



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

«Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité »

THÈME

Contribution à une étude sur l'activité antifongique de quelques huiles essentielles de plantes aromatiques sur les moisissures du blé stocké

Soutenu le : 06/07/2021

Présenté Par : **Merzougui Selma**

Devant le jury composé de :

Mme Benabdallah Amina	MCA	Présidente	UCBET
Mme Toumi Abir	MCB	Examinatrice	UCBET
Mme Hennouni Nacera	MCA	Promoteur	UCBET

Année universitaire 2020 - 2021

Remerciements

*Je remercie tout d'abord le plus puissant **ALLAH** le toutpuissant de m'avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de m'avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.*

Je tiens à remercier profondément et sincèrement tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement à nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu

*A mon encadreur **Mme HENNOUNI Nacera** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire pour tout cela, je tiens à exprimer nos sentiments de profonde gratitude.*

*Je remercie les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger notre travail. ***Mme Benabdallah Amina** * **Mme ToumiAbir***

Une partie de mon travail est aux laboratoires pédagogiques et sans oublier laboratoire de l'institut national de protection des végétaux El tarfbenmhidi.

*Je Remercier tous les membres de l'équipe de ces laboratoires pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leur idées constructives, la directrice **Mme Fouzia**, et **Mme Souraya**, **Mme Moufida**, sans oublier **Mer Lamine***

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs

Encouragements.

A mes chers frères Nabil et Amar.

A mes chers sœurs Souad et Sabrina.

A mes chères copines Samiha, Silia, Rima, Fatma.

A mes amies et mes camarades.

*Sans oublier tous L'enseignement du département des
sciences Agronomiques*

A tous ceux que j'aime

Résumé

Les champignons tel que *Fusariumoxysporium* sont des contaminants courants pour la culture du blé, ce sont de réels destructeurs notamment en denrées stockées.

Le but de notre étude est de rechercher une alternative à la lutte chimique contre des champignons.

Nous avons testé l'effet d'un bio fongicide, en l'occurrence l'huile essentielle de deux plantes aromatiques et médicinales, l'orange (*Citrus sinensis*) et le clou de girofle (, sur un champignon microscopique (*fusariumoxysporum*) qui affecte le blé, en testant plusieurs techniques d'application.

L'extraction de l'huile essentielle de clou de girofle fournit un bon rendement de 3% tandis que l'huile essentielle d'orange fourni 1,33%.

L'extrait des deux huiles a été appliqué sur le champignon, selon trois méthodes à savoir, une diffusion par puits, une confrontation à distance et par mélange avec le milieu de sabouraud.

Les trois méthodes nous ont permis de prouver le pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle sur la souche fongique testée mais à des degrés différents.

L'effet réducteur du clou de girofle est très important avec un taux d'inhibition de 100% et aucune croissance des champignons sur toute la surface de la boîte de pétri et ce durant toute la période du test. Contrairement l'huile essentielle de l'orange n'a pas eu un effet important. Son taux d'inhibition n'a pas dépassé les 6%. La croissance du champignon a été très rapide. Elle a occupée toute la surface de la boîte de pétri pendant toute la période du test.

Mot clé : Huile essentielle, l'orange douce, clou de girofle, bio fongicide, Rendement, taux d'inhibition, blé, *Fusariumoxysporuim*.

Abstract

The fungi such as *Fusariumoxysporium* are common contaminants for the cultivation of wheat; they are real destroyers, especially in stored food.

The aim of our study is to find an alternative to the chemical fight against fungi.

We tested the effect of a bio fungicide, in this case the essential oil of two aromatic and medicinal plants, orange (*Citrus sinensis*) and clove (, on a microscopic fungus (*fusariumoxysporum*) which affects wheat, by testing several application techniques.

Clove essential oil extraction provides a good 3% yield while orange essential oil provides 1.33%.

The extract of the two oils was applied to the fungus, using three methods, namely, well diffusion, and remote confrontation and by mixing with the sabouraud medium.

The three methods allowed us to prove the antifungal power of essential oil of orange and clove on the fungal strain tested, but to different degrees.

The reducing effect of cloves is very important with an inhibition rate of 100% and no growth of fungi on the entire surface of the petri dish throughout the test period. Unlike the essential oil of orange did not have a strong effect its inhibition rate did not exceed 6%. The growth of the fungus was very rapid. It occupied the entire surface of the petri dish throughout the test period.

Keyword: Essential oil, sweet orange, clove, bio fungicide, Yield, inhibition rate, wheat, *Fusariumoxysporum*.

ملخص

تعتبر الفطريات مثل *Fusariumoxysporium* من الملوثات الشائعة لزراعة القمح، فهي مدمرات حقيقية، خاصة في الطعام المخزن.

الهدف من دراستنا هو إيجاد بديل للمكافحة الكيميائية للفطريات.

اختبرنا تأثير مبيد فطري حيوي، في هذه الحالة الزيت العطري لنبتين عطريتين وطبيتين، البرتقال (الحمضيات الصينية والقرنفل (على فطر مجهري (*fusariumoxysporium*) يؤثر على القمح، من خلال اختبار عدة تقنيات للتطبيق.

يوفر استخراج زيت القرنفل الأساسي عائدًا جيدًا بنسبة 3٪ بينما يوفر زيت البرتقال الأساسي 1.33٪.

تم وضع مستخلص الزيتين على الفطر بثلاث طرق وهي: الانتشار الجيد، المواجهة عن بعد والخلط مع وسط سابورو.

سمحت لنا الطرق الثلاث بإثبات القوة المضادة للفطريات للزيت العطري للبرتقال والقرنفل على السلالة الفطرية المختبرة، ولكن بدرجات مختلفة.

يعتبر التأثير المختزل للقرنفل مهمًا للغاية مع معدل تثبيط بنسبة 100٪ وعدم نمو الفطريات على كامل سطح طبق بتري طوال فترة الاختبار. على عكس الزيت العطري للبرتقال لم يكن له تأثير قوي. نسبة تثبيطه لا تزيد عن 6٪. كان نمو الفطر سريعًا جدًا. احتلت سطح طبق بتري بالكامل طوال فترة الاختبار.

الكلمات المفتاحية: زيت عطري، برتقال حلو، قرنفل، مبيدات الفطريات الحيوية، المحصول، معدل التثبيط،

Fusariumoxysporium، القمح

Listes des figures

Figure	Titre	Page
01	Planche botanique d'un épi de blé	06
02	Coupe schématique d'un grain de blé	07
03	Plantes et graines de blé dur	09
04	Schéma d'un Fusarium (a) Microconidie ; (b) Chlamidospores	21
05	Schéma d'une tête aspergillaire	22
06	Appareil reproducteur des mucorales	23
07	Schéma d'un pénicille	23
08	Structure de quelques composés des huiles essentielles	31
09	Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante	33
10	Schéma d'un montage d'hydrodistillateur	33
11	schéma du montage vapo-hydrodistillation	34
12	Schéma de la distillation à la vapeur de l'essence végétale	34
13	Feuilles, fleurs et fruits d'orange	44
14	Clous de girofle	47
15	arbre de Giroflier de Madagascar	47
16	Structure du Giroflier	47
17	Fleur de giroflier	47
18	Aire de culture de giroflier à Madagascarsuperficie et production des zones productrices	48
19	photographies des zestes d'orange séché	53
20	Clou de girofle	53
21	la souche fongique (fusariumoxysporuim)	54
22	Hydrodistillateur	54
23	Distillation à la vapeur d' eau (A) les zeste d' orange (B) clou de girofle	55
24	Différentes étapes adoptées pour l'isolement et la purification de la souche fongique	58
25	préparation du boite de pétri	59
26	Test fongique par la méthode de puits	59
27	Teste fongique par la méthode à distance	60

28	Tests fongiques par la méthode du mélange huiles essentielles –milieu Sabouraud	61
29	Rendement de l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle.	64
30	Aspect des colonies de <i>Fusariumoxysporum</i> sur le milieu de culture Sabouraud après 7 jours d'incubation à 25°C. (Croissance de la souche fongique)	65
31	Aspect microscopique du fuzariumoxysporu	66
32	Effet de l'huile essentielle de l'orange sure la croissance mycélienne moyenne (cm /jours) (diffusion par puits).	67
33	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sure la croissance mycélienne moyen (cm /jour) (diffusion par puit).	67
34	Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).	69
35	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).	69
36	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (méthode par mélange).	71
37	Effet de l'huile essentielle de clou de giroflesur la croissance mycélienne moyenne (cm) (méthode par mélange).	71
38	pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par puits), (huile essentielle d'orange).	73
39	pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par puits), (huile essentielle de clou de girofle).	73
40	pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion à distance), (huile essentielle d'orange).	75
41	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion à distance), (huile essentielle de clou de girofle).	75
42	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (confrontation par mélange) (huile essentielle d'orange).	76
43	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (confrontation par mélange) (huile essentielle de clou de girofle	77
44	Technique de préparation de milieu de sabouraud	79

45	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion par puits).	80
46	Effet de l'huile essentielle d'orange douce sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion à distance).	81
47	Effet de l'huile essentielle du clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion à distance).	82
48	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (dilution par mélange)	83
49	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (dilution par mélange).	83

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Classification botanique du blé dur	05
02	Composition minérale moyenne pour 100 gr de blé	09
03	Classification botanique des agrumes	44
04	Situation botanique de l'espèce <i>Syzygium aromaticum</i>	49
05	production de clou de girofle en tonne dans le monde	50
06	les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'orange et de clou de girofle	63
07	le rendement des huiles essentielles d'orange et de clou de girofle	64
08	Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion par puits).	66
09	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion par puits).	67
10	Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).	68
11	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).	69
12	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion par mélange).	70
13	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion par mélange).	71
14	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du <i>Fusarium</i> par l'huile essentielle d'orange (méthode diffusion par puits).	72
15	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du <i>Fusarium</i> par l'huile essentielle de clou de girofle (méthode diffusion par puits),	73
16	Pourcentage d'inhibition, de la croissance mycélienne du <i>Fusarium</i> par huile essentielle d'orange (méthode diffusion à distance),	74
17	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du <i>Fusarium</i> par l'huile essentielle de clou de girofle (diffusion à distance)	75

18	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium par huile essentielle d'orange (méthode de dilution ou mélange).	76
19	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium par l'huile essentielle de clou de girofle. (Méthode de dilution ou par mélange)	77
20	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance (cm/heure).	79
21	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/heurs)	80
22	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance (cm/heurs) (diffusion à distance).	81
23	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/heurs) (diffusion à distance).	82
24	Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance (cm/heurs) (dilution par mélange).	82
25	Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/jour) (dilution par mélange).	83

Liste des abréviations

A_w : Activity Water

AFNOR : Association Française de Normalisation

C° : degré Celsius

Cm : centimètre

F.o: Fusariumoxysporum

HE : huile essentielle

g :gramme

mg :milligramme

PDA:Potato DextroAgare

PH:potentiel d'Hydrogene

REH : Rendement en huile essentielle

TI : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

VC : Vitesse de la croissance mycélienne

µg : micro gramme

µl : micro litre

µm : micro mètre

Sommaire

Remerciement	
Dédicace.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux	
Sommaire.....	
Résumé.....	
Introduction.....	01
Chapitre I : Généralité sur le blé	04
I.1. Introduction	04
I.2- Importance alimentaire	04
I.3-Origine et Répartition géographique du blé.....	04
I.4-I.4-Caractéristiques botanique	05
I.5-Classification taxonomique	06
I.6-Structure des grains de blé	07
I.6.1-L'enveloppe	07
I.6.2- L'Albumen ou amande farineuse	08
I.6.3-Lgerme.	08
I.7- Composition chimique des grains	09
I.8-Stockage du blé.....	11
I.8.1-Les différentes méthodes de stockage du blé	12
I.9-Facteurs d'altération du blé	13
I.9.1-Altération d'origine environnementale	13
I.9.2- Altérations enzymatiques	13
I.9.3-Altération d'origine mécanique ou physique	13
I.9.4. Altération d'origine biologique	11

