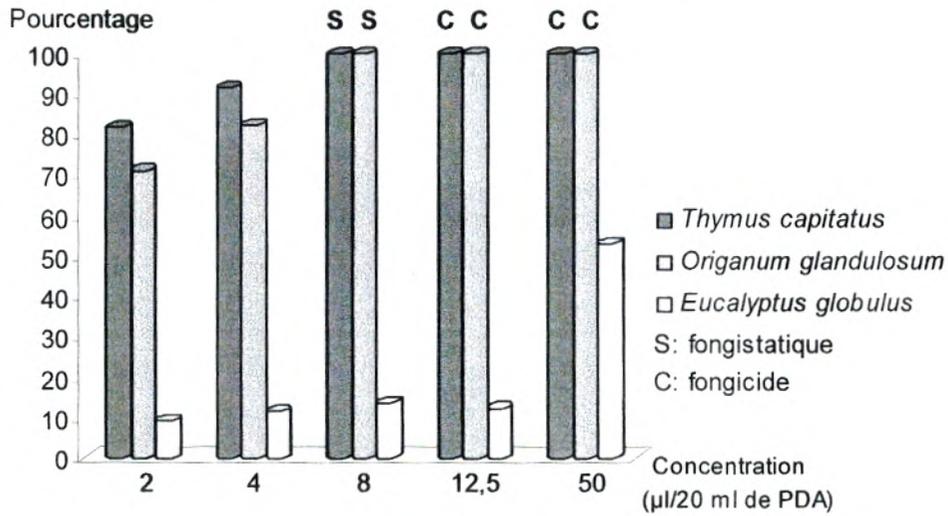


Fig. 7: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Aspergillus flavus*.

Les résultats de l'effet antifongique par contact direct sur *Aspergillus flavus* montre que les deux huiles possède un bon effet à des faibles concentrations avec un effet légèrement élevé pour *T. capitatus* que *O. glandulosum*. La concentration fongicide est de 12,5 µl/20ml de PDA (0,625 µl/ de PDA) pour les deux huiles. L'huile d' *E. golobulus* est le moins antifongique même à 50 µl où l'indice antifongique est de 53,33%.

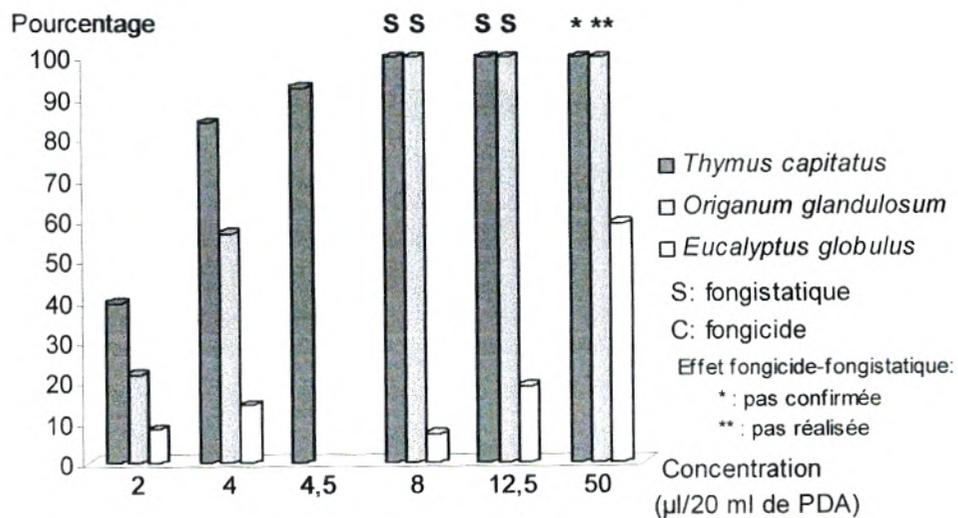


Fig. 8: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Aspergillus niger*.

A. niger, est plus résistante que *A. flavus* pour *T. capitatus* et *O. glandulosum*, par contre pour *E. globulus* *A. niger* est plus sensible. La concentration 12,5 μ l n'est pas fongicide pour les 2 huiles (*T. capitatus*, *O. glandulosum*). A 50 μ l d'*E. globulus* le pourcentage d'inhibition est de 58,97% dont elle constitue l'huile la moins efficace.

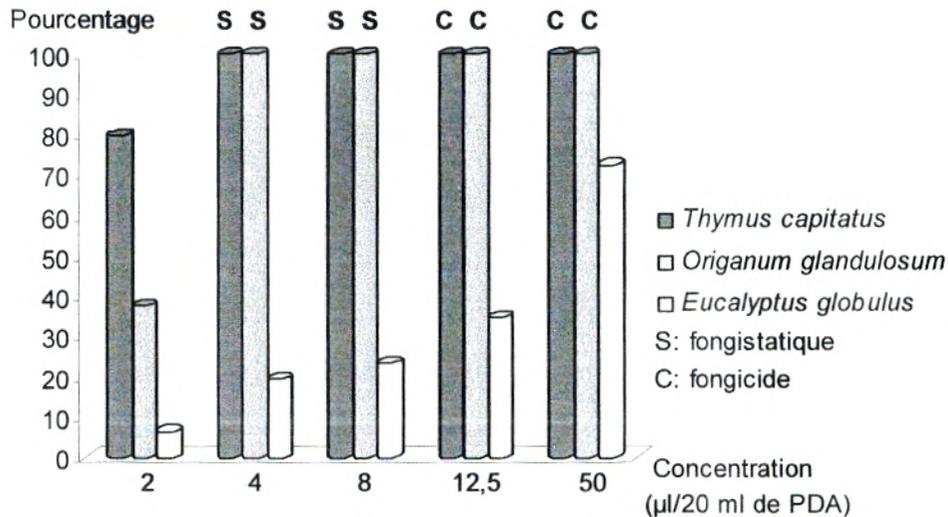


Fig. 9: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Penicillium*.

le *Penicillium* est sensible aux huiles essentielles. À une faible concentration de 2 μ l/20ml de PDA (0,1 μ l/ml de PDA) il apparaît un effet plus élevé de *T. capitatus* (80%) que celui d'*O. glandulosum* (37,78%). La concentration fongicide est de 12,5 μ l/20ml de PDA (0,625 μ l/ml de PDA) pour les huiles essentielles (*T. capitatus* et *O. galndulosum*). Par contre l'*E. globulus* représente l'huile la moins inhibitrice de la croissance avec 72,68% pour la concentration 50 μ l/20ml de PDA (2,5 μ l/ml de PDA).

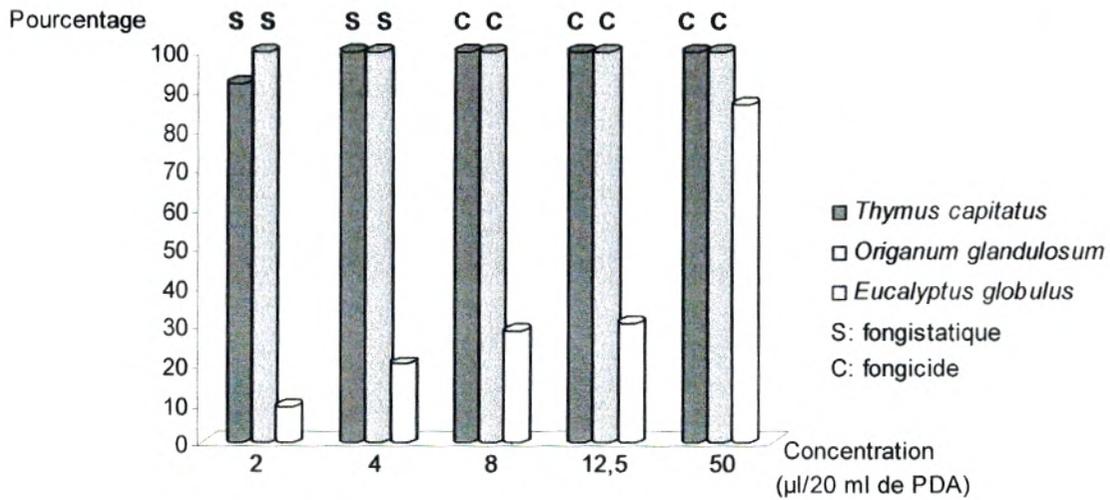


Fig. 10: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Fusarium oxysporum*.

F. oxysporum est l'espèce la plus sensible aux huiles de *T. capitatus* et *O. glandulosum* à 2 µl/20ml de PDA. L'effet fongicide apparaît à la concentration de 8µl/20ml de PDA. De nouveau, l'huile la moins efficace est celle de *E. globulus* avec 86,43% pour 50µl/20ml de PDA.

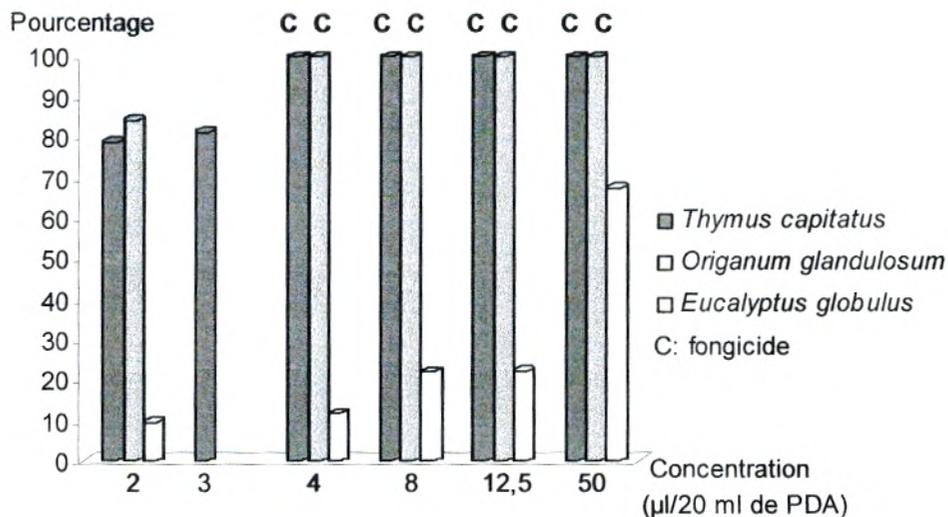


Fig. 11: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Alternaria*.

Les huiles d'*O. glandulosum* et de *T. capitatus* ont presque la même action avec léger effet pour *O. glandulosum*, et à faible concentration (4µl/20ml de PDA) il apparaît un effet fongicide. Pour *E. globulus*, elle est la moins efficace et à 50 µl/ml de PDA l'indice antifongique est de 67,28%.

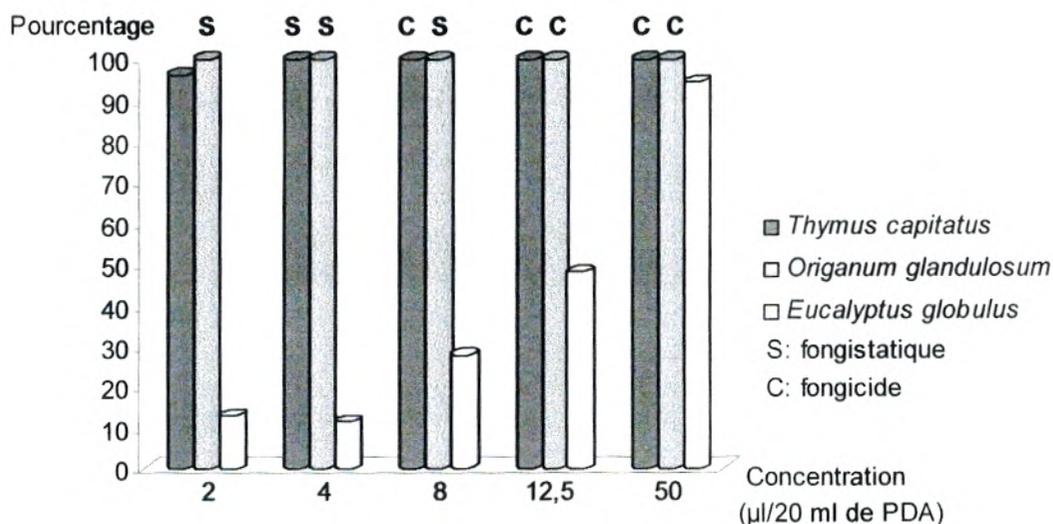


Fig. 12: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Trichoderma*.

Trichoderma est aussi très sensible aux huiles essentielles avec un effet légèrement important pour l'huile d'*O. glandulosum* que pour celle de *T. capitatus*. De même pour *E. globulus* à 50µl/ml il y'a 94,44% d'indice antifongique. Pour la concentration 8 µl/ml de PDA l'huile de *T. capitatus* est fongicide alors que celle d'*O. glandulosum* est fongistatique.