I.10- Procédés de traitement des grains	14
Chapitre II : Les moisissures	17
II.1-Généralités	17
II.2.Caractères généraux	17
II. 3.Facteurs de développement	18
II.3.1-La températures	18
II. 3.2- L'humidité	18
II. 3.3- Le pH	19
II .3.4- La composition gazeuse (oxygénation)	19
II.3.5- Les interactions	19
II.3.6- La proportion de grains brisés dans un lot	19
II. 4. Les moisissures du blé stocké	20
II.4.1. Flore des champs	20
II.4.2- Flore intermédiaire	21
II. 4.3- Flore post-récolte	21
II.5. Les principales moisissures d'altération du blé stocké	21
II.5.1-Le genre <i>Aspergillus</i>	21
II.5.2.-Le genre <i>Penicillium</i>	22
II .5.3- Les Mucorales	23
II.6.Identification des moisissures	23
II.7 .Rôle des moisissures	23
II. 7.1. Actions bénéfiques des moisissures	24
II. 7.1.1. Rôle dans l'industrie alimentaire	24
II.7.1.2. Rôle dans l'industrie pharmaceutique	24
II. 7.1.3. Rôle phytosanitaire	25
II. 8. L'agent pathogène (<i>Fusariumoxysporum</i>)	25

II. 8.1- Définition et taxonomie.....	25
II. 8.2. Les caractères morphologiques	26
II. 8.3. Caractères physiologiques	26
II. 8.4. Biologie	26
II. 8.5. Nutrition	27
II. 8.6. Maladie, symptômes	27
II. 8.7. Localisation sur la graine	27
Chapitre III : Les huiles essentielles.....	28
III.1. Définition	28
III.2. Localisation et rôle des huiles essentielles	28
III.2.1. Localisation	28
III.2.2. Rôle des huiles essentielles	29
III.3. Biosynthèse et composition chimique des huiles essentielles	29
III.3.1. Biosynthèse	29
III.3.2. Composition chimique	30
III.3.2.1. Terpènes et terpénoïdes	30
III.3.2.2. Composés aromatiques	31
III.3.2.3. Composés d'origine divers	32
III.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	32
III.4.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	32
III.4.2. Hydro distillation	33
III.4.3. Expression à froid	34
III.4.4. L'extraction directe	35
III.4.5. L'enfleurage	35
III.4.6. Autres techniques	35
III.4.6.1. Extraction par solvants	35
III.4.6.2. Extraction par micro-ondes	36

III.4.6.3.Hydrodistillation assistée par ultrason	36
III. 5. Activités biologiques des extraits des plantes	37
III.5.1. Activité antifongique	37
III.5.2. Activité antimicrobienne	38
III.5.3Activité Antiseptique	39
III.5.4Activité antioxydant	39
III.6.Utilisation des huiles essentielles	40
III.6.1.Phytothérapie	40
III.6.2.Dans l'industrie agroalimentaire	40
III.6.3.En pharmacie	40
III.6.4 Parfumerie et cosmétologie	41
III.6.5.Dans l'industrie chimique	41
III.7.Toxicité des huiles essentielles	41
III.8.Contrôle de qualité des huiles essentielles	42
Chapitre IV : Généralité sur l'orange et de clou de girofle.....	43
IV.II.Généralités sur les agrumes	43
V.II.1. L'Orange	43
IV.II.2. Cycle de vie des oranges	44
IV.II.3. Classification botanique et taxonomie	44
IV.II.4. L'orange et sa culture	45
IV.II.5.Composition	45
IV.II .6.Déférentes variétés des oranges.....	45
IV.II.6.1. Les oranges navels.....	45
IV.II.6.2. Les oranges blondes	45
IV.II.6.3.Les oranges sanguines.....	45
IV.II.7.Utilisatio	46
IV.II.8. Vitamine C.....	46

IV.III. Généralité sur le clou de girofle.....	46
IV.III.1.Définition.....	46
IV.III.2.Description botanique	47
IV.III.3.Répartition géographiques	48
IV.III.4.Classification.....	49
IV.III.4.Culture et Production	49
IV.III.4.1.Culture.....	49
IV.III.4.2.Production.....	49
IV.III.5.Utilisation de clou de girofle.....	50
IV.III.5.1.Domaines médicinale	50
IV.III.5.2.Domaines culinaires.....	50
IV.III.5.3.Domaines de cosmétique.....	50
IV.III.6.Toxicologie.....	51
Partie Expérimentale.....	52
I. Matériel et Méthodes.....	52
I.1. Matériel	52
I.1.1.Présentation de la zone d'étude.....	52
I.1.2- Matériel biologique.	52
I. 1.2.1- Matériel végétal.....	52
I.1.2.2.Matériel fongique.....	53
I.1.2.3.Milieu de culture.....	54
I.2 .Méthodes	54
I.2.1.Extraction des huiles essentielles des deux Plantes (l'orange et clou de girofle.....	54
I.2.1.1. Préparation de l'extrait.....	55
I.2.1.2. Conservation des huiles essentielles obtenues.....	56
I.2.1.3-Détermination de rendement.....	56

I.2.2.Préparation de la moisissure.....	56
I.2.2.1.Isolement du fusarium.....	56
I.2.2.2 .Isolement sur le milieu sabouraud	56
I.2.2.3.Purification de l'agent pathogène.....	57
I .2.3.Tests de l'activité antifongique dès l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle.....	58
I.2.3.1. La méthode de diffusion par puits.....	58
I.2.3.2.La méthode de diffusion par à distance.....	60
I .2.3.3.La méthode de diffusion par mélange	60
I.3.Paramètres étudiés.....	61
1.3.1. Identification de la souche fongique.....	61
1 .3.1.1.Caractèremacroscopiques.....	61
I.3 .2.Ivaluation de la croissance mycélienne moyenne.....	61
I.3.3. Taux d'inhibition (T %).....	62
I.3.4.Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)	62
I.4.Traitment statistique.....	62
II.1 Résultats et Discussion.....	63
II.1.1. caractéristiques organoleptique de l'huile essentielle.....	63
II.1.2.Rendemets de l'huile essentielle.....	63
II.1.3 .L'identification de l'isolat fongique	65
II.1.3.1.Aspectsmacroscopique.....	65
II.1.3.2.Aspects microscopique.....	65
II.1 .4.Actévitité antifongique des huiles in vitro sur milieu gélosé.....	66
II.1.4.1.Test sur la croissance mycélienne moyenne in vitro en milieu gélosé.....	66
II.1.4.1.1.Méthode de diffusion par puits.....	66
II.1.4.2. Méthode de confrontation par diffusion à distance.....	68
II .1 .5 .Effet de l'huile essentielle d'orange sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium.....	72

II.1.5 .1 .Méthode de diffusion par puits.....	72
II.1.5.2 : Méthode de diffusion par à distance.....	74
II .5.1.3 : Méthode par mélange	76
II .1.6-Détermination de la vitesse moyenne de croissance mycélienne(VC)	78
II.1.6.1-Méthode de diffusion par puits.....	78
II .1.6.2-Méthode de confrontation par diffusion à distance	81
II.1.6.3-Méthode pare mélange.....	82
II.7. Discussion.....	85
Conclusions.....	87
Annexe.....	
Références bibliographiques.....	

INTRODUCTION

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

Le blé, constitue une des céréales les plus cultivées dans le monde. C'est une source importante de protéine pour l'alimentation humaine (**Molkhou, 2007**). En Algérie, les produits céréaliers, dont le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun, 2009**). Cependant, la conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (**Meghazi, 2015**).

Cette denrée est généralement attaquée par plusieurs ravageurs dont les insectes et les moisissures. Les dommages causés par les insectes sont loin d'être sous-estimés, mais ceux causés par les moisissures ne devraient pas être négligeables (**Meghazi, 2015**). La microflore et particulièrement les moisissures constituent en cours de stockage, la cause principale d'altérations diverses et par la suite de pertes inestimables. Parmi ces maladies, on retrouve un cas particulier, la fusariose des céréales, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Cette maladie endémique, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (**Miedaner, 1996**). D'autres moisissures causent des dégâts importants comme les *Aspergillus* et les *Penicillium*, hôtes normaux et habituels des grains qui sont susceptibles de se développer abondamment au cours de stockage défectueux (**Kheladi, 2009**). En effet, la contamination qui débute au champ, va se poursuivre au cours des processus de récolte, de séchage, de manutention et de stockage (**Boudra, 2009**).

La prolifération de ces moisissures sur le blé stocké engendre deux conséquences ; altérations de la qualité du grain qui va se répercuter sur la valeur nutritionnelle des produits dérivés et la production de mycotoxines (Pitt & Hocking, 1991).

Introduction

L'augmentation croissante des quantités de blé stocké, couplée à la sévérité des pertes poste récolte, impose l'utilisation des pesticides de synthèse pour la protection des stocks.

Ces traitements sont efficaces, peu onéreux et aisément disponibles dans les pays en voie de développement (**Kouassi, 2001**). Or, ces produits chimiques présentent de nombreux inconvénients, tels que la pollution de l'environnement, la prolifération des organismes nuisibles et le développement de phénomènes de résistances. Par conséquent, la recherche de méthodes alternatives s'avère nécessaire face à la méfiance accrue suscitée par l'usage des produits chimiques dans la protection des denrées alimentaires (**Senhaji et al., 2005**).

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

L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Un grand nombre de plantes médicinales et aromatiques y poussent spontanément, dont 15% endémiques reste très peu explorées sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**Quezel et Santa, 1963**).

Le principal objectif de notre travail consiste à trouver des solutions alternatives pour lutter contre ces maladies ravageuses des cultures comme les céréales en testant des substances d'origine végétales) pour remédier aux effets négatifs et les risques des pesticides chimiques.

Notre travail est une contribution à une étude sur l'activité antifongique de quelques huiles essentielles de plantes aromatiques sur les moisissures du blé stocké. Ces huiles sont extraites à partir de deux plantes largement utilisées et consommées en Algérie en l'occurrence : l'orange douce (*Citrus sinensis*) et le clou de girofle (*Syzygium Aromaticum*).

Pour répondre à cet objectif, le mémoire s'articule sur trois grands chapitres.

Introduction

- Le premier chapitre introductif, résume les données bibliographiques sur la problématique.
- Le second chapitre, porte sur la méthodologie adoptée.
- Le dernier chapitre, concerne la présentation et la discussion des résultats obtenus et, enfin, une conclusion générale avec des perspectives.

Chapitre I : Généralité sur le blé

I.1-Introduction :

Le blé, constitue une des céréales les plus cultivées dans le monde. C'est une source importante de protéine pour l'alimentation humaine (**Molkhou, 2007**). En Algérie, les produits céréaliers, dont le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun, 2009**). Cependant, la conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (**Alleche, 2017**).

Historiquement, le blé est l'une des trois céréales les plus cultivées dans le monde, les deux autres étant le maïs et le riz (**Alleche, 2017**). D'un point de vue quantitatif, c'est une céréale cultivée avec plus de 600 millions de tonnes par an (**Anonyme, 2012**). Les deux principales espèces actuellement cultivées sont le blé commun ou blé tendre, riche en amidon, cultivé un peu partout dans les régions tempérées et le blé dur, riche en amidon et en gluten, cultivé dans des zones plus chaudes et plus sèches.

I.2- Importance alimentaire :

Les blés constituent la première ressource alimentaire de l'humanité, et la principale source de protéines. Ils fournissent également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiples applications industrielles. La presque totalité de la nutrition de la population mondiale est fournie par les aliments en grains dont 95% sont produits par les principales cultures céréalières (**Bonjean et Picard, 1991**).

I.3-Origine et Répartition géographique du blé

Le terme de blé vient probablement du gaulois Blato (à l'origine du vieux français balaie, blé, blaier, blaver, d'où le verbe emblaver, qui signifie ensemercer en blé) et désigne les grains qui on se broyant, fournissent de la farine pour la préparation des crêpes ou du pain (**Mahfoud et Lasbahani, 2015**). La saga du blé accompagne celle de l'homme et de l'agriculture, sa culture précède l'histoire et caractérise l'agriculture néolithique, née en Europe il y a 8000 ans. La plus ancienne culture semble être le blé dur dans le croissant fertile de la Mésopotamie (**Feuillet, 2000**).

Le moyen orient serait le centre géographique d'origine, à partir duquel, l'espèce *Triticum durum* s'est différenciée dans trois centres secondaires différents qui sont le

bassin occidental de la Méditerranée, le sud de la Russie et le Proche Orient. Chaque centre a donné naissance à des groupes de variétés botaniques, possédant des caractéristiques phénologiques, morphologiques et physiologiques spécifiques. L'Afrique du Nord est considérée comme centre secondaire d'après la classification de l'espèce (Feldman, 2001).

I.4- Caractéristiques botanique :

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole.

Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale

(Slama et al., 2005). Parmi ces dernières, le blé qui occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999). Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat aride et semi-aride là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe.

Le blé est une plante herbacée monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Graminées (Michèle et al., 2006). Cette famille végétale compte environ 2500 espèces répandues pratiquement sur toute la surface des continents. C'est un groupe remarquablement homogène et facile à reconnaître. Les tiges, en particulier, ont un port caractéristique : ce sont des chaumes, cylindriques, souvent creux par résorption de la moelle centrale. Ils se présentent donc comme des tubes cannelés dont l'anatomie est particulière, comportant de longs et nombreux faisceaux conducteurs de sève. Ces faisceaux sont régulièrement entrecroisés et renferment des fibres à parois épaisses de sorte qu'ils renforcent comme des câbles ou des haubans (cette structure qui est à la fois résistante et souple. (Djelti, 2014).

Tableau01 : Classification botanique du blé dur : (Alleche., 2017).

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones

Chapitre I : Généralité sur le blé

Ordre	Commélimiflorales
Sous ordre	Poales
Famille	Graminae ou Poaceae
Genre et espèce	Triticum durum

I.5-Classification taxonomique :

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

- **Classification taxonomique du blé :**

Famille *Gramineae*

Sous-famille *Festucoideae*

Tribu *Triticeae*

Aveneae

Sous-Tribu *Triticineae*

Genre *Triticum*

Nom commun Blé tendre (*Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*)

Blé dur (*Triticum durum* Desf)



Figure 01 : Planche botanique d'un épi de blé (Source Net)

I.6-Structure des grains de blé

Physiologiquement, le grain des *Poacées* est un caryopse blanc ou roux, ovoïde, pesant de 35 à 45 mg (le grain est soudé aux parois de l'ovaire) jouant le rôle d'un fruit renfermant une graine, (cotylédon qui représente 82 à 85% du grain) (**Godon, 1991**). L'espèce *Triticum durum* est composée de trois parties essentielles (l'enveloppe, l'amande farineuse et le germe). Chacune de ces parties est formée de réseaux très complexes qui font encore l'objet de nombreuses recherches (**Cheftelet al., 1977**).

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 sont composées par la paroi de la graine (testa) et par la paroi du fruit (péricarpe) (**Doumandjiet al., 2003**).

La structure des grains de diverses céréales est assez semblable. La figure 01 illustre les différentes parties composant une graine de blé.

I.6.1-L'enveloppe :

Elle représente environ 17% du poids du grain. Elle est constituée par des couches de cellulose superposées comme suit :

- ❖ **Le péricarpe** : c'est une enveloppe avec des cellules dont la membrane est épaisse riche en fibres cellulosiques et hémicellulosique, son utilisation digestive est médiocre ; elle est riche également en sels minéraux et en acide phytique qui complexe le calcium et le fer et détermine sa disponibilité.
- ❖ **Le tégument séminal** : contient les colorants du grain qui lui donnent sa couleur jaune marron.
- ❖ **La bande hyaline** : c'est un ensemble de cellules transparentes ;
- ❖ **L'assise protéique ou couche à aleurone** (aleurone étant une substance protéique de réserve) qui est riche en protéines, vitamines (elle contient près du 13 des vitamines B1 et B2 et environ les 2/3 des vitamines B6 et B3 du grain), minéraux, lipides. Cellulose et lignine

I.6.2- L'Albumen ou amande farineuse

C'est la partie du grain qui donne la farine. Elle est blanche et farineuse dans le blé tendre, tend vers le jaune et vitreux dans le blé dur. Elle est constituée d'un ensemble de cellules renfermant les grains d'amidon (70% de l'amidon total) réunis entre eux par un réseau de nature protéique, le gluten. Elle représente 80% du poids du grain et sa partie inférieure est délimitée par le germe.

I.6.3- Le germe

Il représente 3% du poids du grain et il est riche en vitamines et en lipides. Il est constitué de 2 parties :

-l'**embryon**, formé de la coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorizhe et de la coiffe (**feillet, 2000**).

-le **scutellu** qui entoure l'embryon, le protège, et joue un rôle nourricier (**Mahideb et Merrouche, 2015**).

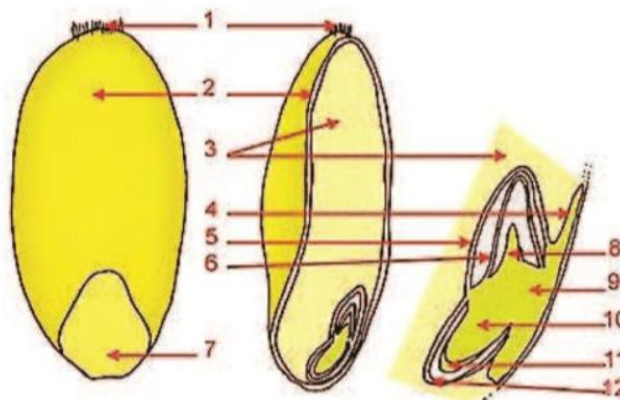


Figure 02. Coupe schématique d'un grain de blé (Cheftel et al, 1977).

- (1) : poils (stigmates). (2) : téguments (écorce). Le caryopse est un fruit car l'écorce est le résultat de la fusion des téguments de la graine et de la paroi de l'ovaire. (3) : albumen. (4) : cotylédon unique. (5) : épi cotyle (capuchon recouvrant la gemmule). (6) : première feuille. (7) : scutellum. (8) : gemmule. (9) : tigelle. (10) : radicule. (11) : coiffe. (12) : coléorhize (capuchon recouvrant la radicule)



Figure 03 : Plantes et graines de blé dur (Source Net)

I.7- Composition chimique des grains :

Les grains sont composés de matières minérales et de matières organiques on retrouve :

a) Les glucides : Il est principalement constitué d'amidon, qui est un glucide complexe, environ 70% (Feillet, 2000) et d'autres glucides simples comme le glucose, le fructose, le saccharose et le raffinose.

b) Les protéines : Il contient entre 10 et 15% de protéines selon la variété, elles sont divisées en deux types, protéines de structure et de fonction (Battais *et al.*, 2007). **c) Les lipides :** Les grains du blé sont naturellement pauvres en lipides : Ils en contiennent seulement 2 %, essentiellement localisés dans le germe et l'assise protéique.

d) L'eau : Le grain du blé mûr est constitué de 13.5% d'eau, cette faible teneur lui permet d'être stocké longtemps en évitant le développement de micro-organismes en particulier les moisissures (Feillet, 2000).

e) Les minéraux : Ils sont présents dans les grains en faible quantité. Les principaux sont le phosphore, le potassium, le manganèse et le cuivre, ils sont souvent associés ou présents sous forme de sels tels que les phosphates, chlorures ou sulfates (Méghazi, 2015).

Tableau 02 : Composition minérale moyenne pour 100 gr de blé, (Fredot, 2012).

Minéraux	Blé (mg/ 100g)
Calcium	35
Phosphore	400
Magnésium	140
Sodium	3

Potassium	435
Fer	5
Zinc	4.1
Cuivre	0.6
Sélénium	100

f) Les vitamines : Ce sont des éléments cliniques complexes jouant un rôle important dans la nutrition. Dans le grain, elles sont concentrées au niveau du germe et des enveloppes (Ndiaye, 1999).

Toutes les céréales ont des caractéristiques similaires : absence de vitamines A, C et D et présence des vitamines du groupe B.

❖ **Vitamines hydrosolubles :**

- **Vitamine B :** 0.41 mg/100g : ces teneurs sont intéressantes mais les 2/3 sont situés dans le scutellum, l'autre 1/3 se trouvent dans l'assise protéique.

- **Vitamine B2 :** 0.1 mg/100g : c'est une source très médiocre dont 50% est situé dans l'amande.

- **Vitamine B3 :** 4.7 mg/ 100g : ces teneurs sont intéressantes mais les 2/3 se trouvent dans l'assise protéique.

- **Vitamine B6 :** 0.5mg/100g : ces teneurs sont moyennes.

- **Vitamine B9 :** 50 µg/100g : c'est une source médiocre.

❖ **Vitamines liposolubles :**

La seule solution liposoluble présente dans le grain de blé est la vitamine E avec 2.5 mg/100g. Elle se trouve essentiellement dans le germe car c'est à cet endroit que l'on trouve le plus de lipides. (Fredot, 2005).

g) Les enzymes

Ce sont des substances complexes présentes en quantité négligeable, mais dont le rôle est très important, elles sont responsables des transformations que subissent les autres substances. (Benhamimed et Chaoui, 2016).

Les enzymes les plus importantes en technologie des céréales sont celles qui provoquent la dégradation des protéines, des lipides et des glucides. Nous avons :

* **Les glucidases** : - β amylases qui transforment l'amidon en β - maltoses, c'est la plus importante des diastases du grain de blé. Elles se trouvent dans le grain sain, normal et inactivé par la chaleur, par conséquent sa principale action a lieu pendant la fermentation.- α amylases qui transforment l'amidon en dextrines, elles ne se rencontrent que dans le blé germé. Elles sont stables à la chaleur et peuvent survivre à de hautes températures atteignant 70 à 80°C.

***Les enzymes protéolytiques** : elles sont activées par la cystéine.

***Les lipases et lipoxygénases** : qui agissent sur les lipides en entraînant la libération des acides gras libres ce qui en général altère la lipoxygénase catalysant l'oxydation par l'oxygène moléculaire du bêta-xanthophylle responsable des pigments jaunes de la semoule. Ces constituants se répartissent de manière inégale au sein des différentes fractions histologiques du grain.

I.8-Stockage du blé

La consommation quotidienne est assurée par une seule récolte, quelquefois deux dans l'année d'où la nécessité du stockage. En outre, les grains stockés sont utilisés comme des semences en attendant la saison suivante (**Druvefors, 2004**). Plus l'humidité des grains est importante à la récolte, plus les conditions sont favorables au développement des microorganismes. De bonnes pratiques de conservation consistent à éviter son altération en contrôlant les principaux facteurs de détérioration (**Merouche, 2015**).

Autrement dit, le but des technologies de conservation est de préserver par des moyens appropriés l'intégrité des principales qualités des graines qui ne peuvent pas être améliorées pendant le stockage (**Merouche, 2015**). Les premiers systèmes de stockage étaient de grands paniers faits de roseaux ou fioles d'argiles qui sont enfoncées dans le sol, ainsi que des puits, des structures de bois et des puits garnis de paille (**Druvefors, 2004**)

I.8.1-Les différentes méthodes de stockage du blé

✓ . Stockage traditionnel

Le paysan algérien, des hauts plateaux, conservait surtout le produit de ses champs d'orge et de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux, appelé « El matmour » ou dans des sacs en toiles de jute, entreposés dans divers locaux, magasins ou hangars. La trop forte humidité et les eaux d'infiltration sont les inconvénients majeurs de cette méthode de stockage favorisant le développement des moisissures et les phénomènes de fermentations bactériennes (**Doumandjiet al. , 2003**).

✓ Stockage en silos

De nos jours, les silos permettent de stocker les différents types de céréales en même temps ; il s'agit de multi-produits (**Duron, 1999**). Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en métal inoxydable. L'emploi des silos réduit la main d'œuvre, augmente l'aire de stockage et supprime l'utilisation des sacs onéreux (**Merouche, 2015**).

✓ Stockage en gerbe

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

✓ Stockage en épis

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

I.9-Facteurs d'altération du blé

I.9.1-Altération d'origine environnementale

• L'humidité

La faible teneur en humidité est le facteur le plus important pour la conservation des grains lors du stockage. Les grains, stockés avec le contenu d'humidité élevé, sont soumis à des pertes élevées causées par l'attaque des insectes et des champignons. Elle favorise la respiration des grains et accentue en conséquence le dégagement de chaleur au sein des grains stockés (**Merouche, 2015**).