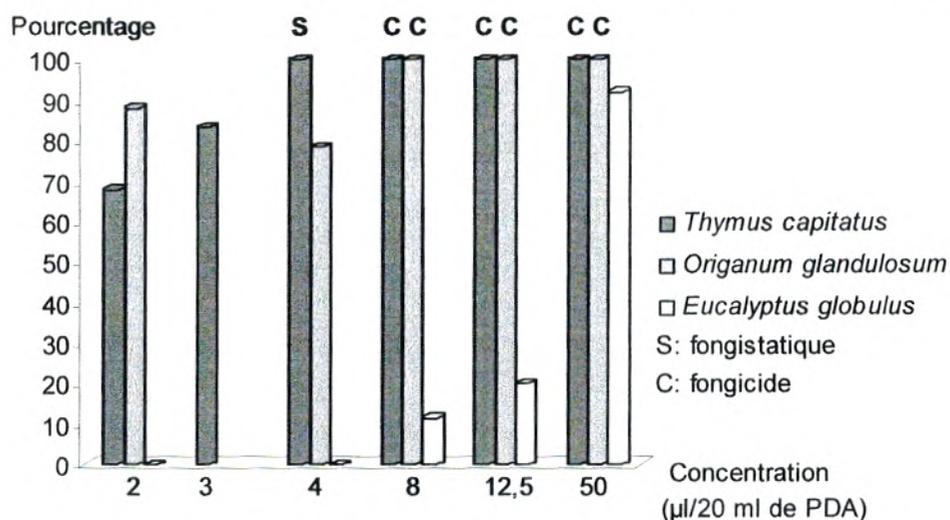


Fig. 13: Pourcentages d'inhibitions des huiles essentielles sur *Rhizopus stolonifer*.

La concentration 8 µl/20ml de PDA d'huiles de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* est fongicide, les concentration 2 et 4 µl/20ml de PDA semblent avoir des effets différents. A 2 et 4µl/20ml de PDA l'huile d'*E. globulus* semble être sans effet, par contre à 50µL/20 ml de PDA il on remarque un pourcentage d'inhibition de 91,85%.

Remarque : Pour le *Rhizopus stolonifer*, il faut noter que les mesures de l'effet antifongique doivent être étudiées non seulement avec les diamètres des zones de croissance (vitesse de croissance très rapide (28 à 36H)) mais aussi en tenant compte de la sporulation

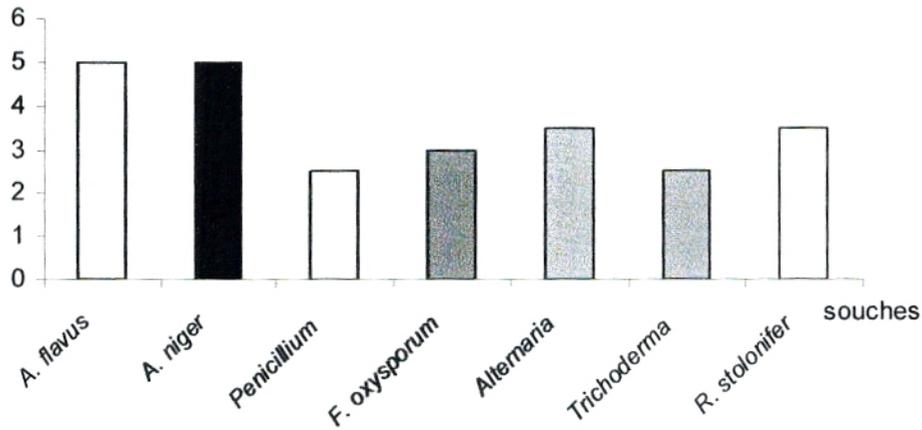
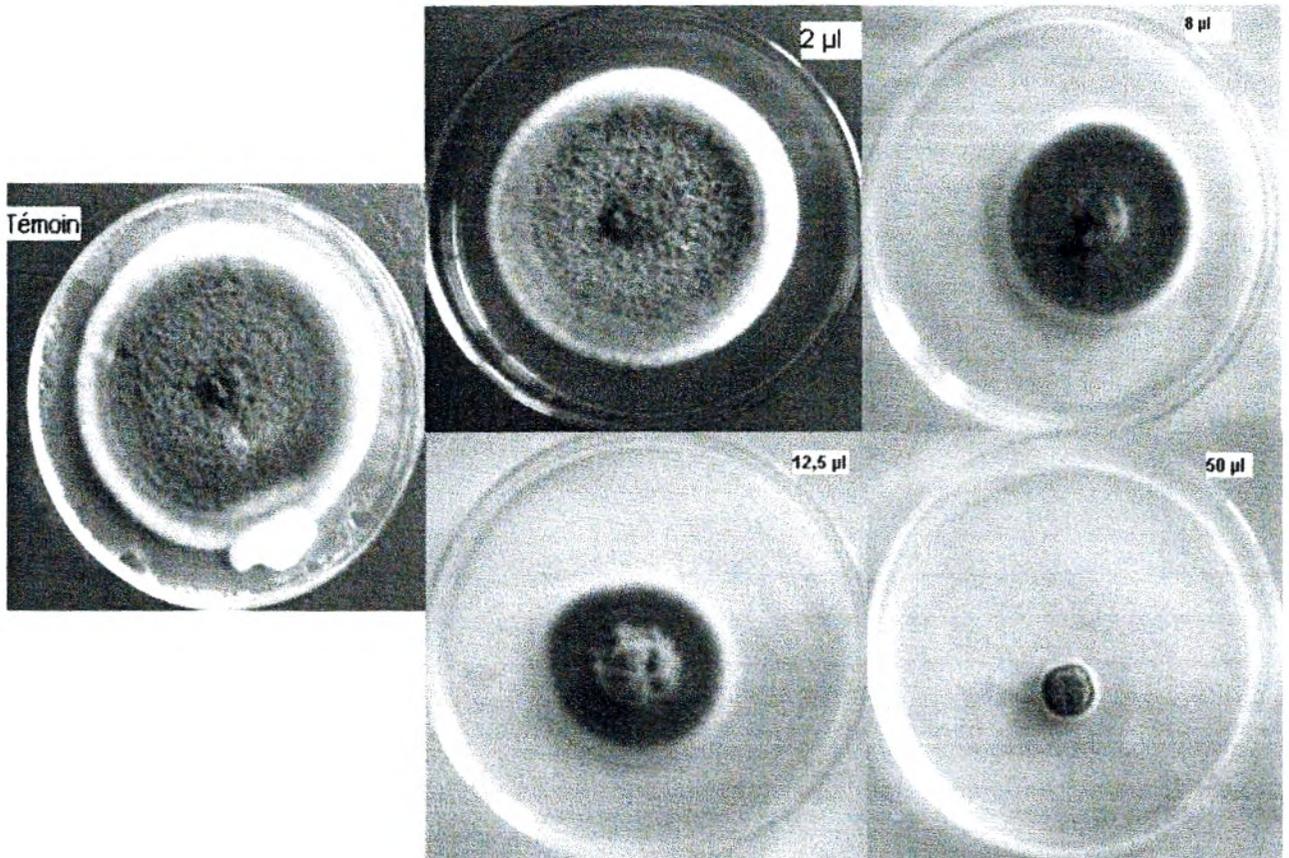


Fig. 14: la C.M.I d'huile de *T. capitatus* sur les souches test.

La C.M.I se trouve entre 2,5 et 5 µl/20 ml de PDA . Les *Penicillium* et les *Trichoderma* possèdent la plus faible CMI.

Les photos ci-dessous montre l'effet de l'huile essentielle d'*E. globulus* à différentes concentration sur *Alternaria* par méthode de contact direct.



Photos 7 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* à différentes concentrations (μl / 20 ml de PDA) sur *Alternaria*.

Résultats & interprétations

III-2. Résultats d'effet des vapeurs des huiles essentielles (in vitro) :

Tableau 11: résultats des observations macroscopiques et microscopiques de l'effet des vapeurs des huiles essentielles dans différentes étapes d'incubation et de traitement et en comparaison avec le témoin.

Périodes		T= 0 (Sans préculture)	Préculture (12H)	Après 5 H d'incubation (1 ^{er} niveau)	Après 5H d'incubation (2 ^{ème} niveau)	Après 5H d'incubation (3 ^{ère} niveau)	Après 24 H d'incubation (1 ^{er} niveau)	Après 24 H d'incubation (2 ^{ème} niveau)	Après 24 H d'incubation (3 ^{ème} niveau)
<i>Aspergillus flavus</i>	<u>Témoin</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> croissance intense, il y'a certains espaces intracellulaire	=	=	<u>Macroscopique :</u> colonie verte dans presque tout le morceau de PDA <u>Microscopique :</u> mycélium gonflé cloisonné en croissance.	=	=
	<u>Souche</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> début d'apparition d'espace blanchâtre intracellulaire (mycélium rétracter)	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> beaucoup d'espaces intracellulaires	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> beaucoup d'espaces intracellulaires de petites tailles	<u>Macroscopique :</u> pas de croissance -blanc transparent <u>Microscopique :</u> - Arrêt de la croissance du mycélium ; moins épaisse que le témoin; beaucoup d'espace intracellulaire (mycélium rétracter)	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent. <u>Microscopique :</u> espace intracellulaire ; arrêt de la croissance.	<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> Espace intracellulaire ; Arrête de la croissance

// : Pas réalisée

= : même remarque pour le 1^{er} niveau en garde pour les autres niveaux,

Résultats & interprétations

<i>Aspergillus niger</i>	<u>Témoin</u>	Plusieurs spores plus quelques filaments et quelques cellules séparées	<u>Microscopique :</u> Mycélium transport <u>Macroscopique :</u> formation d'un mycélium (intense)	<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc <u>Microscopique :</u> Mycélium cloisonné gonflé en pleine croissance	=	=	<u>Macroscopique :</u> -Colonie noire mature <u>Microscopique :</u> - hyphe normal	=	=
	<u>Souche</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc. <u>Microscopique :</u> Mycélium normal avec présence de points	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> pas jaune clair comme le témoin mais jaune	<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc <u>Microscopique :</u> des points dans le mycélium (peut être désorganisation cellulaire)	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> des points dans le mycélium	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> -mycélium déshydraté avec présence de points	<u>Macroscopique :</u> blanc <u>Microscopique :</u> Mycélium comme déshydraté- - arrêt de la croissance- des points dans le mycélium - taches jaunes.
<i>Penicillium</i>	<u>Témoin</u>	Un mycélium et quelques des spores	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> germination des spores -Vitesse de croissance lente	<u>Macroscopique :</u> Blanc transparent <u>Microscopique :</u> spores germées	=	=	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc - croissance <u>Microscopique :</u> - pas de sporulation -mycélium bon état -début de la formation de conidiocytes	=	=

//: pas réalisée ,

49

= : même remarque du témoin pour les deux autres niveaux .

Résultats & interprétations

	<u>Souche</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> spores germées	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> spores germées	<u>Macroscopique :</u> transparent <u>Microscopique :</u> spore germées	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> Spores germées -Arrêt de la croissance -des points dans le mycélium.	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> spores germées et certaines non germées	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> -spores germées -arrêt de la croissance -petits points dans
<i>Ustilidium oxysporum</i>	<u>Témoin</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> thalle blanc - <u>Microscopique :</u> mycélium blanc ; pas d'espace intracellulaire.	=	=	<u>Macroscopique :</u> colonie qui envahie toute la lame (mycélium rose) <u>Microscopique :</u> mycélium normal.	=	=
	<u>Souche</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> thalle transparent <u>Microscopique :</u> des espaces blancs intracellulaires et commencement d'une déchirure cellulaire	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> espace intracellulaire et commencement du déchirure du mycélium.	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> espace blanc intracellulaire	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> Pas de croissance - espace intracellulaire -mycélium rétracté dans certains endroits -une déchirure ou commencement d'une déchirure de mycélium.	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> Mycélium rétracter -espace intracellulaire	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> -arrêt de la croissance -espace intracellulaire

// : pas réalisée

50

= : même remarque du premier niveau aux en applique sur le 2^{ème} et 3^{ème} niveau du Témoin

Résultats & interprétations

<i>Alternaria</i>	<u>Témoin</u>	Beaucoup de spores et quelques fragments de mycélium	<u>Macroscopique :</u> mycélium transparent. <u>Microscopique :</u> germination des spores est formation d'un mycélium pas beaucoup changé. Mycélium pas beaucoup long. Certaines spores, non germées	<u>Macroscopique :</u> blanc transparent <u>Microscopique :</u> micro colonie germination -pas beaucoup de spores -Mycélium normale et on bonne état	=	=	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> - colonie - mycélium normal.	=	=
	<u>Souche</u>	//	//	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> -des points dans le mycélium	<u>Macroscopique :</u> mycélium transparent <u>Microscopique :</u> présence dans le mycélium des points	<u>Macroscopique :</u> - mycélium transparent <u>Microscopique :</u> Semble avoir un arrêt de croissance	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> - arrêt de croissance -espace intracellulaire - des points blancs	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent <u>Microscopique :</u> espace intracellulaire - arrêt de croissance au niveau micro colonie.	<u>Microscopique :</u> - Mycélium : arrêt de croissance -espace intracellulaire dans certains mycéliums <u>Macroscopique :</u> mycélium blanc transparent

//: pas réalisée .

=: même remarque en garde pour les & autres niveaux du Témoin .