• La température

La température joue un rôle important dans la conservation des grains (**Merouche, 2015**).

Elle est le facteur le plus important qui affecte la qualité du grain au cours de stockage. Elle intervient d'une part sur la valeur de l' A_{wet} d'autre part sur les vitesses de réactions chimiques et enzymatiques et donc la croissance des microorganismes. Au cours de la conservation, plus la température est élevée plus les réactions biologiques des microorganismes sont rapides (**Multon, 1982**).

I.9.2- Altérations enzymatiques

Elles sont essentiellement provoquées par les enzymes propres du grain. En mauvaises

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

I.9.3-Altération d'origine mécanique ou physique

Les altérations d'origine mécanique sont dues à des chocs entraînant des cassures et favorisant les autres causes d'altération. L'utilisation des radiations telles que les rayons gamma et les rayons ultra-violet (UV) peuvent provoquer des altérations

radiochimiques tels que la pyrolyse, redistribution de l'eau dans le grain et l'adhésion de l'amidon et des constituants protéiques (**Afnor, 1986**).

I.9.4. Altération d'origine biologique

Un lot de grains entreposé comporte inévitablement au moins deux entités vivantes : les grains eux-mêmes 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) (**Multon, 1982**).

La microflore des grains est banale, à tendance xérophile et cosmopolite. Les bactéries, les levures et les mycètes filamenteux constituent un envahisseur interne et/ou contaminant externe qui font l'objet d'altération biologique (**Maganet *all.*, 2003**). Les virus paraissent négligeables, et les lichens sont parmi les rares organismes vivants capables de supporter sans dommage une grande sécheresse : leurs teneurs en eau se situent entre 5 et 40%, contre 75 à 97% pour le reste du monde vivant (**Multon, 1982**).

I.10- Procédés de traitement des grains

Mettre les grains à l'abri d'altérations, c'est prendre un ensemble de mesures qui sont applicables à toutes les étapes de la vie des grains, depuis la récolte (et même avant) jusqu'à leur utilisation (**Multon, 1982**).

Qualité initiale des grains, maîtrise de la température, de l'humidité et de la composition du milieu ambiant, traitements physiques et chimiques, sont la clé du contrôle de l'activité microbienne (**Multon, 1982**). Il existe plusieurs méthodes de traitement des grains.

• La lutte chimique

Des acides organiques de faible poids moléculaire (acide propénoïque, acide acétique et acide formique) et leurs sels sont les plus employés pour conserver les grains (**Maganet *al.*, 2004**). Cependant, ils ont beaucoup d'inconvénients : leur efficacité dépend du temps ; ils sont corrosifs ; les traitements de l'acide détruisent la viabilité de la graine ; et, surtout, le soin spécial doit être pris par l'utilisateur pour éviter l'inhalation.

Dans quelques cas, la production des mycotoxines accrue est observée dans le grain traité l'acide.

Quelques mycètes peuvent utiliser ces acides comme source de carbone. Actuellement, il y a une tendance mondiale de réduire au minimum, ou même interdiction de l'utilisation des pesticides dans les produits agricoles, ce qui donne l'urgence à la recherche des méthodes alternatives de conservation des grains (**Bankole, 1997 ; Tatsadjieu, et al., 2009**). Les traitements des grains humides par l'ammoniac gazeux ou en solution dans le but d'inhiber le développement de leur microflore suscite actuellement un certain intérêt (**Multon, 1982**). Certaines substances chimiques utilisées pour faire face aux dégradations présentent un risque toxique non négligeable : c'est le cas de l'oxyde d'éthylène, du bromure de méthyle.

Ces produits causent l'induction des phénomènes de résistance des genres mycosiques pathogènes et l'accumulation des résidus (**Flaminiet al., 2003**). L'aldéhyde formique été utilisé avec succès pour lutter contre le développement des moisissures des grains, moisson emploi pose également de nombreux problèmes (odeur, couleur, perte d'activité enzymatique) (**Flaminiet al. , 2003**).

• La lutte physique

Des méthodes physiques se sont généralement appliquées dans le stockage des grains. Les atmosphères modifiées et l'irradiation gamma devraient être mentionnées. L'action létale de l'irradiation sur les organismes vivants résulte de modifications chimiques, même quantitativement infimes, induites dans leurs molécules vitales. Les champignons producteurs de toxines sont plus sensibles que d'autres à l'irradiation (**Maganet a., 2004**). Les moyens physiques réduisent ou éliminent l'utilisation des produits chimiques, cependant, beaucoup de facteurs pratiques, techniques aussi bien que biologique, continuent à limiter l'utilisation des atmosphères modifiées et l'irradiation gamma (**Maganet al. , 2004**). Les doses de rayonnements ionisants suffisantes pour remplacer les produits chimiques sont très faibles : 0.4 à 1 KG.

• La lutte biologique

Des levures, et des bactéries nombreuses se sont avérées efficaces dans le contrôle du produit agricole frais après récolte. Les mécanismes par lesquels la croissance fongique et la production des mycotoxines peuvent être empêchées dans l'environnement concurrentiel incluent : la concurrence pour les nutriments ; l'induction des mécanismes de défense ; les interactions hyper parasitiques. Bien que le contrôle biologique ne semble pas encore être faisable sur les grains, un avantage important qui pourrait émerger des études sur les mycètes antagoniques serait la découverte des composés inhibiteurs à la production de mycètes et/ou de mycotoxines de stockage (**Magan *et al.*, 2004**).

La grande majorité des antifongiques naturels est d'origine microbienne et près de la moitié est synthétisé par les actinomycètes, en particulier par les *Streptomyces*, le genre le plus répandu dans l'environnement (**Eckwal *et al.*, 1999**).

Chapitre II : Les moisissures

II.1-Généralités

Le terme « moisissure », bien qu'il ne soit en aucun cas une dénomination de taxonomistes, il est communément utilisé pour désigner tout micro-organisme fongiquesaprophyte appartenant aussi bien aux champignons supérieurs (Ascomycètes Hyphomycètes, Basidiomycètes) qu'aux champignons inférieurs à hyphes coenocytiques(Zygomycètes) (**Meghazi, 2015**). C'est des champignons microscopiques, eucaryotes, hétérotrophes dont les aliments sont généralement des substrats très favorables à leur développement.

Le nombre d'espèces fongiques varie de 60 à 100 milles (**Rebouxet al. , 2010**). Elles sont omniprésentes dans notre environnement. La plupart sont phytopathogènes et se développent en saprophyte dans la terre et sur les plantes ou les débris végétaux en voie de putréfaction, elles se retrouvent aussi bien dans l'air que sur le sol et les surfaces, dans l'alimentation et parfois dans l'eau (Anonyme, 2011). Elles se rencontrent également sur les viandes et les produits d'origine animale, les cadavres d'animaux et les déjections des animaux herbivores (**Delarras, 2007**). Elles sont également considérées comme des formes imparfaites d'agents pathogènes entraînant mycoses et allergies. Les moisissures saprophytes contaminent les aliments et les dégradent de point de vue, qualitatif (**Guiraud, 1998**). Les espèces pouvant contaminer les aliments sont très nombreuses. Se retrouvent aussi bien sous forme végétative (conidies) que sous leur forme sexuée (ascospores), ces dernières étant particulièrement aptes à la survie.

II.2.Caractères généraux

Les moisissures sont des champignons microscopiques. Ce sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif, le thalle, est formé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes. Lorsque la croissance est suffisamment avancée, l'ensemble des hyphes constitue un mycélium visible à l'œil nu qui se présente comme une sorte de feutrage à la surface colonisée. Les moisissures ne peuvent se développer que sur des substrats organiques. La structure filamenteuse du thalle les rend particulièrement aptes à coloniser des substrats solides. En raison de leurs aptitudes écologiques et physiologiques ; les moisissures sont de loin les microorganismes les plus redoutables pour les grains stockés (**Multon, 1982**).

II. 3. Facteurs de développement

Les moisissures ont un métabolisme actif en rapport avec leur mode de nutrition par absorption (Moreau, 1996). Leurs développements sont dépendants de la nature des substrats disponibles (cellulose, lignine, etc...) et les conditions physiques : températures, activité de l'eau (aw) ou disponibilité en eau, pH et oxygène (**Méghazi, 2015**). Aussi, signalent que la température, l'activité de l'eau et le pH contrôlent largement la germination et la croissance des moisissures xérophiles. Les conditions de développement de chaque espèce est spécifique en terme de condition physicochimique (**Reboux, 2006**).

II.3.1-La températures

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

II. 3.2- L'humidité

Au lieu du taux d'humidité, l'activité de l'eau (aw) d'une substance est utilisée pour exprimer les besoins du champignon. Plus l'aw est faible, moins il y'aura d'eau disponible pour la croissance du champignon. Divers types d'aliments sont caractérisés par leur activité d'eau (aw), cette exigence varie selon les espèces de moisissures et a une grande influence sur leur croissance mycélienne, la sporulation et surtout sur la germination des spores (**Moreau, 1996**). Elle conditionne également leurs activités lipolytiques et protéolytiques. Celles qui colonisent les milieux solides comme les grains de céréales en cours de stockage ou encore les produits céréaliers séchés sont qualifiées de xérophiles (aimant les milieux secs), (**Guiraud, 1998**). Les activités d'eau nécessaires à leur croissance vont de 0.68 à 0.83 (**Reboux, 2006**). En outre, l'interaction entre la température et la teneur en eau du grain influe sur

l'importance de la colonisation de ces moisissures, car le passage de l'eau du grain à l'état de vapeur est favorisé par une augmentation de la température (**Proctor, 1995**).

II. 3.3- Le pH

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

II .3.4- La composition gazeuse (oxygénation)

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

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

II.3.6- Les interactions

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

II.3.7- La proportion de grains brisés dans un lot

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

II. 4- Les moisissures du blé stocké

Il faut savoir que, le plus souvent, les végétaux sont contaminés par les moisissures lors de la culture, et que la croissance du champignon et la production des toxines se poursuivent après la récolte (Méghazi, 2015).

II.4.1-Flore des champs

Les grains de blé sont contaminés par les microorganismes dans le champ, et cette microflore est dominée par des moisissures (Deak, 2008). Les spores des champignons de champ envahissent les grains et croissent dans le champ ou attendent le battage. Les genres rencontrés sont : *Alternaria* (le plus fréquent), *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium* (moins fréquents), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium*. Cette flore est bien adaptée à des changements rapides des conditions dans le champ. Elle exige des activités en eau relativement élevées pour une croissance optimale (Adams *et al.*, 2008). En fonction des conditions précises, ces champignons peuvent mourir lentement au cours du stockage ou peuvent survivre pendant de longues périodes. La survie est plus longue à basse température et à faibles niveaux d'humidité (Roberts, 2005).

Le genre *Alternaria*: Il est fréquent, même dans le blé cultivé dans les zones arides. Les espèces les plus fréquentes sont : *Alternaria alternata* est connue par la production des mycotoxines ; *Alternaria tenuissima* est capable de produire des toxines tel que l'acide ténuazonique et *Alternaria infectoria* cause la décoloration et la dévalorisation du grain mais elle est non toxigénique.

Le genre *Fusarium*: Il comprend les espèces qui ont à la fois des pouvoirs pathogènes et saprophytes. Les espèces rencontrées sont surtout : *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium poae* (Méghazi, 2015).

Les champignons *Fusarium* ont la capacité de produire des mycotoxines.

Les deux espèces *Fusarium culmorum* et *Fusarium graminearum* peuvent causer la pourriture de la tige et la brûlure de l'épi du blé et ces infections de champ peuvent conduire à l'altération post récolte plus importante de ce produit s'il est stocké à une trop forte activité de l'eau (Adams *et al.*, 2008). (Figure 04).

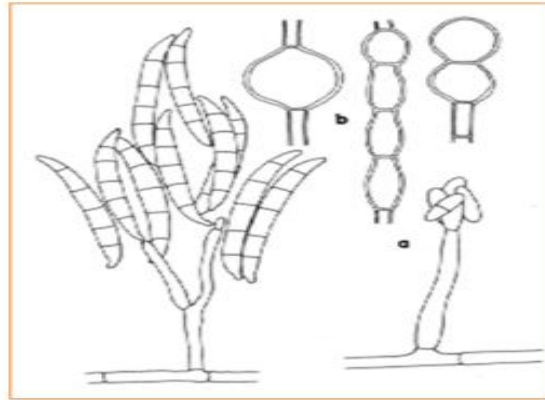


Figure04 : Schéma d'un Fusarium (a) Micro conidie ; (b) Chlamidospores (Mégazi, 2015).

II.4.2- Flore intermédiaire

Elle est une catégorie à comportement plus diversifié et regroupe des germes capables d'un développement limité, au début de stockage, en condition particulière et notamment

sur grains insuffisamment secs. Les genres les plus rencontrés sont : *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Absidia* et *Mucor* (Godon *et al.*, 1997).

II. 4.3- Flore post-récolte

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

II.5- Les principales moisissures d'altération du blé stocké

II. 5.1- Le genre *Aspergillus* : Chaque espèce de moisissures de stockage à ces conditions de développement. Dans le blé stocké, les moisissures du genre *Aspergillus* se multiplient d'autant plus rapidement que la température (jusqu'à 40°C)

et l'activité de l'eau sont élevées (**Feillet, 2000**). Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées dans le grain de blé stocké sont surtout : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*. Si le blé est stocké à une teneur d'humidité de 14 à 15% et à une température d'environ 70°C, il sera lentement envahi par d'autres espèces notamment *Aspergillus restrictus*. Cette dernière représente l'espèce qui prédomine dans le blé stocké pendant quelques mois si l'humidité est inférieure à 15%.

Au-dessus de 15% d'humidité, d'autres espèces peuvent apparaître telles que : *Aspergillus repens*, *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus ruber* prédominent et conservent

leurs prédominances même à des teneurs d'humidité supérieures à 18% (**Mahidebet Merrouche, 2015**).

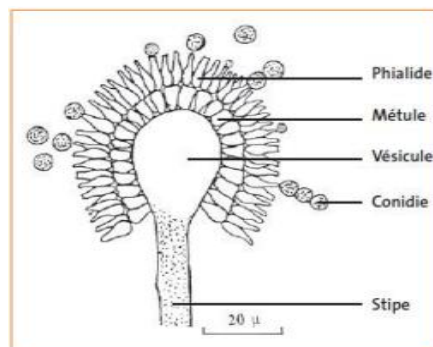


Figure05 : Schéma d'une tête aspergillaire (Anonyme, 2012)

II.5.2.-Le genre *Penicillium*

De tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus ubiquitaire. Il comporte plus de 200 espèces qui se rencontrent partout de l'équateur aux pôles (**Reboux et al., 2010**). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles (**Figure07**), rappelant ainsi la forme d'un pinceau ; A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation. Comme dans le cas des *Aspergillus*. Les spores asexuées ou bien les conidies ou conidiospores sont produites par bourgeonnement (**Méghai, 2015**).

II.5.3- Les *Mucorales*

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

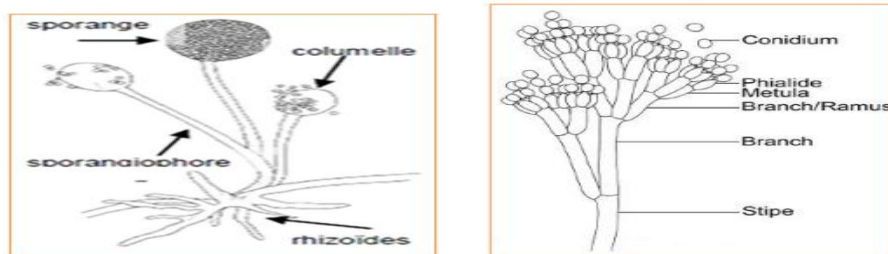


Figure06 : Appareil reproducteur des **Figure07 : Schéma d'un pénicille**
(Dufresne et StGermain, 2013).(Source Net)

II.6-Identification des moisissures

L'identification des très nombreuses espèces fongiques susceptibles de coloniser les aliments et d'en altérer les qualités, voire de produire des mycotoxines est une étape indispensable à l'évaluation du risque mycotoxique. Cette identification a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification. Toutefois, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (MahidebetMerrouche ,2015).

II.7 -Rôle des moisissures

Sur le plan économique on peut distinguer deux groupes de moisissures, celles qui sont utiles, utilisées dans l'industrie pour conférer aux produits des propriétés

organoleptiques et technologiques, d'autres nuisibles et toxigènes qui peuvent se développer sur différents substrats et y produire, dans certaines conditions de températures et d'humidité, des molécules toxiques dénommées mycotoxines (Boudra, 2009).

II. 7.1-Actions bénéfiques des moisissures

II. 7.1.1-Rôle dans l'industrie alimentaire

Les moisissures sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytiques, protéolytiques, etc....) qui en font des agents de dégradation dangereux mais parfois des agents technologiques utilisés dans l'affinage des fromages et dans la production d'enzymes (Guiraud, 1998). Les *Aspergillus* et les *Penicillium* jouent un rôle primordial en biotechnologie grâce à leur aptitude à produire de grandes quantités d'enzymes extracellulaires tels que les protéases, amylases, lipases et pectinases utilisés dans de nombreux processus industriels y compris la fabrication de produits de boulangerie, les produits laitiers, les jus et dans l'industrie de l'amidon. On note leur rôle utile dans la fabrication de nombreux aliments. Ainsi, des souches sélectionnées de moisissures sont utilisées dans la fabrication du Roquefort (*Penicillium roquefortii*) ou du Camembert (*Penicillium camembertii*). En outre, d'autres souches appartenant au genre *Aspergillus* interviennent dans la production des sauces de soja dont la matière première est un mélange de grains de soja et de blé, la dégradation de ce substrat est appelée le processus de Koji et consiste l'un des meilleurs exemples pour la fermentation d'un substrat solide où l'on utilise les deux espèces *A. oryzae* et *A. Sojae* (Méghazi, 2015).

II.7.1.2. Rôle dans l'industrie pharmaceutique

Certaines moisissures sont utilisées pour la production d'antibiotiques telle que la découverte de l'activité antibiotique très importante de la pénicilline contre les bactéries à gram-négatif, produite naturellement par l'espèce *Penicillium notatum*, les toxines secrétées par quelques moisissures s'accompagnent également d'un pouvoir antibactérien qui s'exprime préférentiellement sur des espèces du genre *Bacillus* (Filténborget al., 1996)

II. 7.1.3. Rôle phytosanitaire

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

II. 8-l'agent pathogène (*Fusarium oxysporum*)

II. 8.1- Définition et taxonomie

Le genre *Fusarium* est bien connu pour son rôle important en phytopathologie, ce dernier regroupe un grand nombre d'espèces.

Le *Fusarium oxysporum*, est un champignon cosmopolite et commun particulièrement fréquent dans le sol ou il survit grâce à des chlamydospores pendant les mois froids. Phytopathogène, il comprend plusieurs formes spéciales (on en connaît plus de 72). Ces dernières sont adaptées à des espèces végétales particulières et des races physiologiques s'attaquant à certaines variétés de la plante hôte **(Bachir, 2015)**. Sa taxonomie se présente comme suit :

Règne : Mycota

Division : Eumycota

Subdivision : Deuteromycota

Classe : Hyphomycetae

Ordre : Hyphales

Famille : Tuberculariaceae

Genre: *Fusarium*

Espèce : *Fusarium oxysporum* **(Agrios, 1988)**.

II. 8.2- Les caractères morphologiques

Le *Fusarium oxysporum*, se caractérise par un mycélium aérien feutré, septé, blanc et coloré en violet. Il est reconnu par ses caractéristiques suivantes :

Les microconidies : *F. oxysporum* est caractérisé par la présence abondante de microconidies

(TIVOLI, 1988 in Bachire, 2015) fusiformes à réniformes, présentant 0 à 2 septa, agglomérés en fausses têtes produites par de petits phialides (5-12 x 2,2-3,5 µm).

Les macroconidies : légèrement arquées, présentant 3 à 4 septa, la cellule basale pédicellée, lacellule apicale en crochet, produite par des phialides sur des conidiophores ramifiés ou en sporodochie (27-46 x 3-4,5 µm) (Bachire, 2015).

Les chlamydospores: Les chlamydospores sont des organes de conservation, hyaline, lisse, ourugueuse, globuleuses, terminales ou intercalaires (5-15 µm de diamètre) (Bachire, 2015).

II. 8.3- Caractères physiologiques

Ce champignon se développe bien sur un milieu gélosé à base de pomme de terre potato dextrose agar (PDA), la croissance débute à 7 °C et demeure faible jusqu'à 12°C, devient rapide entre 21-27,5 °C et s'arrête (Ghourri, 2015).

L'optimum de croissance du champignon in vitro est obtenu à 28 °C et la meilleure germination de microconidies est à 27 °C. Cet auteur montre que la croissance est faible entre les PH 8,5-9,7 et rapide pour les PH 5 à 6. Les sources de carbone les mieux métabolisées par ce champignon sont : la pectine, le mannose et le glucose. Les sources d'azote organique sont les mieux utilisées que l'azote minéral (Guissous et Tayeb Hammani, 2015).

II.8.4-Biologie

Dans un milieu de culture solide, comme le milieu PDA, les différentes formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent varier d'apparence. Généralement, au début de la croissance, le mycélium aérien est blanc et peut ensuite changer vers une grande variété de couleurs (du violet jusqu'au pourpre foncé) selon la souche de *F. oxysporum* (ou forme spéciale) (Guissous et Tayeb Hammani, 2015).

II. 8.5- Nutrition

Le *Fusariumoxysporum* est un champignon prototrophe, il n'a besoin que d'une seule source de carbone pour la structure des composés organiques : glucides, lipides et acides aminés. Les autres éléments nutritionnels en l'occurrence : C, H, O₂, N, P, K, Mg, S, Fe, Mn, Zn, sont nécessaires pour la croissance, la sporulation et la virulence (**Belyagoubi, 2006**), le chlore n'est pas nécessaire pour la croissance, mais il active les enzymes lytiques (il a un rôle dans l'apparition de la maladie) (**BachirBouiadjra, 2015**).

II .8.6- Maladie, symptômes

Au champ, les « manques à lever » dus aux *F.oxysporum* venant de la semence sont difficiles à démontrer, les formes spécialisées, ainsi que d'autres *Fusarium* pouvant s'implanter très tôt en végétation. C'est le cas sur radis, pois, cucurbitacées, asperge... ou des pourritures racinaires suivies de brunissements sont observées. Les symptômes dus aux *F.oxysporum* spécifique se caractérisent souvent par des brunissements des vaisseaux, des jaunissements des feuilles, pouvant entraîner le dessèchement complet des plantes.

II.8 .7-Localisation sur la graine

- Sous forme de spores à la surface de la graine.
- Sous forme de mycélium dans les parties les plus externes des téguments

Chapitre III : Les huiles essentielles

III.1. Définition

Selon AFNOR : les huiles essentielles (HE) sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de *Citrus* par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (**Bouhali, 2015**)

Selon Bruneton (1999), les (HE) sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Les (HE) ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie.

III.2. Localisation et rôle des huiles essentielles

III.2.1. Localisation

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme secondaire. La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans les organes sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées : cellules sécrétrices. Les cellules sécrétrices sont rarement isolées, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtaceae, Rutaceae) dans des canaux sécréteurs (Apiaceae, Composeae) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (**Sellah, 2018**).

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple : la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante (c'est le cas d'oranger amer (*Citrus aurantium*, Rutaceae): l'épicarpe frais du fruit fournit l'essence de Curaçao utilisée pour confectionner des cocktails, les fleurs fournissent l'huile de Néroli (eau de fleur d'oranger amer), les feuilles et les petits rameaux fournissent l'essence de petit grain de bigaradier.

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielles des plantes pouvant les contenir sont très faibles, souvent inférieures à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral du giroflier (15 %) sont rares et exceptionnelles (**Sellah, 2018**).