Résultats & interprétations

<i>richoderma</i>	Témoin	Spores	Macroscopique : mycélium blanc transparent Microscopique : formation d'un mycélium	Macroscopique : mycélium Blanc transparent	=	=	Macroscopique : Colonie verdâtre tout le morceau de PDA. Microscopique : mycélium mince	=	=
	Souche	//	//	Macroscopique : blanc transparent Microscopique : - des points blancs dans le mycélium	Macroscopique : blanc transparent Microscopique : Des points blancs dans le mycélium entourer des points.	Macroscopique : blanc transparent	Macroscopique : blanc transparent -déchirure du mycélium Microscopique : Des points dans le mycélium.- espaces blancs.- espaces intracellulaire	Macroscopique : mycélium blanc transparent Microscopique : -des points dans le mycélium - semble avoir un arrête de la croissance	Macroscopique : blanc transparent. Microscopique : Déchirure du mycélium. - espaces intracellulaires -des points dans le mycélium.
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Témoin	- beaucoup des spores -plus très peu de fragments de cellules - peu de filaments complets	Macroscopique : mycélium blanc (vitesse de croissance rapide) Microscopique : formation de mycélium blanc	Macroscopique : thalle blanc Microscopique : mycélium gonflé en croissance	=	=	Macroscopique : Colonie sporuler entoure tout le morceau du PDA	=	=

// : pas réalisée.

= : même remarque en garde pour les 2 autres niveaux du Témoin.

Résultats & interprétations

<u>Souche</u>			<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc <u>Microscopique :</u> -présence de points à l'intérieur du mycélium	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc. <u>Microscopique :</u> présence des points	<u>Macroscopique :</u> Mycélium blanc. <u>Microscopique :</u> Semble avoir un arrêt de la croissance -Mycélium : présence des points verts et jaunes	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc. <u>Microscopique :</u> Des points dans le mycélium - des points blancs	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> des points dans le mycélium -des points blancs et d'autres dans le mycélium -des espaces blancs -arrêt de la croissance ? -Pas de sporulation	<u>Macroscopique :</u> mycélium blanc <u>Microscopique :</u> -pas de sporulation -des points dans le mycélium - mycélium non homogène il y'a des hyphes épais et fins - certains sporangiocytes mais peut être dé le début de l'ensemencement.- mycélium rétracté dans certains endroits qui peut être un début de déchirure.
	//	//						

//: pas réalisée.

Selon les résultats présentés dans le tableau 11 sur l'effet des vapeurs de l'huile de *T. capitatus*, les moisissures sont sensible par cette méthode comme le cas de la méthode de contact direct. Après 24 H de traitement il y'a saturation de l'enceinte par les vapeurs des huiles où les effets observés par microscope sur les hyphes sont presque identiques pour les différentes niveaux d'incubations (5, 15 et 30 cm) et l'effet commence après une lecture de 5H d'incubation.

Pendant les tests réalisés nous observons une sensibilité plus accrue des moisissures pendant le mois d'Août que pendant le mois de Septembre. Cela est du à l'effet de la température qui permet une meilleur évaporation et par conséquent un meilleur contact entre le mycélium et les vapeurs d'huile. Même la quantité récupérée après 24H de traitement est de 120 ou 180 μ l parmi les 300 μ l déposés. Les figures ci-dessous montre les observations microscopiques des moisissures.

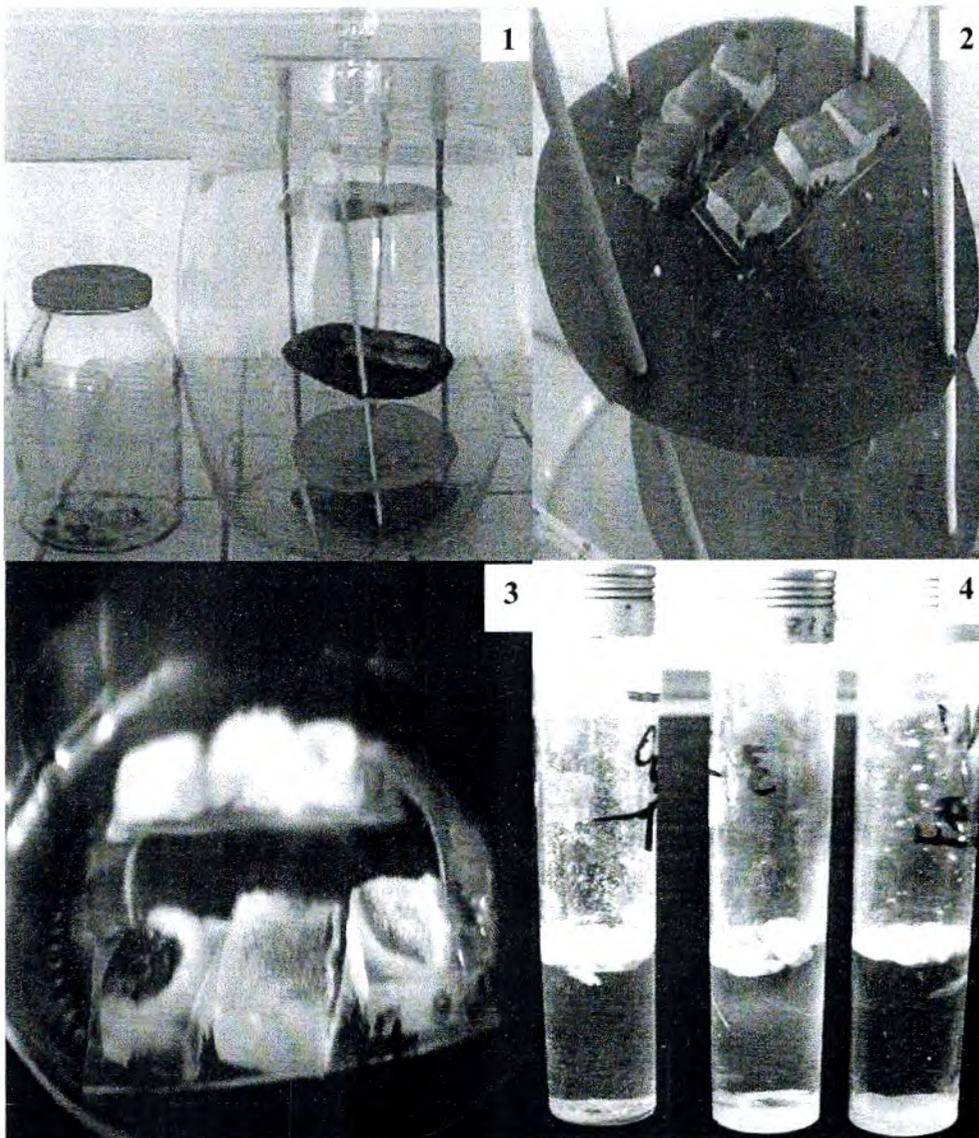
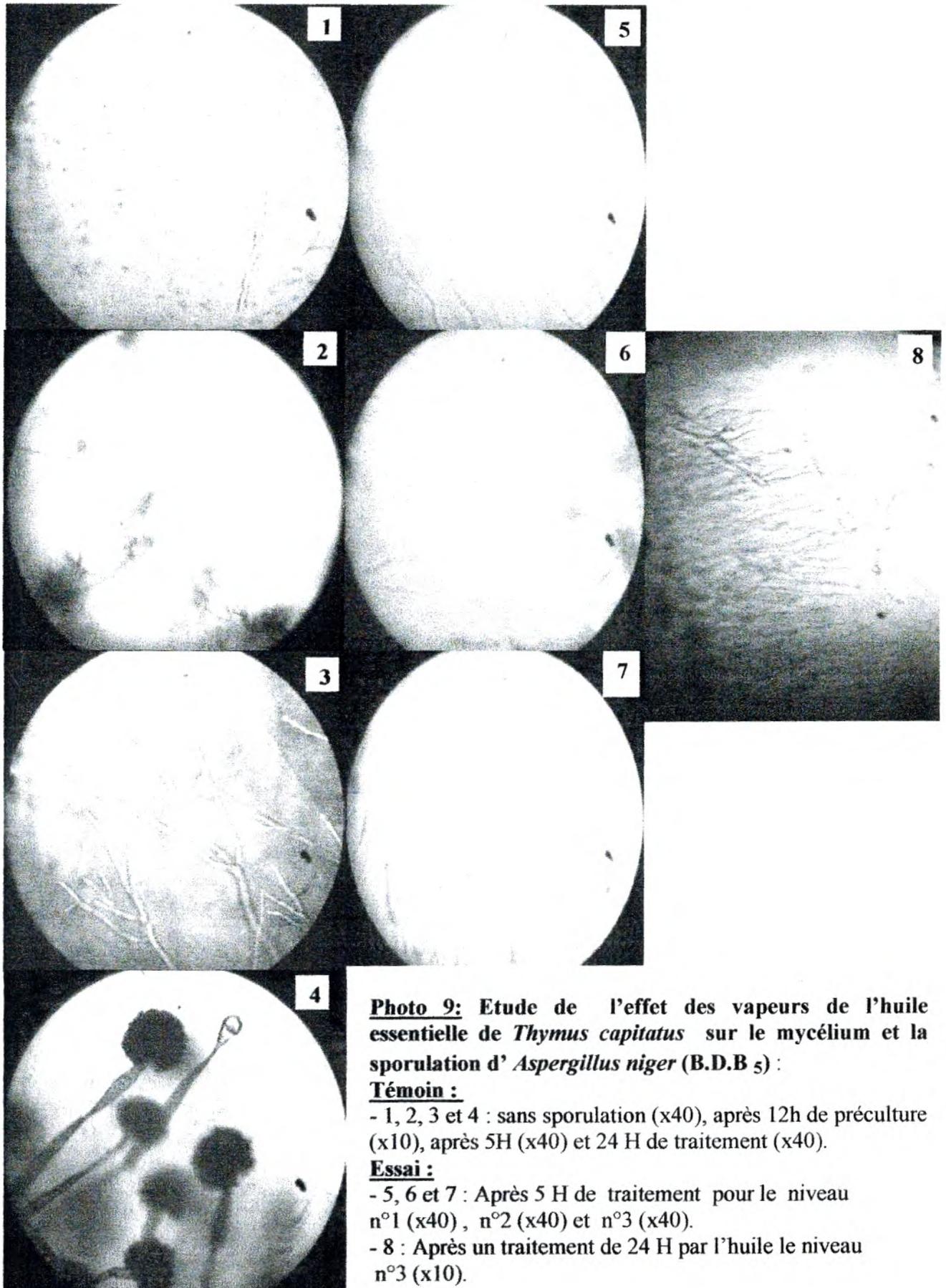


Photo 8: Etude de l'effet des vapeurs de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* (1, 2 et 3) et l'effet fongicide - statique sur milieu Y.E.S. sur d'*Aspergillus flavus* (témoin, 1^{er} niveau et 3^{ème} niveau) (4). 54



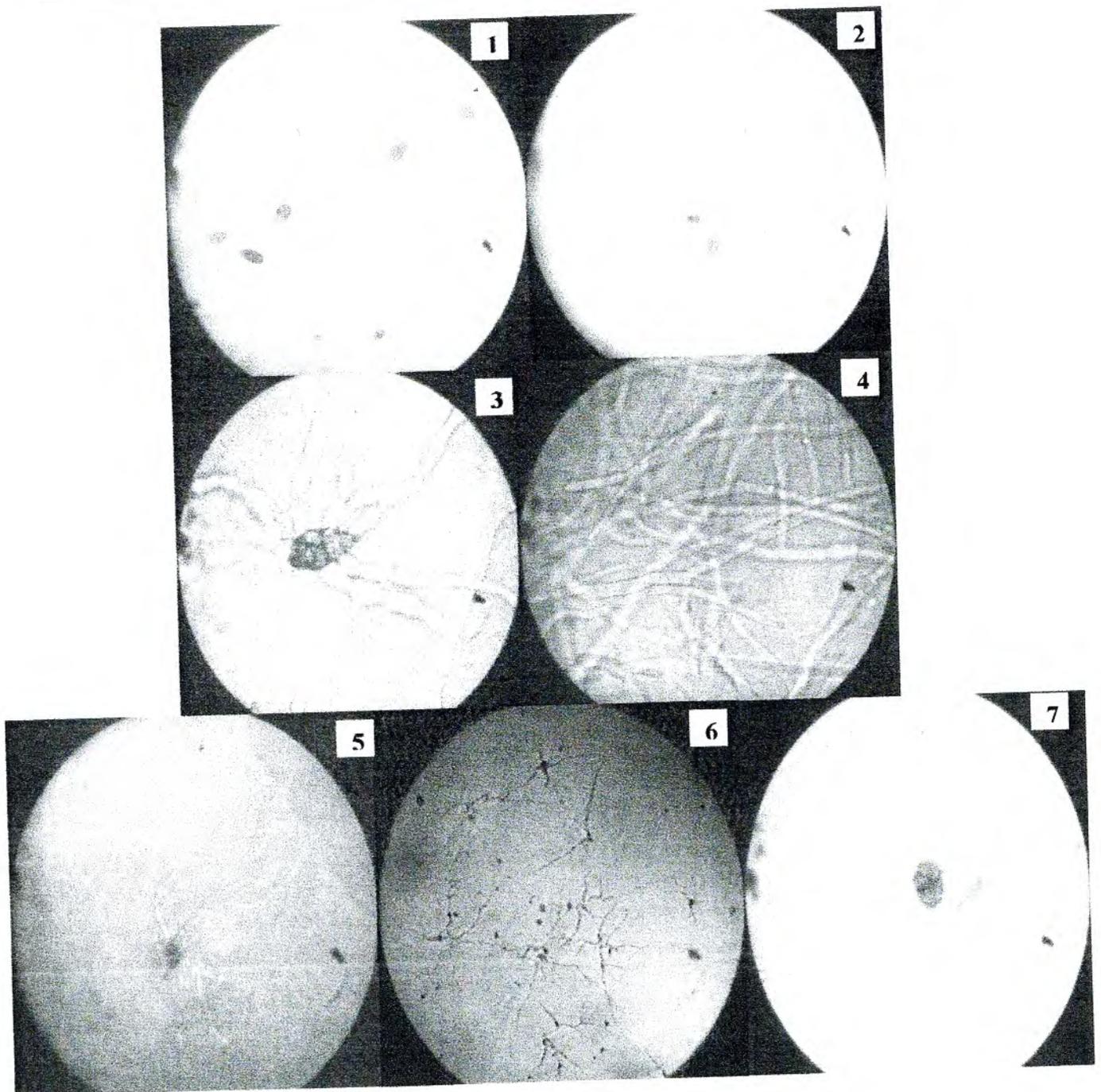


Photo 10: Etude de l'effet des vapeurs de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* sur le mycélium et la sporulation d' *Alternaria* (O₁₁) :

Témoin :

- 1, 2, 3 et 4 : sans sporulation (x40), après 12h de préculture (x40), après 5H (x100) et 24 H de traitement (x100).