III.2.2. Rôle des huiles essentielles

Le rôle biologique des huiles essentielles dans la plante n'est pas bien défini, il est vraisemblable qu'elles aient un rôle écologique. Elles permettent entre autre à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés attractives ou répulsives vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes...). Par leurs odeurs, elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, par leur pouvoir antiseptique protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et parasites du sol (**Kermiche et Latrous, 2020**).

III.3. Biosynthèse et composition chimique des huiles essentielles

III.3.1. Biosynthèse

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse, etc... Il en résulte que les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses.

Les constituants des huiles essentielles sont issus de multiples voies de biosynthèse qui opèrent dans des compartiments cellulaires différents. Toutes ces voies prennent ancrage sur des intermédiaires métaboliques des principaux constituants cellulaires que sont les sucres, les lipides et les acides aminés. Les teneurs en huiles essentielles de certains végétaux étant importantes, leur production requiert la consommation d'une quantité importante de photosynthétats pour ne pas aveugler les cellules productrices. Ceux-ci proviennent de la sève élaborée (sous forme de saccharose), car les cellules productrices d'huiles essentielles sont souvent chlorophylliennes. Une observation synthétique des voies de synthèse des composés organiques volatiles (COV) révèle qu'un grand nombre fonctionnent dans le chloroplaste. Ce sont aussi celle

qui est responsable de la synthèse de la majeure partie des constituants de la plupart des huiles essentielles. Certaines de ces voies (voie de terpènes et voie de dégradation des acides gras) fonctionnent différemment dans plusieurs compartiments cellulaires, ou elles produisent des COVs différents. Une fois une structure carbonée de base fabriquée dans un compartiment cellulaire, il est fréquent que le COV ainsi produits soit oxydé/réduit, méthyle ou acétylé dans son compartiment d'origine et/ou dans un autre compartiment cellulaire (mitochondrie, réticulum endoplasmique, cytoplasme) (**Kermiche et Latrous, 2020**).

III.3.2. Composition chimique

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasiexclusivement 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 d'autre part (**Sellah, 2018**).

Selon (**Bruneton, 1999**), cette structure varie en fonction : du nombre d'atomes de carbone qui la constitue tel que les monoterpènes et les sesquiterpènes rarement les diterpènes ; du caractère saturé ou insaturé des liaisons ; de leur agencement linéaire ou cyclique ; de la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...) et de la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes : $RI-HC=CH-R2$.
- Alcools terpéniques : $R-OH$.
- Cétones : $RI-CO-R2$.
- Phénols : $C6H6-OH$.
- Aldéhydes : $R-CHO$.
- Esters : $RI-COO-R2$.
- Ethers : $RI-O-R2$.

III.3.2.1. Terpènes et terpénoïdes :

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpénoïdes ou terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques. Seuls les monoterpènes en C₁₀ et les sesquiterpènes en C₁₅ peuvent être extraits par distillation contrairement aux autres terpènes

(diterpènes en C20 et triterpènes en C30) (Meghazi, 2015). Ces derniers sont de formule générale $(C_5 H_8)_n$ (Mohammedi & Atik, 2006).

➤ Monoterpènes

Et sont surtout présents chez les Conifères (Meghazi, 2015). Les monoterpènes sont issus de la condensation de l'isopentényl pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP), si la condensation s'effectue entre 2 molécules DMAPP, on parlera de mono terpènes irréguliers par opposition à ceux dits réguliers obtenus par condensation entre l'IPP et le DMAPP (Bruneton, 1999). Ils ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs arômes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle des insectes phytophages et sont considérés comme des composés anti-infectieux ; bactéricides, virucides et fongicides (Meghazi, 2015).

➤ Sesquiterpènes

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents.

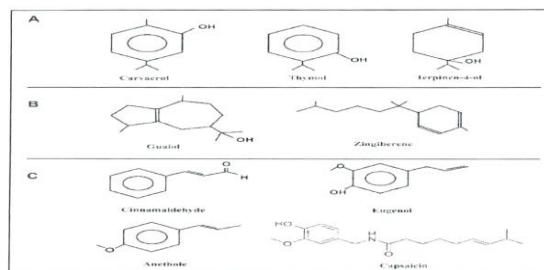


Figure 08 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (A) : monoterpénoïdes, (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes (Abbes, 2014).

III .3.2.2. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents

dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement

responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle.

III.3.2.3. Composés d'origine divers

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille : **(Hessas&Simoud, 2018)**.

III.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il est important aussi bien de faire la distinction entre le terme « huile essentielle », réservé au produit aromatique issu de la distillation, et le terme « essence » issu de l'extraction par expression à froid **(Bouhali, 2015)**.

Cette dernière est chimiquement identique à l'essence naturelle contenue dans les poches oléifères de l'écorce du fruits, tandis que l'HE est l'essence transformée par la chaleur du procédé de distillation et est basée sur le principe que la plupart des composés volatils odorants sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe **(Bouhali, 2015)**

III.4.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile **(figure.09)**

- □ L'hydrodiffusion, rarement utilisé est une variante de la distillation par entraînement à la vapeur. Son principe repose sur l'action descendante de la vapeur d'eau

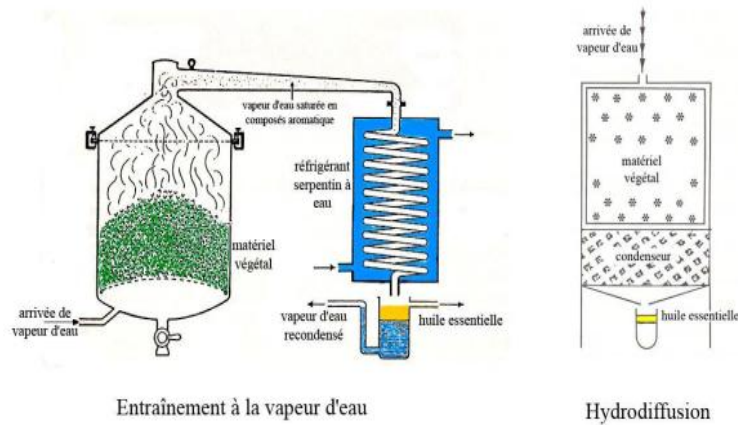


Figure 09 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante (Bouhali, 2015).

III.4.2. Hydrodistillation

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation du mélange binaire non miscible. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les principaux composés volatils ne se dissolvent pas dans l'eau et l'huile essentielle peut être séparée par décantation après refroidissement dans un séparateur de phases (Abdelkader et Bouchakour, 2018).

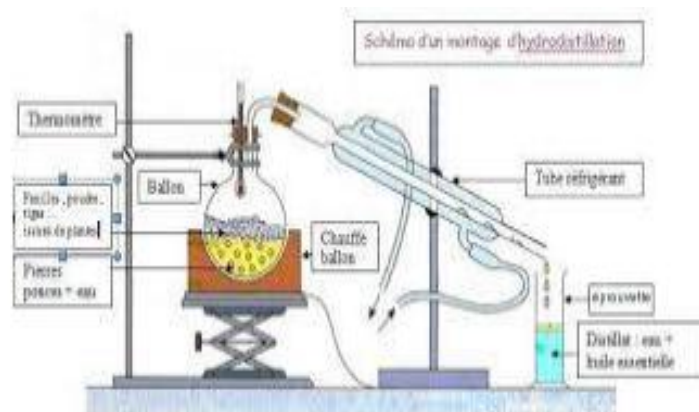


Figure 10 : Schéma d'un montage d'hydro distillateur (Abbès, 2015).

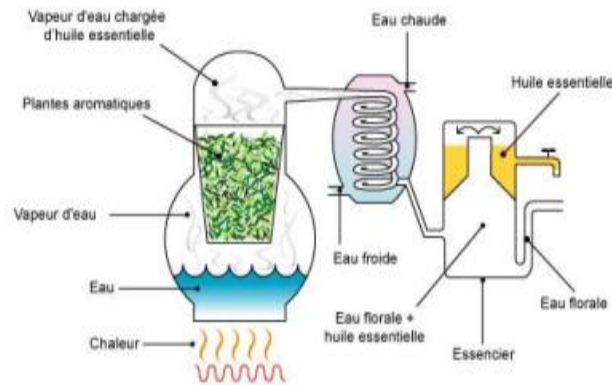


Figure 11 : Schéma d'un montage d'hydro distillateur (KermicheetLatrous, 2020).

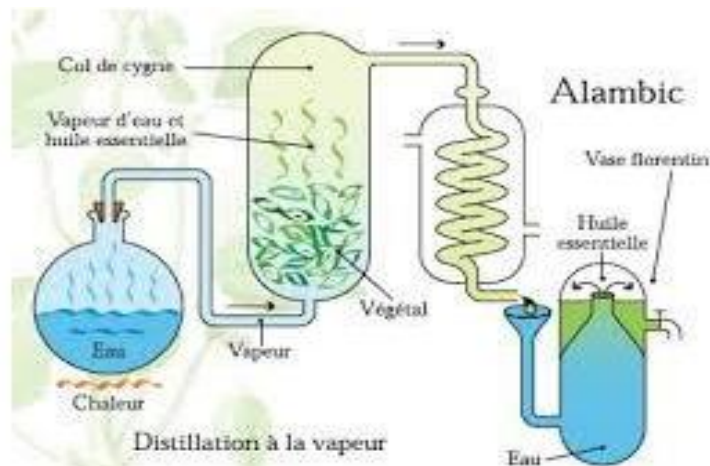


Figure 12 : Schéma de la distillation à la vapeur de l'essence végétale (Sophie, 2015).

III.4.3 Expression à froid

Les huiles essentielles sont aussi obtenues par expression à froid dans le cas particulier des agrumes, on parle alors d'essence et non pas d'huile essentielle (Sophie, 2015). Elle constitue le plus simple des procédés et consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin d'en libérer l'essence. Cette technique uniquement mécanique limite l'oxydation car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile de l'essence (Amrani, 2018).

III.4.4. L'extraction directe

L'extraction par solvant organique à chaud est actuellement largement utilisée. Le principe de cette méthode consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés (**Amrani, 2018**). Dans l'appareillage Soxhlet un système de régénération interne du solvant permet de mettre en contact en permanence le végétal avec dissolvant pur. Les solvants organiques sont ensuite retirés par distillation pour ne laisser que les substances végétales, un mélange alors appelé "concrète" et des essences dites "absolues". Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, Stabilité, inertie chimique et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale. Ces extraits sont très utilisés en parfumerie (**Bousbia, 2011**).

III.4.5. L'enfleurage

L'enfleurage est une ancienne technique d'extraction des parfums des fleurs qui a p Elle est préférée sur les organes, ou composés, fragiles. Lors de ce processus, les tissus végétaux sont mis en contact avec un corps gras (axonge) pour le saturer en essences végétales. Le corps gras est ensuite épuisé par l'alcool absolu et ce solvant évaporé sous vide pour ne laisser que les substances végétales (**Hamdani, 2018**).

III.4.6. Autres techniques

III.4.6.1. Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité ; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles *fixes*, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent

se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Seddik, 2010).

III.4.6.2. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Seddik, 2010).

III.4.6.3. Hydrodistillation assistée par ultrasons :

Il s'agit dans ce cas précis d'un traitement de la plante «pré» ou «post» opératoire. En effet, la structure des parois des plantes et les tissus cellulaires se désorganisent, sous l'effet des ondes ultrasonores et les micros cavitations générées par les ultrasons (Abdelkader et Bouchakour, 2018). Ainsi, ces changements favorisent la diffusion de l'eau dans les tissus cellulaires, ce qui peut également influencer sur la cinétique d'extraction des molécules aromatiques des huiles essentielles. Les principaux avantages de ce procédé sont l'accélération de la cinétique d'extraction et l'amélioration du rendement.

- l'extraction par les fluides supercritiques ou encore l'eau à l'état subcritique (Abbes, 2014), l'extraction par la détente instantanée contrôlée,
- l'extraction par solvants sous pression et l'extraction par la flash détente (Kehal, 2013)

III. 5. Activités biologiques des extraits des plantes

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont dotées d'activités biologiques intéressantes

III.5.1. Activité antifongique

La grande diversité des composants des huiles essentielles leur confère l'avantage d'avoir différents modes d'action sur plusieurs genres de champignons et empêche ainsi

l'apparition du phénomène de résistance par le pathogène (**Meghazi, 2015**). Ces dernières années, les huiles essentielles de plusieurs plantes sont étudiées pour leurs propriétés antifongiques, à la fois contre les champignons pathogènes causant mycoses et maladies infectieuses et ceux causant la détérioration des aliments et la production de mycotoxines.

Plusieurs travaux ont étudié le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons. Ainsi, selon (**Sophie, 2015**) l'action antifongique des huiles essentielles s'explique par une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort du champignon. En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des champignons. D'autre part, (**Hamdani, 2018**) ont étudié le mode d'action de l'huile essentielle de *Citrus cinensis* qui a été décrite par sa richesse en limonene (84.2%) sur *Aspergillus niger* et rapportent des altérations morphologiques au niveau du mycélium qui apparaît sévèrement détruit, ceci est due à l'absence du cytoplasme. Ces changements peuvent être en rapport avec l'interférence des composants de l'huile essentielle avec les réactions enzymatiques de la proie ce qui affecte la morphologie du champignon et sa croissance. Le mécanisme fongicide peut engendrer la destruction du mycélium existant ainsi que l'inhibition de la formation d'un nouveau mycélium (**Amrani, 2018**).

En outre, il a été montré que les huiles essentielles sont capables d'inhiber la germination des spores. Une terpénoïde nommée le cham azulène, composé majeur de l'huile essentielle de l'Achillée millefeuille (*Achillea millefolium*), constituant ainsi

42.2% de la totalité de l'huile, exerce des effets génotoxiques contre les cellules fongiques et empêche le développement des spores (**Bouhali, 2015**) dans le même contexte, l'étude démontre la grande capacité de l'huile essentielle de *Nepeta rtanjensis* à inhiber la germination des spores de quatre champignons différents et suggèrent son utilisation comme fongicide. Par ailleurs, l'huile essentielle de citronnelle a montré, quant à elle des effets fongostatiques ou inhibiteurs de croissance des champignons de détérioration des aliments de stockage (**Abbes, 2015**).

Parmi les activités antifongiques, les effets anti-aflatoxigéniques de quelques huiles essentielles méritent une attention particulière (**Hamdani, 2018**).

Ainsi (**Messaour, 2018**), rapportent que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* et *Citrus aurantifolia* inhibent la production des aflatoxines et la croissance d'*Aspergillus parasiticus*, tandis que celle de *Carum carvi* inhibe uniquement la production des aflatoxines de cette moisissure.

III.5.2. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes et luttent contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique. L'activité antifongique des huiles essentielles peut être due à la présence des terpènes qui causent la rupture des membranes fongiques et inhibent le développement des champignons. Les huiles essentielles permettent également la protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Chouiteh., 2012**).

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Messaour, 2018**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Abess, 2014**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Roudane, 2018**). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Roudane, 2018**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire. Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (Bouhali, 2015). Et *Campylobacter jejuni* (Bousbia, 2011) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. (Bousbia, 2011) a étudié les propriétés antibactériennes de quelques huiles essentielles issues de la pharmacopée traditionnelle Ivoirienne, *Ocimum gratissimum*, *Ocimum canum*, *Xylopias aethiopica*, *Citrus aurantifolia*, *Lippia multiflora*, et *Monanthes toxiscapea*.

Les huiles essentielles de ces plantes se sont révélées efficaces contre les bactéries multirésistantes notamment les *E. coli* résistants aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3GR), *E. coli* productrice de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) et staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM).

III.5.3 Activité Antiseptique

L'usage de la plupart de ces huiles repose sur leurs propriétés antiseptiques vis-à-vis des microorganismes pathogènes (Meghazi, 2015). Plusieurs composés sont cités comme responsables des propriétés antiseptiques des huiles essentielles : le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde et l'eugénol (Abess, 2014). L'effet des composants antimicrobiens contenus dans les HE dépend du pH de l'aliment, le type et le nombre des microorganismes contaminants ainsi que le type et la concentration du composant antimicrobien.

III.5.4 Activité antioxydante

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt. Par conséquent, d'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles (Richard, 2008). De nombreux composés responsables du pouvoir antioxydant ont été

identifiés, ce sont surtout des phénols et polyphénols (**Richard, 2008**). Ces composés phénoliques, comme le thymol, la carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HE présentant les plus fortes activités antioxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (**Hamdani, 2018**).

III.6. Utilisation des huiles essentielles

III.6.1. Phytothérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries.

III.6.2. Dans l'industrie agroalimentaire

La méthode de conservation des aliments est un paramètre très recherché par le consommateur (**Roudane, 2018**). Des études faites à travers le monde, portées sur l'efficacité des différents extraits obtenus de la plante sur certains agents d'altération ont montré le grand intérêt des huiles essentielles dans la conservation des aliments et que ces dernières peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments (**Roudane, 2018**). Toutefois, quelques limites existent à leur utilisation comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines d'entre elles, donc l'emploi de huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt : aromatisant, antioxydant et antimicrobien (S. Par conséquent, les HE sont considérés comme des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire.

III.6.3. En pharmacie

Les huiles essentielles présentent des activités pharmacologiques et cliniques comparables à celles d'un médicament allopathique, elles sont utilisées en aromathérapie, ce terme vient du grec « aroma » qui signifie odeur et « therapia », qui

signifie soin. Il s'agit donc d'une méthode de soin naturel par les odeurs (**Abbes, 2014**).

III.6.4 Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des huiles essentielles dans des crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leurs activités antiseptiques et antioxydants, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Messaour, 2018**).

Les huiles essentielles à l'état dilué, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes. L'industrie de parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de Rose, de Jasmin, de violettes, de verveine (**Hessas&Simoud, 2018**).

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau et de ses désordres (acné, rides...), les cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, sec...), la silhouette (vergetures, cellulite...). Les principes actifs des huiles essentielles franchissent très rapidement la barrière cutanée et sont absorbées par la peau pour agir en douceur (**évidence box, 2018 in Hessas et Simoud, 2018**).

III.6.5. Dans l'industrie chimique

Les propriétés chirales de certains composés naturels odorants en font des précurseurs de choix de la chimie fine et peuvent être utilisées dans la fabrication des produits d'hémisynthèse (**Seddik, 2010**).

III.7. Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (**Abdelkader et Bouchakour, 2018**).

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Abbes, 2014**).

Selon **Englebin (2011)**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit : "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose "Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et fou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

III.8. Contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (**Pibri., 2006**). Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement «végétale », contrairement aux essences synthétiques ou «identiques naturelles» intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (**Pibri., 2006**).

IV : Généralité sur l'orange et de clou de girofle :

IV.I. Généralités sur les plantes médicinales

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et qu'elle présente des propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Benabdi&Otmani, 2019**).

Ce sont des plante utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, leur action provient de leur composition chimique (métabolites primaires ou secondaires) ou des synergies entre les différents composés présents (**Benabdi & Otmani, 2019**). Une plante médicinale est généralisée si elle obéit à plusieurs critères comme la présente ou pas de phénomène de toxicité, son utilisation pour une indication donnée dans plusieurs pays et la posologie précise (**Benabdi & Otmani ,2019**)

IV.II. Généralités sur les agrumes

Les agrumes représentent l'une des récoltes de fruits les plus importantes dans le monde. Selon la FAO, la production mondiale (en 2012) est estimée à plus de 115 millions de tonnes par an dont 517 milles tonnes ont été produites en Algérie. Cette dernière occupe la 19^{ème} place mondiale et la 2^{ème} dans le Maghreb. Les agrumes incluent les citrons (*Citrus limon*), les mandarines (*Citrus reticulata*), les pomelos (*Citrus paradisi*), les clémentines (*Citrus clementina*), et les oranges (*Citrus sinensis*),...etc (**Brahimi&Dahmani, 2018**).

IV.II.1. L'Orange

Les oranges sont les plus consommées en raison de leur bonne saveur, leur valeur nutritive élevée et leur composition riche en molécules bioactives (plus de 170 composés phytochimiques sont décrits). Elles sont consommées comme dessert (fruit frais ou cuit), .confiture ou jus (**Brahimi&Dahmani, 2018**).



Figure 13 : Feuilles, fleurs et fruits d'orange (Hama &Asloune, 2017).

IV.II.2. Cycle de vie des oranges

Les orangers sont des espèces fruitières à feuilles persistantes, le cycle de vie de cet arbre débute par une phase de dormance suivi par une phase de débourrement ou il y a le gonflement des bourgeons et le développement des feuilles suivis par une phase de floraison (début, pleine et fin) (Brahimi&Dahmani, 2018).

IV.II.3. Classification botanique et taxonomie

Bien que la classification de Conquist soit l'une des plus utilisées dans certains ouvrages et bases de données, plusieurs classifications botaniques des citrus ont été également proposées (tableau 03). Les classifications des citrus sont basées essentiellement sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques (Bouhali, 2015).

Tableau03 : Classification botanique des agrumes (Brahimi&Dahmani, 2018).

	Classification de Cronquist (1981)	Classification de Kimball (1999)	Classification de Khan <i>et al.</i> (2010)
Règne	Plantae	Végétal	Végétal
Embranchement	Tracheobionta	Tracheobionta	Spermaphyte
Division	Magnoliophyta	Embryophyta	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Monocotylédoneae
Sous classe	/	/	Archichalmydeae
Ordre	Géraniale	Sapindales	Rosidae
Sous ordre	/	/	Germiineae
Famille	Rutaceae	Rutaceae	Rutaceae
Tribu	/	/	Citreae
Genre	<i>Citrus</i>	<i>Citrus</i>	<i>Fortunela, Poncirus et Citrus</i>

IV.II.4. L'oranger et sa culture

D'une hauteur de 2 à 3 m et d'une durée de vie de 300 à 400 ans, les orangeries prospèrent dans les régions tempérées disposant d'un hiver doux. Ils ont besoin de beaucoup de soleil, de chaleur et d'eau. La différence de température entre l'été et l'hiver et entre le jour et la nuit est importante pour le développement correct de la saveur et de la couleur (*Messaour, 2018*).

IV.II.5. Composition

L'orange contient en moyenne 12 % de glucides (40% de saccharose), de la vitamine C (80mg/100g), vitamines P, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium (40 mg /100 g), riche en pectines, elle a un rôle de régulateur du transit intestinal. Elle contient une flore mésophile (levures et lactobacilles) indispensable pour une bonne digestion. En plus de sa haute teneur en vitamine C, l'orange est riche en magnésium (12,4 mg/100 g en moyenne) en fibres (2,8 g/100 g en moyenne). (*Bousbia, 2004*).

IV.II.6. Différentes variétés des oranges

IV.II.6.1. Les oranges navels

Ces oranges sont les plus consommées sous forme de fruits (*Brahimi&Dahmani, 2018*). Elles sont moins juteuses que la plupart des autres variétés et elles développent une certaine amertume lors du pressage ce qui peut les rendre impropres à une production de jus.

IV.II.6.2. Les oranges blondes

Dont la principale variété est la Valencia, première variété commerciale de tous les types d'agrumes (*Messaour, 2018*) Les oranges blondes développent beaucoup moins d'amertume que les oranges navels lors de leur pressage.

IV.II.6.3. Les oranges sanguines

Les oranges sanguines, le "Tarocco", le "Sanguinello" et le "Moro", sont les variétés généralement cultivées de *Citrus sinensis (L.) Osbeck* dans le pourtour méditerranéen. La variété Moro est la plus colorée de toutes les variétés d'orange sanguine. La couleur rouge (ou la couleur de Bourgogne) de l'orange sanguine est principalement associée

aucolorant d'anthocyanes .En effet, la couleur orange caractéristique des caroténoïdes est masquée ou partiellement masquée par les colorants hydrosolubles d'anthocyane. La couleur rouge du fruit est un facteur important affectant le choix du consommateur et le marketing du fruit (**Brahimi&Dahmani, 2018**).