Essai :

- 5: Après 5 H de traitement pour le niveau n°1 (x40).
- 6, 7 et 8 : Après un traitement de 24 H par l'huile le niveau n°1 (x10) et n°2 (x100).

**Tableau 12: Résultats de l'effet fongicide - fongistatique des vapeurs
d'huile essentielle de *T. capitatus* sur milieu Y.E.Sac.:**

	Témoin	1 ^{ère} niveau	2 ^{ème} niveau	3 ^{ème} niveau
<i>Aspergillus flavus</i>	Croissance du mycélium (à l'exception de <i>Rhizopus stolonifer</i>)	fongistatique	fongistatique	fongistatique
<i>Aspergillus niger</i>		fongicide	fongicide	fongicide
<i>Penicillium</i>		fongicide	fongicide	fongicide
<i>Fusarium oxysporium</i>		fongicide	fongicide	fongicide
<i>Alternaria</i>		fongicide	fongicide	fongicide
<i>Trichoderma</i>		fongicide	fongicide	fongicide
<i>Rhizopus stolonifer</i>		fongistatique	fongistatique	fongicide

Pendant le mois d'Août les vapeurs de l'huile essentielle de *T. capitatus* ont un effet fongicide pour toutes les souches à l'exception de *A. flavus* et *R. stolonifer* (3^{ème} niveau). Par contre, les effets sont devenus presque pour toutes les souches fongistatiques à la fin de mois d'Août et pendant le mois de Septembres.

Nous remarquons que l'effet est identique pour les trois niveaux d'où il y'a une saturation de l'enceinte par les vapeurs et un traitement de 24H suffisant.

III-3. Résultats de l'effet des vapeurs des huiles essentielles de *T. capitatus* sur le substrat (*in vivo*) :

III-3.1. Résultats d'isolement de moisissures par la méthode de dilution :

Tableau 13: résultats de la méthode de dilution.

	dilution	Témoin		Essai	
		PDAac.	PDAr.	PDAac.	PDAr.
1 ^{ère} niveau	10 ⁻¹	- 2 <i>Penicillium</i> - 10 colonies diverses	- 0 colonies	- 5 colonies diverses - 2 <i>A. niger</i>	- 0 colonies
	10 ⁻²	- 3 <i>A. niger</i>	- 0 colonies	- 0 colonies	- 0 colonies
2 ^{ème} niveau	10 ⁻¹	- 1 <i>Aspergillus</i> - 1 <i>A. niger</i> - 10 colonies diverses	- 8 <i>Aspergillus</i> - 1 <i>Penicillium</i>	- 1 <i>A. niger</i> - 26 colonies diverses	- 6 colonies diverse
	10 ⁻²	- 2 colonies divers	- 0 colonies	- 0 colonies	- 1 <i>Aspergillus</i> - 1 <i>Penicillium</i> - 1 colonies divers
3 ^{ème} niveau	10 ⁻¹	- 1 <i>Aspergillus</i> - 11 colonies diverses	- 1 <i>Penicillium</i>	- 1 <i>Aspergillus</i> - 7 colonies diverses	- 1 <i>A. niger</i> - 5 colonies diverse
	10 ⁻²	- 1 <i>Aspergillus</i> - 11 colonies diverses	- 0 colonies	- 1 colonie diverse	- 0 colonies
Nombre total des colonies		53	10	43	15

Les résultats montre que le PDAac. est plus favorable pour l'isolement des moisissures que PDAr. On observe une réduction de la charge mycologique après un traitement d'un mois par les vapeurs de l'huile de *T. capitatus* pour les niveaux un et trois où pour le première niveau : 15souches pour le témoin et 07 souches pour l'essai ; le deuxième niveau : 23 souches pour le témoin et 36 souches pour l'essai et enfin pour le troisième niveau 25

souches pour le témoin et 15 pour l'essai. A la fin du traitement il reste $\approx 10 \mu\text{l}$ non volatilisés parmi les 150 μl déposer.

III-3.2. Résultats d'isolement de moisissures par la méthode d'Ulster :

Tableau 14: résultats de la méthode d'Ulster.

	Témoin	Essai
1 ^{er} niveau	- 5 <i>Aspergillus</i> - 1 Mucor - 1 colonie diverse	- 2 <i>Aspergillus</i> - 1 Mucor
2 ^{ème} niveau	- 5 Mucors	- 4 <i>Aspergillus</i> - 2 Mucors - 4 colonies diverses
3 ^{ème} niveau	- 2 <i>Aspergillus</i> - 1 Mucors	- 3 Mucors
Nombre total des colonies	15	16

Pour la méthode d'Ulster à l'inverse de la méthode de dilution la charge mycologique reste identique pour le témoin et l'essai. Cela peut être expliqué par la nature des espèces qui possèdent la capacité de croître sur le substrat (blé tendre) et qui ont une résistance vis-à-vis des vapeurs d'huile essentielle. La photo 11 montre les silos artificiels et certaines souches isolées.

Remarque : nous observons une croissance de certains insectes dans la partie supérieure de l'enceinte.

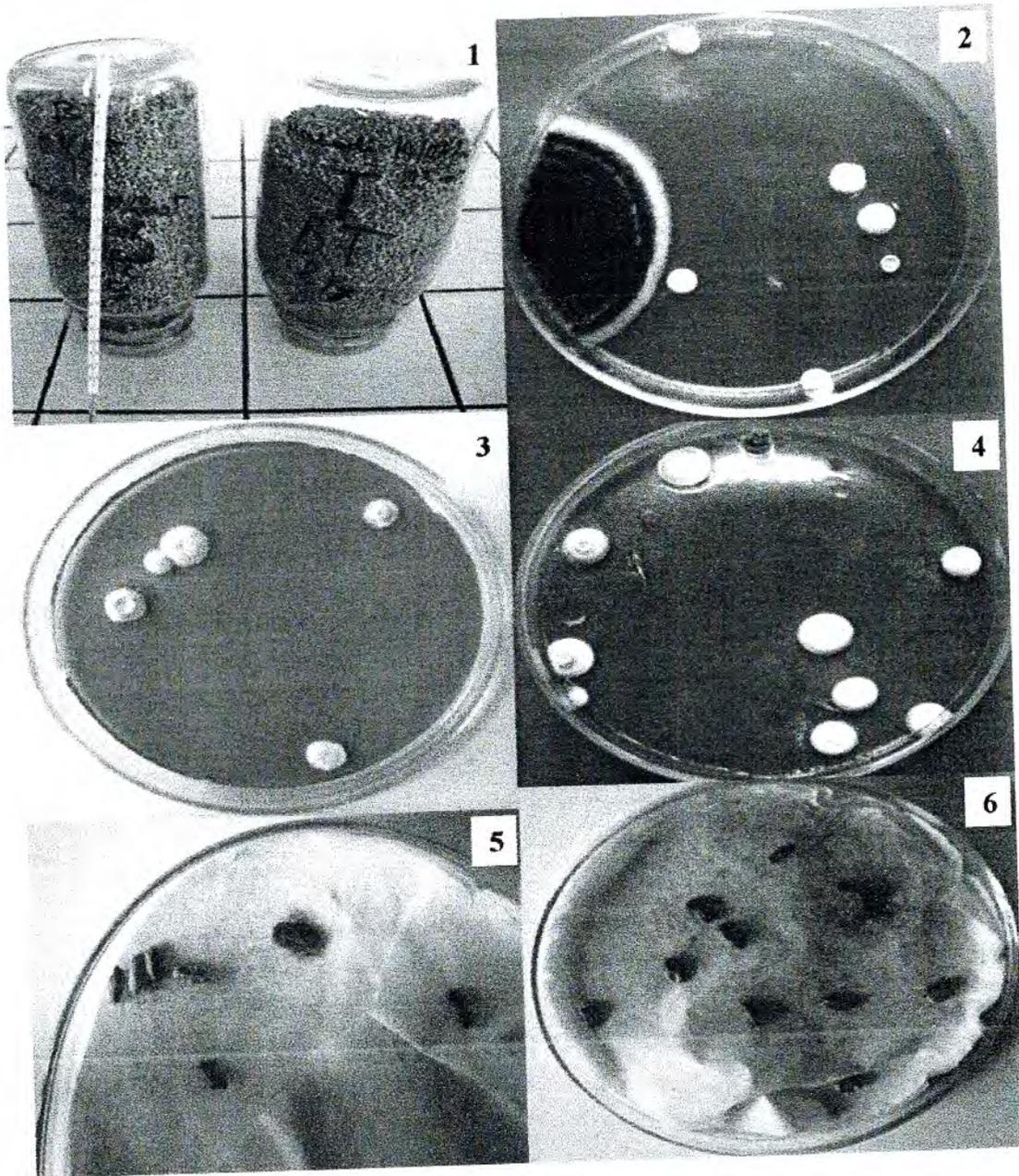


Photo 11: Résultats d'effet des vapeurs des huiles essentielles de *T. capitatus* sur le substrat (*in vivo*) :

* 1 : silos de l'effet des vapeurs des huiles essentielles (à droit le témoin et à gauche l'essai).
 * 2, 3, 4, 5, et 6: isolement des souches de moisissures par la méthode de dilution (2,3 et 4) et la méthode d'Ulster (5 et 6) après un traitement de 30 jours de blé tendre par l'huile essentielle de *Thymus capitatus* :

- 2 : témoin : PDAr. 10^{-2} (2^{ème} niveau)
- 3 : essai : PDAr. 10^{-1} (2^{ème} niveau)
- 4: essai : PDAr. 10^{-1} (3^{ème} niveau)
- 5: essai : PDAr. 10^{-1} (3^{ème} niveau)

Discussion

Les céréales sont à la base de l'alimentation humaine, leur détérioration présente un danger menaçant la nutrition des hommes et des animaux domestiques.

Les grains de céréales forment un excellent substrat pour les moisissures (Mills, 1990). Parmi les échantillons analysés (orge, blé tendre, blé dur, riz et maïs), le maïs révèle sa richesse par la plus grande charge mycologique de l'ordre de 55 souches dont les 118 ont été isolées (46,66%), ceci a été confirmé par les travaux de Moussaoui (1994), où selon la méthode d'Ulster, la moyenne totale des grains de maïs contaminés est d'environ 88,5% et 42,6%. Alors que les espèces isolées sont *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Trichoderma viridae*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum*, *P. expansum* et *P. lelacinum*.

D'autres auteurs reportent que le maïs constitue un substrat approprié pour la croissance, le développement et l'activité des moisissures de détérioration (Cuero et al., 1987 et Lacey, 1990 in Oyebanji et Efiuwewewere, 2000).

Nos résultats montrent que le taux de contamination du blé par les *Penicillium* est le plus élevé, suivi de celui des *A. niger*. Comparativement avec les études de Benmansour-Brixi (2005), le taux de contamination de l'espèce *A. niger* est le plus dominant. Cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains et la période de prélèvement.

Il est à noter que les espèces les plus dominantes dans nos échantillons de céréales sont les *Aspergillus* (34,74%) et les *Penicillium* (24,57%). Ces genres constituent la flore essentielle du stockage car ils tolèrent l'humidité la plus faibles (Godon et Loisel, 1997, Adebajo et Bankole 2003, Lacey J., Magan N., 1988). Par conséquent, ils sont responsables de la plupart des accidents de conservation d'origine microbiologique pour les produits considérés (Godon et Loisel, 1997).

D'autres moisissures ont été identifiées, nous citons les divers (*Ulocladium*, *Cladosporium*, *Balanium*, *Hylocladon*, *Epicocum*), les *Fusarium*, les *Trichoderma* et les Mucorales dont les pourcentages sont de 17,79%, 12,71%, 5,93% et 2,54% respectivement.

En effet, l'origine de la contamination des grains de céréales par ces moisissures est difficile de préciser (champ, transport, lieu de stockage,...). Selon, Molinié, Pfohl-Leskowicz, 2003, l'origine est mal connue, mais les spores disséminées par l'air peuvent provenir du champ ou de la poussière présente dans les infrastructures de stockage. Si les conditions de stockage sont défavorables, ces moisissures constituent des facteurs de bio-détérioration des céréales affectant la qualité technologique des matières premières, ou la qualité sanitaire par la sécrétion des mycotoxines.

Le parcours vers des nouvelles substances naturelles (huiles essentielles) comme des alternatives d'agents chimiques (gaz fumigants, ...) reste une solution prometteuse.

Les rendements en huiles essentielles obtenus sont plus élevés chez *T. capitatus* 2,30%, suivi de *O. glandulosum* 1,90% et *E. globulus* 0,64%. Ces résultats sont proches de la bibliographie à l'exception d'*E. globulus* où la différence est probablement due à la période de prélèvement, facteurs climatiques et géologiques.

Concernant le pouvoir antifongique, les résultats obtenus montrent que les moisissures les moins sensibles pour l'huile de *T. capitatus* par la méthode de contact direct sont les *A. niger*, *A. flavus*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria*, *Penicillium*, *F. oxysporum* et *Trichoderma*.

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

En outre, Solinas *et al.* (1981) in Kandil *et al.* (1994) ont mentionné que les principaux constituants biologiquement actifs dans cette huile essentielle sont des composés phénoliques en particulier le carvacrol (91%) et le thymol (9%).

La gamme des C.M.I de l'huile essentielle de *T. capitatus* varie entre 2,5 et 5 µl/20 ml de PDA. La plus élevée est celle d' *A. flavus* et de *A. niger* (5 µl/20 ml de PDA).

Suivant les travaux de Nguetack *et al.* (2004), l'huile essentielle du *T. vulgaris* réduit de 81% la croissance de *F. moniliforme* à 200ppm et d'*A. flavus* à 300ppm. Dans nos travaux, les pourcentages d'inhibition de *F. oxysporum*, *A. niger* et *A. flavus* par l'effet de l'huile essentielle du *T. capitatus* à 200 ppm (0.2µl/ml) sont de 100%, 83,86% et 91,47% respectivement. Nous déduisons un effet plus élevé pour *T. capitatus* que pour *T. vulgaris*. Dans le même contexte, Mishra et Dubey (1994) suggèrent que *Cymbopogon citratus* présente l'activité antifongique la plus forte par rapport à 14 plantes étudiées et à 9 fongicides synthétiques testés à 500ppm. Nos résultats révèlent, en les comparant à ceux de Mishra et Dubey (1994) que l'huile essentielle de *T. capitatus* est environ quatre fois plus efficace sur *A. flavus* (CMI environ 250ppm) que celle de *Cymbopogon citratus* (CMI 1000ppm). D'après Rasooli et Abyaneh (2004), les espèces de *Thymus* possèdent une très bonne activité antifongique, où les huiles essentielles de *T. eriocalyx* et *T. x-porlock* inhibent la croissance d'*Aspergillus parasiticus* et la production d'aflatoxine.

Pour l'huile essentielle d'*O. glandulosum*, les moisissures les plus résistantes sont *A. niger*, *A. flavus*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma* et *F. oxysporum*. Ces résultats sont comparables avec les travaux de Belhattab *et al.* (2004).

Didry *et al.* (1993) in Belhattab *et al.* (2004), ont trouvé un effet antifongique fort de carvacrol qui est le composé majoritaire des plantes d'origan. D'autres composés phénoliques peuvent être majoritaires, tel que le groupe carvacrol et/ou thymol (Ruberto *et al.*, 2002).

Pour l'*O. glandulosum*, les pourcentages d'inhibition et les C.M.I pour *F. oxysporum* et *A. flavus* à environ 200 ppm (4µl/20ml) sont de l'ordre de 100% (C.M.I =100ppm) et 82,50% (C.M.I = 400ppm) respectivement. Cette activité est très bonne par rapport à l'huile essentielle d'*O. gratissimum* à 200 ppm étudiée par Nguéfack J. *et al.* (2004). Ces auteurs rapportent que l'huile essentielle d'*O. gratissimum* réduit de manière significative la croissance mycélienne de *F. moniliforme* et de *A. flavus* de 86% (CMI = 500ppm) et 66% (C.M.I = 600ppm) respectivement .

Les *Aspergillus* et les *Penicillium* semblent être plus sensibles pour l'huile de *T. capitatus* que pour celle d'*O. glandulosum* et l'inverse pour les autres souches. Les huiles essentielles de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont fongicides à 4, 8 et 12,5µl, pour *Alternaria*, *F. oxysporum* et *R. stolonifer*, *Penicillium* et *A. flavus* respectivement. Pour le *Trichoderma* les concentrations fongicides des huiles essentielles du *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont 8 et 12,5 µl respectivement. Les huiles essentielles de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont fongicides à 4, 8 et 12,5µl, pour *Alternaria*, *F. oxysporum* et *R. stolonifer*, *Penicillium* et *A. flavus* respectivement. Pour le *Trichoderma* les concentrations fongicides des huiles essentielles du *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont 8 et 12,5 µl respectivement. De même pour, *A. niger* les concentrations fongicides de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont d'environ 50µl ou plus.

En ce qui concerne l'huile essentielle d'*E. globulus*, l'effet antifongique est faible par rapport aux deux autres huiles (*T. capitatus* et d'*O. glandulosum*). Les espèces les plus sensibles sont *Trichoderma*, *Rhizopus stolonifer*, *F. oxysporum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *A. niger* et *A. flavus* pour 50µl/20ml de PDA.

Selon Pattnaik *et al.* (1996) et Pattnaik *et al.* (1997), l'espèce *F. oxysporum* est plus résistante que *A. fumigatus*, *A. oryzae* et *A. citrii*. De même, nos essais révèlent que *Rhizopus stolonifer* est plus résistante à 0,1 et 0,2 µl/ml par rapport aux travaux de De Soura *et al.* (2005) qui ont montré que l'huile essentielle d'*E. globulus* est plus active sur *Rhizopus* spp, *A. niger*, *Penicillium* spp, *A. flavus* et *Fusarium* spp. La variabilité des résultats est due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les micro-organismes testés et les huiles essentielles utilisées (Pattnaik S. *et al.*, 1996). Il faut noter que notre méthode utilisée dans l'étude de l'effet antifongique est différente de la plus part des études ainsi rapportées dans cette discussion où ils utilisent la méthode de diffusion sur disques.

Parmi les espèces opportunistes de *Fusarium* (*F. soloni*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. acuminatum* et *F. chlamydosporum*), *F. oxysporum* est le plus résistant par l'effet de l'huile essentielle d'*E. globulus* (65-80% cineole) par la technique des disques de papiers et sa concentration CMI est de l'ordre de 250 µl/ml de bouillon de Sabouraud glucose (Rai, 1999).

L'étude du pouvoir antifongique, par fumigation de l'huile essentielle de *T. capitatus* sur les spores et les mycéliums de sept souches de moisissures dans une enceinte, révèle un effet plus remarquable signalé pendant le mois d'Août par rapport au mois de Septembre et la fin d'Août à cause de la température élevée du traitement (température ambiante du laboratoire). L'effet antifongique commence après une lecture de 5H d'incubation et après 24 H de traitement les effets observés par microscope sur les hyphes sont presque identiques pour les différents niveaux d'incubations (5, 15 et 30 cm). En parallèle, les vapeurs de l'huile essentielle de *T. capitatus* ont un effet fongicide pour toutes les souches à l'exception d'*A. flavus* et *R. stolonifer* (3^{ème} niveau).

L'espèce *A. flavus*, l'agent toxigène, semble avoir la plus grande résistance d'où l'observation d'un effet fongistatique sur milieu Y.E.Sac.

Selon les travaux de Paster *et al.* (1995), les huiles essentielles de *Origanum vulgare* (54% thymol, 5% carvacrol) et *Coridothymus capitatus* (41% thymol and 4% carvacrol) ont été appliquées pour 24 H comme fumigènes contre les mycéliums et les spores d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus ochraceus* dans une enceinte de 3,4 litres. La C.M.I de l'huile d'origan requise pour empêcher la croissance mycélienne était de 2.0 µl/L. Par contre, l'huile essentielle de thym était moins efficace et la croissance était observée même à 4.0 µl/L. Cependant, l'huile essentielle de thym était fongitoxique aux spores (C.M.I 3.0 µl/L). Nous remarquons qu'un traitement de 24H par les vapeurs d'huile essentielle est suffisant d'où une saturation complète de l'enceinte. L'huile essentielle de *T. capitatus* possède une très bonne activité antifongique par les deux méthodes d'étude décrites précédemment à de faibles concentrations. Suhr et Nielsen (2003) mentionnent que l'effet antifongique des huiles essentielles dépend de la méthode d'application. Les grands composés phénoliques tels que le thymol et l'eugénol (thym, cinnamoun et clou de girofle), appliqué directement au milieu, ont eu un meilleur effet, tandis que les plus petits composés tels que allyl isothiocynate et citral (mustard et lemongrass) étaient les plus efficaces par vaporisation.

Des modifications morphologiques (espaces intracellulaires, déchirures mycéliens,...) ont été observés sur les sept moisissures. Ces observations étaient confirmées par les travaux de De Billerbeck (2000) sur le mycélium d'*A. niger* sous l'effet des vapeurs d'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson. dans des bioréacteurs de 2 litres (dépôt de 20µl) et 16 litres.

Il s'est avéré que le thym (carvacrol 80%) a montré une activité inhibitrice particulièrement élevée contre la croissance fongique et la sporulation d'*A. fumigatus*, *F. solani*, *P. expansum* et *R. oryzae* (Inouye *et al.*, 1998). Ces effets anti-sporulations de vaporisation d'huiles essentielles (citron, de lavande et de thym) semblent avoir une corrélation avec leur activité inhibitrice de respiration plutôt qu'avec leur activité inhibitrice de croissance. L'exposition des cultures fongiques aux vapeurs d'huiles essentielles actives cause le bordage des bouts hyphes aériens (*R. oryzae*) ou le développement incomplet des conidiophores (*A. fumigatus*).

L'essai de l'application de l'effet des vapeurs des huiles essentielles des plantes sur les céréales représente le but réel de cette étude.

La vaporisation de l'huile à la concentration d'environ 52 µl/L (140µl/ 2,7 L) après un mois de traitement révèle une réduction (de 24%) de la charge mycologique externe confirmée par la méthode de dilution. Contrairement, pour la méthode d'Ulster il n'y a pas une différence entre l'essai et le témoin pour les trois niveaux. Nous pouvons expliquer cela par l'absence de l'effet antifongique de l'huile essentielle sur la mycoflore interne qui peut être due à la faible concentration évaporée d'une part, ou à la difficulté de pénétration des vapeurs de l'huile essentielle au sein des grains d'autre part.

Il est à signaler que le moisissement et la production de mycotoxines ont été empêchés par 9µl d'huile de cinnamon ajoutés directement et mélangés avec un gramme de grains de riz (Patkar *et al.*, 1994).

Par comparaison des deux premières méthodes (contact direct et l'effet des vapeurs des huiles essentielles dans une enceinte), cette méthode est la moins efficace dans notre essais malgré la concentration élevée par rapport à l'étude de Paster *et al.* (1995) (10 à 20 µl/L). Ceci peut être expliqué par la méthodologie utilisée où il y a absence de force d'injection des vapeurs, température faible, ainsi qu'une longue durée de traitement (30 jours) pouvant favoriser la résistance des germes. Selon l'étude de Suhr et Nielsen (2003), la méthode employée pour le criblage des huiles essentielles en tant que potentiels antimicrobiens devrait correspondre à l'application cherchée.

Il faut noter de même l'effet de la période du traitement, où les travaux de Marín *et al.* (2004), citent qu'à l'inverse de certaines huiles étudiées (Cinnamon, Clove, Lemongrass et Palmarosa), l'addition de l'huile d'origan aux grains de maïs non stérilisés (500 µg/g) stimule, après 24 heures d'incubation, la sécrétion de zearalenone par *Fusarium graminearum* à une Aw de 0,950 et 30°C.

Le taux d'humidité joue un rôle important pendant le traitement. Paster *et al.* (1995) supposent que la pénétration des huiles dans les parties internes du grain pourrait être améliorée en présence de l'eau (le thymol se volatilise dans les vapeurs d'eau), et donc des microbes pathogènes pourraient plus facilement être contrôlés dans les parties intérieures des grains moites.

Les résultats de Paster *et al.* (1995) ont prouvé que l'origan est fortement efficace en contrôlant les moisissures internes de blé, alors que le thym, le carvacrol et le thymol étaient moins efficaces.

Le traitement des silos de stockage par les huiles essentielles peut présenter le défaut d'inhiber la germination des graines si celles-ci sont destinées à la culture. En effet, Paster *et al.* (1995) signalent que le traitement par l'huile d'*O. vulgaris* (5 µl/L), le carvacrole et le thymol (20 µl/L) réduit la germination des graines de blé.

Conclusion

La salubrité et la conservation des grains de céréales constituent un problème important à l'échelle mondiale car elles touchent la survie des hommes et des animaux domestiques.

Le but de ce travail est l'étude des effets de trois huiles essentielles de *T. capitatus*, d'*O. glandulosum* et d'*E. globulus* sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales.

Selon les analyses mycologiques, la charge mycologique la plus élevée est celle du maïs de l'importation, qui représente un substrat très favorable pour la croissance des moisissures.

La mycoflore isolée est diversifiée, à l'exception de *Claviceps purpurea* qui n'a pas figuré dans nos isollements, les principales moisissures responsables de la sécrétion des mycotoxines dans les céréales ont été isolées.

Les plantes locales testées possèdent de bons rendements en huile essentielles qui sont les suivants : 2,30% ; 1,90% et 0,64% pour *Thymus capitatus*, *Origanum glandulosum* et *Eucalyptus globulus* respectivement.

En plus de leurs rendements importants, les huiles essentielles des plantes testées possèdent aussi des effets antifongiques très élevés même à faible concentration, à l'exception de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* qui même à la plus grande concentration utilisée (2,5µl/ml) elle ne présente pas un effet inhibiteur total sur les sept souches étudiées.

Les moisissures sont très sensibles à la méthode de contact direct. Malheureusement les espèces d'*Aspergillus* sont les plus résistantes, parmi elles *A. flavus* qui est l'agent de la sécrétion d'Aflatoxine, responsable d'un effet néfaste pour l'organisme.

La méthode d'étude de l'effet des vapeurs des huiles essentielles pendant le mois d'Août a donné un très bon résultat vis-à-vis des sept souches à la concentration de 5,2 ou 7,8 µl/L qui sont fongicides pour l'ensemble des espèces, et elles sont fongistatiques pour la souche d'*A. flavus*.

Les essais de l'effet antifongique des huiles essentielles sur le substrat (blé tendre) montrent que la charge mycologique externe diminue, par contre la charge mycologique interne reste la même.

Le but réel de ce travail est l'application des huiles essentielles en tant que substances naturelles à la place des produits chimiques utilisés dans les structures de stockages. Malheureusement, ces essais préliminaires n'ont pas donné de grands résultats. Nous pensons qu'il faut rechercher une méthodologie adéquate, c'est à dire fumigation ou agitation des huiles essentielles avec les grains et la détermination des concentrations idéales.

La teneur en eau des grains pendant leur traitement est très intéressante ce qui est confirmé par le travail de **Paster et al.** en 1995, et par conséquence le traitement semble être plus efficace avant le séchage des grains stockés.

En fin, nous espérons que ce modeste travail serait complété par d'autres travaux portés sur :

- L'étude de l'effet antifongique de chaque fraction d'huile essentielle surtout pour l'*Origanum glandulosum* et *Thymus capitatus*.
- La recherche d'une méthode adéquate telle que le traitement des grains et graines stockés.
- L'étude des effets insecticides de huiles essentielles car les insectes représentent avec les moisissures les agents les plus importants de la détérioration des céréales.
- L'application des essences végétales pour le traitement d'agents phytopathogènes tel que le Bayoud causé par *Fusarium oxysporum F. sp. Albedinis*.
- La réalisation d'une étude toxicologique avant l'application des huiles essentielles au niveau des silos de stockages. Selon **Bruneton, 1999** les huiles essentielles possèdent des toxicités chroniques, dermiques et des effets cancérogènes.

Les huiles essentielles d'origan et du thym peuvent être utilisées comme alternatives des produits chimiques pour la protection des stocks de céréales.

Références bibliographiques

- القرآن الكريم : سورة « يوسف » من الآية رقم 45 إلى الآية رقم 49.
- Abramsona, D. ; Hulasareb, R. ; Yorkc, R.K. ; Whitea, N. D. G. ; Jayasb, D.S. 2005. Mycotoxins, ergosterol, and odor volatiles in durum wheat during granary storage at 16% and 20% moisture content. *Journal of Stored Products Research* 41, pp. 67–76.
- Adebajo, A. and Bankole, S.A. September 2003. Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (9), pp. 254-263.
- Akinsanmi, O.A.; Mitter, V.; Simpfendorfer, S.; Backhouse, D. and Chakraborty, S. 2004. Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55, pp. 97-107.
- Alias, C. et Linden G., 1997. *BIOCHIMIE ALIMENTAIRE*. 4^e édition , MASSON, Paris. 248 pages.
- Angladette, A., 1966 : *LE RIZ*. Collection : *TECHNIQUES AGRICOLES ET PRODUCTIONS TROPICALES*. Edition MAISONNEUVE G.-P.&LAROUSE, Paris.
- Anonyme, septembre 2003. *Information Eucalyptus : Présentation générale de l'Eucalyptus*. Afocel : lettre d'information semestrielle eucalyptus Numéro 1. *Fiche Information Eucalyptus n°1*, pp. 1-4.
- Baba Aissa, F. 1999. *Encyclopedie Des Plantes Utiles – flore d'Algérie et du Maghreb*. Édition : Librairie Moderne – ROUIBA. page 195.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing Company. Minnesota (USA): 3^{ème} edition.
- Bekhechi-Benhabib, C., 2001. *Analyse d'huile essentielle d'Amoïdes verticillata (Nûnkha) de la region de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien*. Thèse de magister, Algérie, Institut de Biologie – Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.
- Belaïche, P., 1979. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome1 l'aromatogramme. Maloine S.A. EDITEUR, Paris. 1979. 204 pages.
- Belhattab, R.; Larous, L.; Kalantzakis, G., Boskou D. and Exarchou V. 2004. Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Food, Agriculture & Environment* Vol.2 (1), pp. 69-73.

- Benmansour-Brixi, Gormat N. 2005. Etude microbiologique et mycotoxicologique des blés stockés dans la région de Tlemcen et l'influence des facteurs physiques sur l'aflatoxinogénèse. Thèse de Magister, Algérie, Département de Biologie – Faculté des Sciences, Université Djillali Liabes - Sidi Bel Abbes -. 106 pages.
- Bouix, M. et Leveau, J.-Y. 1993. Microbiologie Industrielle- les micro-organismes d'intérêt industrielle. 2 : Les moisissures. Tec&doc-Lavoisier, Paris. collection sciences et techniques AGRO-ALIMENTAIRE. 612 pages.
- Bourgeois, C.M. ; Mescle, J.F. ; Zucca J. 1996. Microbiologie Alimentaire. Tome1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. 672 pages.
- Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie- Phytochimie -Plantes médicinales. 3^e édition Technique&Documentation. 1120 pages.
- Cheftel, J.-C. et Cheftel, H., 1977. INTRODUCTION A LA BIOCHIMIE ET A LA TECHNOLOGIE DES ALIMENTS.II-3. GRAINES VEGETALES. Volume 1.Technique et Documentation – Lavoisier. pages 105-130.
- Christensen, C.M.; Meronuk, R.A.and Sauer D.B. 1982. Microflora.. Chapter 9. In: Storage of cereal grains and their products (Christensen C. M. Ed), American Association of Cereal Chemists, St. Paul, pp 219-240.
- Chawla, K. 1984. Management of Cereal Grain in Storage. AGRI – FACTS. Practical Information for Alberta's Agriculture Industry. Agdex 736-13, pp. 1-5.
- Crespo, M.E; Jiménez J. and Navarro C. 1991. Special Methods for the Essential Oils of the Genus *Thymus*. Modern Methodes for plant analysis, **12**, pp. 41-61.
- DE BILLERBECK, V. G. 3 Octobre 2000. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson sur *Aspergillus niger*. Évaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur de substances volatiles en phase vapeur. Thèse de doctorat de l'I.N.P.T.
- Dembele, N. N. Avril 12, 2003. Commerce International des Céréales et Production Céréalière au Mali. APCAM/MSU Document de Travail no. 5 Bamako.
- De Soura, E.L., De Oliveira Lima, E., de Luna Freire, K.R., and De Sousa, C.P. March 2005. Inhibitory Action of Some Essential Oils and Phytochemicals on the Growth of Various Moulds Isolated From Foods. Brazilian Archives of Biology and Technology Vol.48, N°2, pp. 245- 250.

- Doumandji, A. ; Doumandji-mitiche, B. ;Salaheddine, D. (11-2003). Cours de technologie des cereales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp. 1-22.
- Druvefors, U. Å. 2004. Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, Department of Microbiology. Agraria 466. 44 pages.
- DURON, B. S.1998-1999. LE TRANSPORT MARITIME DES CEREALES. Mémoire pour le D.E.S.S. “ Transports maritimes et aériens ”.Option Droit maritime et Droit des transports. FACULTE DE DROIT ET DE SCIENCE POLITIQUE D’AIX-MARSEILLE. 81 pages.
- Eudes, F.; Comeau, A.; Rioux, S. and Collin, J. 2001. Impact of Trichothecenes on *Fusarium* head blight [*Fusarium graminearum*] development in spring wheat (triticum aestivum).Can. J. Pathol. **23**, pp. 318-322.
- Fandohan, P. ; Gbenou, J. D. and Gnonlofin, B. 2004. Effect of Essential Oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and Fumonisin Contamination in Corn. J. Agric. Food Chem.52, pp. 6824-6829.
- Filtenborg, O.; Frisvad, J.C. and Thrane U. 1996. Moulds in food spoilage. International Journal of Food Microbiology 33, pp. 85-102.
- Schachermayr, G. und Fried, P.M.. 2000. Problemkreis Fusarien und ihre Mykotoxine (La fusariose de l'épi des céréales en Suisse). Eidgenössische Forschungsanstalt für (FAL), CH-8046 Zürich. Pflanzen, *AGRARForschung* 7 (6), pp. 252-257.
- Garnerò, J. 1976. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle- Rivista Italiana EPPOS, pp. 105-125.
- Garnéro, J. 9-1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques- Encyclopédie des médecines naturelles. (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie, C-2, pp. 2-20.
- Godon B., 1991 : Biotransformation des produits céréalières. Chapitre I : Les constituants des céréales : nature, propriétés et teneurs. TECHNIQUE & DOCUMENTATION – lavoisier. pp.1, 10, 17 et 18.
- Godon, B. et Loisel W., 1997.Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. 2^e édition. Tech & Doc, Paris. 819 pages.
- Guignard, J.-L., 1977. Abrégé de Botanique a L'usage des Etudiants en Pharmacie. MASSON, PARIS. pages 257.
- Guignard J. L., 1996: Biochimie végétale. Ed Masson, Paris. 255 pages.

- Inouye, S.; Watanabe, M.; Nishiyama, Y.; Takeo, K.; Akao, M. and Yamaguchi H. 1998. Antisporulation and respiration-inhibitory effects of essential oils on filamentous fungi. *Mycoses* **41**, pp. 403-410.
- I.T.A. 1972. Unité Céréales. Tome I (1^{ère} et 2^{ème} Partie). POLY / Céréales. ETU 1/61. D/1402/I.T.A. 05-72. Pages 3 et 4.
- Jouany, J.-P., Yiannikouris, A., 2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. INRA Productions Animales, février 2002, **15** (1), pp. 3-16.
- Kandil, O.; Radwan, N.M.; Hassan, A.B.; Amer, A. M. M.; El-Banna, H. A. and Amer, . M. M. 1994. Extracts and Fractions of *Thymus capitatus* exhibit antimicrobial activities. *Journal of Ethnopharmacology* **44**, pp. 19-24.
- Kinderlerer, J. L. 1989. Volatile metabolites of filamentous fungi and their role in food flavour. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, pp. 133S-144S.
- Larpent, J.P. 1990. Moisissures Utiles et Nuisibles Importance Industrielle. 2e édition. Masson, Paris. 512 pages.
- Leyral, G. et Vierling E., 2001 : Microbiologie et toxicologie des aliments - Hygiène et sécurité alimentaire. Série Sciences des aliments. doin éditeurs, centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, 3^e ÉDITION. Page 16 et 269.
- Magan, N. and Lacey, J. Dec 1988. Ecological determination of mould growth in stored grain. *International Journal of Food Microbiology Elsevier* **7** (3), pp. 245- 256.
- Magan, N.and Hope, Cairns, V., and Aldred D. 2003. Post – harvest fungal ecology : Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *European Journal of Plant Pathology* **109**, pp. 723-730.
- Marburg, M. W. 1999. Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 3^e édition technique& documentation. 636 pages.
- Marín, S.; Velluti, A.; Ramos, A. J. and Sanchis, V. 2004. Effect of essential oils on zearalenone and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* in non-sterilized maize grain. *Food Microbiology* **21**, pp. 313–318.
- Mengal, p. ; Behn, D. ; Gil, M. B. et Mompon, B. 1993. VMHD: Extraction d'huile essentielle par micro-ondes, *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, (114), pp. 66-67.
- Mills, J.T. 1990. Mycotoxins and fungi on cereal grains in western Canada. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **68**, pp. 982-986.

- Mishra, A. K. and Dubey, N. K. Apr. 1994. Evaluation of Some Essential Oils for Their Toxicity against Fungi Causing Deterioration of Stored Food Commodities. *Applied AND Environmental Microbiology*, Vol. 60, No.4, pp. 1101-1105.
- Molinié, A. & Pfohl-Leszkowicz, A. 2003. Les mycotoxines dans les céréales : les points importants de contrôle de la production au stockage, le devenir dans les produits dérivés. Laboratoire de Toxicologie et sécurité alimentaire- Auzeville - Tolosane. *Note de l'ASEDIS-SO N° spécial Mycotoxines (2003)*, 9 pages.
- Moll M. et Moll N. 1995. Sécurité Alimentaire du consommateur. Chapitre 3 : les mycotoxines : des contaminants omniprésents dans l'alimentation humaine et animale, risque et prevention. 300 Pages.
- Mosiniak, M. ; Prat, R. et Roland, J-C. 10/05/2001. Du blé Au pain. Copyright "Biologie et Multimédia", source Internet.
- MOUSSAOUI, A. 1994. *دراسات ميكروبيولوجية على الدرة (Zea mays L) في مختلف مراحل تحويلاتها الصناعية في معمل مغنية*
Thèse de magister, Algérie, Institut de Biologie – Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. 148 pages.
- Multon, J. L. 1982. CONSERVATION ET STOCKAGE DES GRAINS ET GRAINES ET PRODUITS DERIVÉS- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. *Technique & Documentation Lavoisier Paris Apria. Volume 1, 576 pages.*
- Nguefack, J.; Leth, V.; Amvan Zollo, P. H. and Mathur, S. B.2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology* **94**, pp. 329-334.
- Olsson, J. 2000. Modern Methods in Cereal Grain Mycology. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Microbiology *Uppsala*. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria* 241. 37 pages.
- Ominski, K. H.; Marquardt, R. R.; Sinha R. N. and Abramson D.1994. Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi. Chapter 6. In Miller, J.D., Trenholm, H.L.(Eds), *Mycotoxins in Grain*. Eagan Press, St. Paul, MN. pp. 287-312.
- Oyebanji, A.O. and Efiuvwevwere, B.J.O. 2000. Growth of spoilage mould and aflatoxin B₁ production in naturally contaminated or artificially inoculated maize as influenced by moisture content under ambient tropical condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Volume 44, Issue 4, Decembre 1999, pp. 209- 217.

- Padrini, F., Lucheroni M. T. 1996. Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies. Edition De Vecchi , Paris. pages 11, 15, 61 et 111.
- Paster, N.; Menasherov, M.; Ravid, U. and Juven B. 1995. Antifungal Activity of Oregano and Thyme Essential oils applied as fumigants Against Fungi Attacking Stored Grain. Journal of Food Protection, Vol. 58, No. 1, pp. 81-85.
- Patkar, K. L.; Usha, C. M.; Shetty, H. S.; Paster, N. and Lacey J. 1994. Effects of spice oil treatment of rice on moulding and mycotoxin contamination. Crop Protection Vol. 13 n° 7, pp. 519-524.
- PATTNAIK, S.; SUBRAMANYAM, V. R. et KOLE, C.1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils *in vitro*. Microbios **86**, pp. 237-246.
- Pattnaik, S.; Subramanyam, V. R.; Bapaji, M. and KOLE C. R. 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. Microbios **89**, pp. 39-46.
- Perroti, C. ; Caraffa, N. ; Aïli S.1999. Se soigner par les plantes. Berti Editions. 118 pages.
- Pfohl-Leszkowicz, A., 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation, Évaluation et gestion du risque. Lavoisier, collection Tec&Doc, 1999. 478 pages.
- Pitt, J. I. & Hocking, A. D.1985. Fungi and Food Spoilage. Edition Academic Press.
- PRATS, J. ; CLÉMENT – GRANDCOURT, M. 1971 : LES CÉRÉALES. 2^e Édition Baillièrre et Co. COLLECTION D'ENSEIGNEMENT AGRICOLE. Pages 15-314.
- Quézel, P. et Santa S. 1963. Nouvelle Flore de L' Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. TOME II, Centre national de la recherche scientifique, Paris 1963. 566 – 1170 pages.
- Rai M, K.; Qureshi, S. and Pandey, A. K. 1999. *In vitro* susceptibility of opportunistic *Fusarium* spp. to essential oils. MYCOSES 42, pp. 97-101.
- Ramirez, C.; 1982. Manual and atlas of the penicillia. Amsterdam – New York – Oxford . Elsevier Biomedical press. 874 pages.
- Rasooli, I.; Abyaneh, M. R. 2004. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Food Control 15, pp. 479–483.
- Reed, C. 1992. Development of storage techniques: A historical perspective. In Storage of Cereal Grains and Their Products. Chapter 4. Edited by D. B. Sauer. St Paul. pp. 143-156.
- Richter, G., 1993. Métabolisme des végétaux - Physiologie et biochimie. Edition PRESSES Polytechniques et universitaires romandes. 526 pages.

- Ruberto, G.; Baratta, M. T.; Sari, M. and Kaâbeche M. 2002. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf.. Flavour and Fragrance Journal 17, pp. 251–254.
- Shotwell, O.L. Octobre 1977. Mycotoxins – Corn –Related Problems. Cereal Foods World Vol.22 NO. 10, pp. 524-527.
- Sijelmassi, A. 1991. Les plantes médicinales du Maroc. 2^{ème} ED, le feunec. page 125.
- Suhr, K. I. and Nielsen, P. V. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology 94, pp. 665-674.
- Sylviane D. Mycotoxines. RISQUES POTENTIELS LIES A LA PRESENCE DE MYCOTOXINES DANS LES PLANTES.AFSSA/LER Hygiène et Qualité des aliments/Unité Toxines microbiennes. pp. 42-48.
- Valnet, J. 1984. Aromathérapie Traitement des maladies par les essences des plantes. 10^e Ed., MALOINE S.A., Paris. 544 pages.
- Wang, S. – Y.; Chen P.-F.; Chang S.-T. 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophleoum*) leaves against wood decay fungi. Bioresource Technology 96, pp. 813- 818.

Annexes

Annexe I: situation céréalière mondiale et Algérienne

Tableau 15: Données De Base Sur La Situation Céréalière Mondiale

	2000/2001	2001/2002	2002/2003	2003/2004 estim.	2004/2005 prévis.	Variation de 2003/2004 à 2004/2005
PRODUCTION MONDIALE 1/	(millions de tonnes)					(pourcentage)
Blé	585.9	588.4	569.8	560.0	595.1	6.3
Céréales secondaires	876.6	918.8	883.5	931.6	951.2	2.1
Riz (usiné)	400.9	400.4	381.9	394.9	409.6	3.7
(paddy)	(599.5)	(599.0)	(571.7)	(591.6)	(613.2)	3.7
Toutes céréales (y compris riz usiné)	1 863.4	1 907.6	1 835.2	1 886.6	1 955.9	3.7
Pays en développement	1 008.9	1 028.1	1 000.2	1 047.6	1 057.0	0.9
Pays développés	854.4	879.5	835.0	839.0	898.9	7.1
COMMERCE MONDIAL 2/						
Blé	100.9	108.2	110.0	102.0	98.0	-4.0
Céréales secondaires	108.3	105.4	105.7	110.0	105.0	-4.5
Riz (usiné)	24.2	28.1	28.0	25.7	26.7	4.0
Toutes céréales	233.4	241.7	243.7	237.7	229.7	-3.4
dont: aide alimentaire 3/	8.9	7.4	8.6	8.0		
Consom. humaine par habitant	(kg/a)					
Pays en développement	160.3	160.1	158.4	159.0	158.2	-0.5
Pays développés	132.1	131.8	131.1	131.0	130.9	0.0
STOCKS MONDIAUX 4/	(millions de tonnes)					
Blé	242.4	233.4	197.8	155.9	140.1	-10.2
Céréales secondaires	207.7	196.5	161.1	138.5	123.8	-10.6
Riz (usiné)	148.3	140.9	116.0	103.4	98.9	-4.3
Toutes céréales	598.5	570.8	474.9	397.8	362.7	-8.8
Pays en développement	436.5	402.8	333.5	277.2	242.4	-12.6
Pays développés	162.0	168.0	141.4	120.5	120.3	-0.2

Source: FAO Note: Totaux et pourcentages calculés à partir de chiffres non arrondis.

1/ Les données se rapportent à l'année civile, première année mentionnée. **2** Pour le blé et les céréales secondaires, les chiffres se rapportent aux exportations de la campagne commerciale juillet/juin. Pour le riz, les chiffres se rapportent aux exportations pendant la deuxième année (année civile) mentionnée. **3/** Juillet/juin. **4/** Les données sur les stocks sont fondées sur le volume total des stocks de report nationaux à la fin de la campagne agricole de chaque pays; elles ne représentent donc pas le niveau mondial des stocks à un moment précis.

Concernant l'Algérie, le tableau n°2 ci-dessous montre certaines données sur le marché des céréales Algérienne. Ainsi, selon le (Conseil International des Céréales) l'Algérie est parmi les principaux producteurs mondiaux de blé dur en 2000 avec 1,8% de la production total de 33,8 millions de tonnes (A.G.P.B., 2001). Pour plus de données sur la situation céréalière mondiale (production, commerce, stocks mondiaux,...) voir annexe.

Tableau 16: La production Algérienne de céréales (en millions de tonnes) :

	Blé			Céréales « secondaires »		
	1988 (est.)*	1989 (prév.)*	Juillet 1998- Juin 1999**	1988 (est.)*	1989 (prév.)*	Juillet 1998- Juin 1999**
Production	1,2	1,1		-	-	
Importation	3,3	3,4	4,0	1,7	1,8	1,5

*- Conseil international du blé, rapport sur le marché, Londres, 10 juillet 1989 (Ph. CHALMIN, : L'Afrique dans le jeu alimentaire mondial : fragile et perdante ! . Rapport annuel « Cyclope » sur les « marchés mondiaux » aux éditions Economica. p.10).

** - (DURON, 1999).

Annexe II : Milieux de cultures

PDA (Potato Dextrose Agar) :

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200 g. de pomme de terre. Les mettre dans 700ml d'eau distillée et porter à ébullition, après filtrer et compléter à 1 litre:

Saccharose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

CDA (Czapek Dextrose Agar) :

NaNO ₃	3 g
Saccharose	30 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
MgSO ₄	0,5 g
KCL	0,5 g
FeSO ₄	0,01 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

MEA (Malt Extract Agar) :

Extrait de malt	20 g
Peptone	1 g
Glucose	20 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Czapek concentré (pour les milieux G25N et C.Y.A) :

NaNO ₃	300 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	50 g
KCL	50 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	1 g
Eau distillée	1000 ml

G25N (25% Glycérol Nitrate Agar):

K ₂ HPO ₄	075 g
Czapek concentré	7,5 ml
Extrait de levure	3,7 g
Glycérol pour analyse	250 g
Agar	12 g
Eau distillée	750 ml

C.Y.A (Czapek Yeast Agar):

K ₂ HPO ₄	1 g
Czapek concentré	10 ml
Extrait de levure	5 g
Saccharose	30 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml

AFPA : *Aspergillus flavus*, *Parasiticus* Agar

Peptone bactériologique	10 g
Extrait de levure	20 g
Dichloran (2-6-Dichlor-4-nitroanilin 96%) Cl ₂ C ₆ H ₂ (NO ₂) NH ₂	2 mg (0,2% in éthanol, 1,0 ml)
Citrate de fer ammoniacal	0,5 g
Chloramphénicol	100 mg
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

Au lieu de chloramphénicol en a utilisé l'Ampicilline une dose plus forte (≈50 mg / 200 ml de AFPA).

Lactophénol:

Phénol	20 g
Acide lactique (25%)	20 ml
Glycérol	20 ml
Eau distillée	40 ml

Bleu de coton :

Lactophénol bleu de méthylène	0,5 g
----------------------------------	-------

Rose bengal:

Rose bengal	1 g
Eau distillée	100 ml

Y.E.S (Yeast Extract Sucrose):

Extrait de levure	20 g
Sucrose	40 g
Eau distillée	1000 ml

Annexe III : Les résultats d'effet antifongique des huiles essentielles par la méthode de contact direct.

Tableau 17: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition d'*A. flavus* (O₂) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	4 µl	5 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	0,7 (8,0) 91,25%	0,8 (8,0) 90,00%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
	2,5 (8,0) 68,75%	0,6 (8,0) 92,50%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
	1,2 (8,0) 85,00%	0,6 (8,0) 92,50%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	2,3 (8,0) 71,25%	1,9 (8,0) 76,25%	/	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
	2,6 (6,5) 60,00%	0,9 (8,0) 88,75%	/	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
	1,5 (6,8) 77,94%	1,5 (6,4) 76,56%	/	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%	0,0 (7,7) 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	7,4 (6,5) - 13,84%	7,1 (8,0) 11,25%	/	7,2 (8,0) 10,00%	7,0 (8,0) 12,50%	3,3 (8,0) 58,75%
	6,7 (7,4) 09,46%	6,5 (7,4) 12,16%	/	6,7 (6,5) -03,08%	6,5 (6,6) 01,51%	4,1 (8,0) 48,75%
	/	4,5 (6,6) 31,32%	/	6,1 (7,4) 17,57	6,6 (6,4) 03,03%	3,8 (8,0) 52,50%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 18: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Aspergillus flavus* (O₂).

Concentration Souche	2 µl	4 µl	5 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	81,67 \pm 11,61	91,67 \pm 1,44	100 \pm 0,0 Satitic	100 \pm 0,0 Satitic	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>Origanum glandulosum</i>	71,25	82,50 \pm 8,84	/	100 \pm 0,0 Satitic	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>Eucalyptus globulus</i>	09,46	11,70 \pm 0,64	/	13,78 \pm 5,35	12,50	53,33 \pm 5,05

Tableau 19: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition d'*A. niger* (BDB₅) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	4 µl	4,5 µl	5 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	5,2 (8,5) 38,82%	2,4 (9,5) 74,74%	0,6 (8,5) 92,94%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
	4,3 (8,5) 49,41%	1,5 (9,5) 84,21%	0,7 (8,5) 91,76%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
	5,9 (8,5) 30,59%	0,7 (9,5) 92,63%	0,6 (8,5) 92,94%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	7,2 (6,2) -13,89%	2,4 (7,2) 64,86%	/	/	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
	5,8 (7,1) 18,31%	3,7 (7,2) 48,61%	/	/	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
	5,3 (7,3) 25,35%	0,0 (7,1)	/	/	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%	0,0 (8,1) 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	7,8 (8,5) 8,23%	8,0 (6,5) -23,08%	/	/	8,0 (6,5) -23,08%	7,7 (9,5) 18,95%	2,9 (6,5) 55,38%
	/	7,3 (8,5) 14,11%	/	/	7,9 (8,5) 7,06%	7,8 (6,5) -20,00%	3,3 (6,5) 49,23%
	/	/	/	/	7,2 (7,1) -1,41%	7,8 (6,5) -20,00%	1,8 (6,5) 72,30%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 20: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Aspergillus niger* (B.D.B₅).

Concentration Souche	2 µl	4 µl	4,5 µl	5 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	39,61 \pm 9,43	83,86 \pm 8,95	92,55 \pm 0,68	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 *
<i>O. glandulosum</i>	21,83 \pm 4,98	56,73 \pm 11,49	/	/	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 **
<i>E. globulus</i>	8,23	14,11	/	/	7,06	18,95	58,97 \pm 11,95

* pas réalisée ; ** pas confirmée.

Tableau 21: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Penicillium* (B.T₂) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	2,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,9) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%
	0,6 (1,5) 60,00%	0,0 (1,7) 100%	0,0 (1,9) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%
	1,6 (1,5) -6,67%	0,0 (1,6) 100%	0,0 (1,9) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,5) 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	0,7 (1,5) 53,33%	/	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%
	0,9 (1,5) 40,00%	/	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%
	1,2 (1,5) 20,00%	/	0,0 (1,5) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%	0,0 (1,8) 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	1,3 (1,5) 13,33%	/	1,2 (1,8) 33,33%	1,3 (1,8) 27,78%	1,1 (1,6) 31,25%	0,8 (1,8) 55,55%
	1,5 (1,6) 6,25%	/	1,2 (1,6) 25,00%	1,5 (1,6) -6,67%	1,1 (1,8) 38,89%	00 (1,6) 100%
	1,6 (1,6) 00%	/	1,5 (1,5) 00%	1,7 (2,1) 19,05%	1,5 (1,3) -15,38%	0,6 (1,6) 62,50%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 22: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Penicillium* (B.T₂).

Concentration Souche	2 µl	2,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	80 \pm 28,28	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>O. glandulosum</i>	37,78 \pm 16,78	/	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>E. globulus</i>	6,53 \pm 6,67	/	19,44 \pm 17,35	23,41 \pm 6,17	35,07 \pm 5,40	72,68 \pm 23,91

Tableau 23: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Fusarium oxysporum* (F₁₆) à différentes concentrations des huiles essentielles.

() : Diamètre de témoin en cm.

Concentration Souche	2 µl	3 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	2,5 (10,1) 75,25%	0,0 (7,3) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
	0,0 (10,2) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
	0,0 (10,2) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	5,4 (10,1) 46,53%	/	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
	0,0 (8,9) 100%	/	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
	0,0 (8,9) 100%	/	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%	0,0 (8,9) 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	9,0 (9,9) 9,09%	/	8,6 (9,9) 13,13%	4,7 (8,5) 44,70%	4,3 (7,9) 45,57%	1,9 (9,9) 80,81%
	/	/	5,3 (7,8) 32,05%	6,7 (7,8) 14,10%	5,9 (7,9) 25,32%	0,0 (9,9) 100%
	/	/	6,6 (7,8) 15,38%	5,7 (7,8) 26,92%	6,2 (7,8) 20,51%	1,7 (7,9) 78,48%

Tableau 24: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Fusarium oxysporum* (F₁₆).

Concentration Souche	2 µl	3 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	91,75 \pm 14,29 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>O. glandulosum</i>	100 \pm 0,0 Static	/	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>E. globulus</i>	9,09%	/	20,19 \pm 10,33	28,57 \pm 15,37	30,47 \pm 13,30	86,43 \pm 11,81

Tableau 25: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Alternaria* (O₁₁) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	3 µl	3,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	1,4 (5,4) 74,07%	0,0 (6,6) 100%	0,0 (6,6) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
(témoin= 9,0 cm)	1,5 (5,8) 74,14%	0,8 (6,6) 87,88%	0,0 (6,6) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
	0,8 (6,6) 87,88%	2,9 (6,6) 56,06%	0,0 (6,6) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	1,2 (5,4) 81,48%	/	/	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
(témoin= 9,0 cm)	0,8 (5,4) 85,18%	/	/	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
	0,8 (5,4) 85,18%	/	/	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%	0,0 (5,9) 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	5,1 (5,8) 12,07%	/	/	5,8 (5,8) 00%	4,8 (6,6) 27,27%	4,2 (5,4) 22,22%	1,3 (5,4) 75,92%
(témoin= 9,0 cm)	5,7 (6,3) 9,52%	/	/	5,5 (6,3) 12,70 %	4,5 (5,4) 16,67%	4,4 (5,4) 18,52%	1,3 (5,4) 75,92%
	4,7 (5,2) 9,61%	/	/	4,9 (5,5) 10,91%	5,4 (5,8) 6,90%	4,0 (5,4) 25,92%	2,7 (5,4) 50,00%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 26: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Alternaria* (O₁₁).

Concentration Souche	2 µl	3 µl	3,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	78,70 \pm 7,95(6,49)	81,31 \pm 22,69 (18,53)	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>O. glandulosum</i>	83,95 \pm 2,14 (1,74)	/	/	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>E. globulus</i>	9,56 \pm 0,06	/	/	11,80 \pm 1,27(0,89)	21,97 \pm 7,49	22,22 \pm 3,7	67,28 \pm 14,96

Tableau 27: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Trichoderma* (R₃) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	2,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	1,0 (8,6) 88,37%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
(témoin= 9,0 cm)	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	0,0 100%	/	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
(témoin= 9,0 cm)	0,0 100%	/	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
	0,0 100%	/	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	9,0 00%	/	6,2 (8,6) 27,91%	3,8 (8,6) 55,81%	4,2 53,33%	0,7 92,22%
(témoin= 9,0 cm)	6,1 32,22%	/	9,0 00%	9,0 00%	4,1 54,44%	08 91,11%
	8,4 6,67%	/	8,4 6,67%	6,5 27,78%	5,7 36,67%	00 100%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 28: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Trichoderma* (R₃).

Concentration Souche	2 µl	2,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	96,12 \pm 6,71	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>O. glandulosum</i>	100 \pm 0,0 Static	/	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>E. globulus</i>	12,96 \pm 17,01	/	11,53 \pm 14,57	27,86 \pm 27,90	48,15 \pm 9,95	94,44 \pm 4,84

Tableau 29: Diamètres des colonies (cm) et pourcentage d'inhibition de *Rhizopus stolonifer* (O₁) à différentes concentrations des huiles essentielles.

Concentration Souche	2 µl	3 µl	3,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>Thymus capitatus</i>	2,3 74,44%	1,1 87,78%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
(témoin= 9,0 cm)	4,9 45,55%	1,2 86,67%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
	1,5 83,33%	2,2 75,55%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
<i>Origanum glandulosum</i>	0,6 93,33%	/	/	2,0 77,78%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
(témoin= 9,0 cm)	1,0 88,89%	/	/	3,0 66,67%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
	1,6 82,22%	/	/	0,8 91,11%	0,0 100%	0,0 100%	0,0 100%
<i>Eucalyptus globulus</i>	9,0 00%	/	/	9,0 00%	7,5 16,67%	7,3 18,89%	0,9 90%
(témoin= 9,0 cm)	9,0 00%	/	/	9,0 00%	7,5 16,67%	6,9 23,33%	0,7 92,22%
	9,0 00%	/	/	9,0 00%	8,9 1,11%	7,4 17,78%	0,6 93,33%

() : Diamètre de témoin en cm.

Tableau 30: Moyenne des pourcentages d'inhibition (\pm écart-type) de différentes huiles essentielles sur *Rhizopus stolonifer* (O₁).

Concentration Souche	2 µl	3 µl	3,5 µl	4 µl	8 µl	12,5 µl	50 µl
<i>T. capitatus</i>	67,77 \pm 19,75	83,33 \pm 6,76	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Static	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>O. glandulosum</i>	88,15 \pm 5,59 (4,57)	/	/	78,52 \pm 12,24	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide	100 \pm 0,0 Cide
<i>E. globulus</i>	00 \pm 0,0	/	/	00 \pm 0,0	11,48 \pm 8,98	20 \pm 2,94	91,85 \pm 1,69

RÉSUMÉ

Les grains de céréales forment un excellent substrat pour les moisissures où la flore fongique de stockage constitue un facteur important de détérioration et de sécrétion de mycotoxines.

Selon les analyses mycologiques des échantillons de céréales (blé tendre, blé dur, maïs, riz et orge), le maïs possède la plus grande charge d'un point de vue quantitative et qualitative.

Parmi les 118 souches, isolées les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* sont les plus dominantes suivi par les *Fusarium* et *Trichoderma*. Par contre, les mucorales sont les moins abondants. Parmi les souches isolées, sept ont été sélectionnés pour l'étude des effets antifongiques.

Les rendements en huile essentielle des plantes locales testées sont pour le *Thymus capitatus* 2,30%, l'*Origanum glandulosum* 1,90% et l'*Eucalyptus globulus* 0,64%.

Les huiles essentielles de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont fongicides à 4, 8 et 12,5 μ l, pour *Alternaria*, *F. oxysporum* et *R. stolonifer*, *Penicillium viridicatum* sbs *verrucosum* et *A. flavus* respectivement. Pour le *Trichoderma* les concentrations fongicides des huiles essentielles du *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont 8 et 12,5 μ l respectivement. De même pour, *A. niger* les concentrations fongicides de *T. capitatus* et d'*O. glandulosum* sont d'environ 50 μ l ou plus.

L'huile essentielle d'*E. globulus* est la moins antifongique des trois huiles testées. Les espèces sont classées par ordre décroissant selon leur sensibilité à cette l'huile essentielle à raison de 50 μ l/20ml de PDA comme suit: *Trichoderma*, *Rhizopus stolonifer*, *F. oxysporum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *A. niger* et *A. flavus*.

L'effet antifongique de l'huile essentielle de *T. capitatus* à 5,2 ou à 7,8 μ l/L durant le mois d'Août sur les spores et les mycéliums commence après cinq heures de traitement. Après 24 heures l'enceinte est saturée par les vapeurs des huiles essentielles et les observations microscopiques montrent que leurs effets sur les hyphes ou les spores sont presque identiques pour les différents niveaux du réacteur (5cm, 15cm et 30 cm). D'après les modifications et les désorganisations cellulaires ainsi observées par microscope optique, montrent que les moisissures sont très sensibles aux vapeurs de l'huile essentielle de *T. capitatus* surtout lorsqu'ils sont traités pendant le mois d'Août que pendant le mois de Septembre et aussi à la fin du mois d'Août où la température élevé facilite l'évaporation de l'huile.

La flore fongique externe du blé tendre (2kg) mis dans un silo artificiel traité par le *T. capitatus* (environ 52 μ l/L) est réduite de 24% après un traitement de 30 jours. Cette méthode présente un faible effet par rapport aux deux autres méthodes décrites précédemment, ceci peut être due aux problèmes méthodologiques (agitation, quantité, fumigation, espace intergranulaire, température de traitement, etc...).

En conclusion, selon les résultats des tests antifongiques ainsi réalisés, les plantes utilisées possèdent une très bonne activité antifongique et d'un rendement intéressant en huiles essentielles d'où la possibilité de leur application comme agents alternatifs des produits chimiques dans les structures de stockage des céréales.

Mots clés : céréales, stockage, silo, moisissures, détérioration, huiles essentielle, effet antifongique.