IV.II.7.Utilisation

Les oranges doivent être choisies en fonction de leur utilisation, il existe des variétés de bouche, comme les Navels, et des variétés à jus, comme les Valencias. Les oranges se conservent très bien à température ambiante, toutefois il est possible de les mettre dans le bac à légumes du réfrigérateur pour limiter leur déshydratation. Les zestes, c'est-à-dire la partie extérieure de la peau de l'orange, sont également prélevés à l'aide d'un zesteur ou à défaut d'un économe. Ils contiennent des essences odorantes et des huiles essentielles. Celles-ci sont utilisées en alimentation, mais aussi en pharmacie et en parfumerie (**Messaour, 2018**).

IV.II.8. Vitamine C

La vitamine C, acide ascorbique et acide déhydroascorbique, est un micronutriment qui n'est pas synthétisé par l'organisme humain. Il doit être apporté par les aliments (fruits et légumes). Il a un rôle antioxydant multiple : il inhibe le brunissement enzymatique, protège contre l'oxydation, comme il est connu pour ses effets anti radicalaires et réducteurs des métaux de transition (**Hollman et al. ,2010**).

IV.III.Généralité sur le clou de girofle

IV.III.1.Définition

Le girofle ou giroflier est un arbre originaire des Iles Moluques dans l'archipel indonésien. Les clous sont en fait des boutons de fleurs. De couleur verte puis rouge une fois mûrs, les clous se parent de leur jolie couleur brune lors de la phase de séchage, qui se déroule à l'air libre pendant un mois (**Chagra, 2019**). Le giroflier c'est un arbre de la famille des Myrtacées, les boutons floraux sont récoltés une à deux fois par an, avant l'épanouissement, lorsque les sépales deviennent rouge vif, on les sèche au soleil jusqu'à obtenir une coloration brune. Les boutons floraux des clous de girofle se trouvent sous forme séchée. On observe sur le bouton floral quatre sépales épais et les quatre pétales imbriqués enfermant les étamines, le pied contient les ovaires et des poches sécrétrices d'huile essentielle.



Figur14 : Clous de girofle (Amrani, 2018).

IV.III.2.Description botanique

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut (figure15) Il présente un port érigé et pyramidal .Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plusclair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médianmarquée et parsemées de glandes sur le revers



Figure15 : arbre de Giroflier de Madagascar

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (**figure 16**) de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (**figure 17**) .Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants((Chagra,2019).



Figure16 : Structure du Giroflier**Figure 17** : Fleur de giroflier (Amrani, 2018).
(Amrani, 2018).

Généralité sur l'orange et le clou de girofle

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisés pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles (**Chagra, 2019**).

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (Lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun-rouge. Boutons floraux appelés « clous ». Les racines, les rameaux, les feuilles, les fleurs et les fruits contiennent tous une HE dont la composition diffère. Par exemple l'HE des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur (**Chagra, 2019**).

IV.III.3. Répartition géographique :

Originaire de Madagascar, la Réunion, les Antilles, le giroflier est également cultivé en Indonésie et en Tanzanie. Les clous de girofle américains sont réputés être de qualité inférieure à cause de leur plus faible teneur en huile essentielle.

La superficie couverte par les girofliers à Madagascar s'élève à environ 37 000 hectares, superficie variant sensiblement d'une année à l'autre. Les tonnes produites et la superficie couverte par les girofliers dans chaque zone productrice sont résumées dans la figure ci-dessous. (**Atmani et Baira, 2015**).

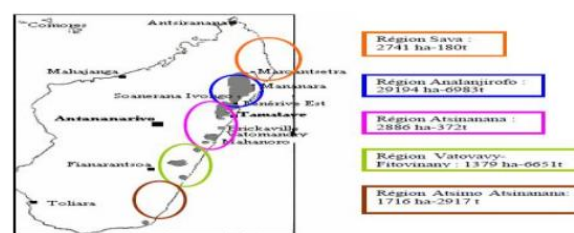


Figure 18 : Aire de culture de giroflier à Madagascar

Superficie et production des zones productrices (**Atmani et Baira, 2015**).

IV.III.4.Classification

Tableau 04 : Situation botanique de l'espèce *Syzygiumaromaticum*(**Abdelkader et Bouchakour, 2018**).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne :	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta (= phanérogames)</i>
Sous-embranchement :	<i>Magnoliophytina (= angiospermes)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (= dicotylédones)</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Espèce	<i>Syzygium. aromaticum</i>

Nom binomiale : *Syzygiumaromaticum*(**Amrani, 2018**).

IV.III.4.Culture et Production

IV.III.4.1.Culture

Le giroflier est surtout cultivé pour ses "clous" qui servent d'aromates dans l'alimentation d'un grand nombre du pays. On cultive également le giroflier pour ses feuilles dont on extrait une essence très riche en eugénol. Accessoirement, on utilise les fruits de giroflier ou antofles pour la confiserie. L'eugénol sert à fabriquer la vanilline artificielle. Les essences de clous, de griffes, défeuilles, de branches et d'antofles servent également en pharmacie pour la préparation de divers médicaments, en parfumerie, en savonnerie, pour la préparation de pâtes dentifrices pour la préparation de certaines peintures et vernis, en chirurgie (propriétés bactéricides et anesthésiant), en droguerie (**Atmani et Baira, 2015**).

IV.III.4.2.Production

D'après une revue marocaine le clou de girofle est fabriqué de manière artificielle dans les autres pays que celui où il a été découvert ou d'où il est originaire l'Indonésie, îles Moluques.

Généralité sur l'orange et le clou de girofle

Zanzibar assure aujourd'hui la plus grande partie de la production mondiale du Clou de Girofle après l'Indonésie où il a été découvert pour la première fois (**Tableau 6**)

Tableau 05 : production de clou de girofle en tonne dans le monde (**Amrani, 2018**).

Chiffres de 2003-2004		
Indonesie	87909	68,2%
Madagascar	20000	15,5%
Tanzanie	12500	9,7%
Sri Lanka	4100	3,2%
Comores	3013	2,3%
Autres pays	1370	1,1%
Total	128892	100%

IV.III.5.Utilisation de clou de girofle

IV.III.5.1.Domainses médicinales

Les boutons floraux du giroflier possèdent des propriétés antiseptiques et anesthésiques qui sont reconnues depuis très longtemps et proposées dans les douleurs dentaires. Il entre dans la composition du khôl, primitivement onguent ophtalmique. Le clou de girofle est un anti-inflammatoire et antibactérien, il est utile pour lutter contre beaucoup d'infections urinaires, digestives et cutanées (**chagra, 2018**).

IV.III.5.2.Domainses culinaires

En cuisine, il est présent dans le pain d'épices, les biscuits en mélange avec la cannelle, le pot-au-feu, les marinades, la choucroute et il est indispensable à la plupart des currys, comme il est utilisé en infusion avec le thé. (**Abdelkader et Bouchakour, 2018**).

IV.III.5.3.Domainses cosmétiques

Il sert de parfum d'ambiance sous forme de « pomme d'ambre » que l'on fabrique en piquant toute la surface d'une orange de clous de girofle odeur de clou de girofle, comme l'eugénol, qui est un phénol (**Chagra, 2018**).

IV.III.6.Toxicologie

Un surdosage de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* peut entraîner des troubles gastro-intestinaux légers, tels que des vomissements, des nausées ou des diarrhées. L'huile essentielle de Clou de Girofle est en effet démoistrique et irritante pour les voies

respiratoires ce qui oblige à la diluer pour l'appliquer sur la peau. Il faut l'utiliser sur de courtes durées et avec l'avis du médecin. Elle ne peut être utilisée avec des médicaments anticoagulants. Attention enfin, elle contient plus de 80% d'eugénol, un composant allergène. Les personnes hypertendues doivent l'utiliser avec la plus grande prudence car elle peut augmenter la tension artérielle. La dose létale est estimée à 2 à 5g/kg. Chez un enfant de 20kg, un flacon de 10ml peut déjà entraîner de sérieuses lésions. (**Abdelkader et Bouchakour, 2018**).

I : MATERIEL ET METHODES

Objectif de l'étude :

L'objectif de notre travail est d'une part, l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (l'orange et le clou de girofle) sur les moisissures du blé stocké d'une part. D'autre part la comparaison entre l'efficacité de ces deux huiles.

I.1 Matériel

I.1.1.Présentation de la zone d'étude :

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau de deux(02) laboratoires, la partie concernant l'extraction des huiles essentielles s'est déroulée au niveau du laboratoire pédagogique de Phytochimie de la Faculté SNV de l'Université Chadli Bendjedji El Taref pendant la période allant du 23/03/2021 au 25/04/2021.

La partie concernant l'essai de l'activité antifongique des huiles essentielles sur les moisissures du blé, a été réalisée au niveau du laboratoire de mycologie de la Station Régionale de la protection des végétaux (SRPV) cette dernière et sous la tutelle de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV). Elle se situe à El Kous, commune d'El Chatt, Daira de Ben M'hidi wilaya d'El Taref.

I.1.2- Matériel biologique.

I.1.2.1- Matériel végétal

L'étude a porté sur deux (02) plantes largement connues à l'échelle mondiale et locale : l'orange (*Citussinensis*) et le clou de girofle (*Syzygiumaromaticum*).

- La première plante a concerné le fruit de l'orange douce. Cette dernière a été achetée au niveau du marché des fruits et légumes de la commune de BOUHADJAR durant les mois de Janvier, Février et Mars. Les fruits ont été soigneusement lavés et épluchés. Les écorces ont été récupérées puis coupées en petits morceaux et séchées à l'air libre pendant quelques jours à température ambiante avant d'être broyées (**figure19**).



Figure 19 : Zeste d'orange séché (Bouhali, 2015).

- Les tests ont porté également sur les boutons floraux des clous de girofle acheté également au niveau du marché de la même commune. Le clou de girofle se trouve sur le marché tout au long de l'année, pour son importance majeure et son usage quotidien dans la cuisine Algérienne ou en médecine traditionnelle (**Figure20 (Amrani, 2018)**). Les clous de girofles ont été broyés dans un moulin à café électrique avant d'être utilisés.



Figure 20 : Clou de girofle (Chagra, 2019).

I.1.2.2. Matériel fongique

La souche fongique est choisie dans cette étude sur la base de son implication fréquente dans la contamination des racines et du collet du blé dans la région d'El Tarf.

La souche testée est : *Fusariumoxysporum*. Elle nous a été fournie par l'équipe du laboratoire de Mycologie de l'INPV. Ces derniers l'ont isolée et purifiée à partir des racines de blé dur (**figure 21**).

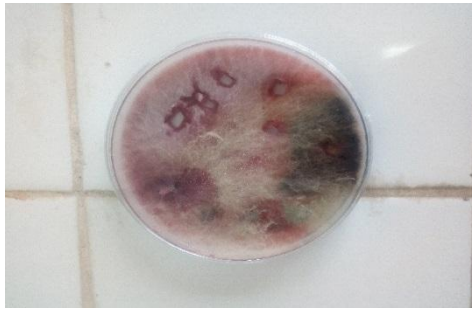


Figure21 : La souche fongique (*Fusariumoxysporum*) (Merzougui, 2021)

I.1.2.3. Milieu de culture

Pour évaluer l'activité antifongique, nous avons utilisé le milieu de culture « Sabouraud ». Ce dernier nous a été fourni par la responsable des laboratoires pédagogique de la faculté SNV- Université Chadli Bendjedid El Tarf.

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction des huiles essentielles des deux plantes (l'orange et le clou de girofle)

L'extraction des huiles essentielle des zestes d'orange et du clou de girofle a été réalisée à l'aide d'un hydro-distillateur de type Clevenger. Il s'agit d'une hydrodistillation des parties aériennes effectuée par entrainement à la vapeur d'eau (**Figure 22**).



Figure22 :Hydrodistillateur (Douakha, F., et Hamdaoui., 2017).



(A)

(B)

Figure 23 : Distillation à la vapeur d'eau (A) zeste d'orange (B) le clou de girofle (Merzougui, 2021).

I.2.1.1. Préparation de l'extrait

L'extraction des huiles essentielles du zeste d'orange et des clous de girofle est effectuée au niveau de notre laboratoire selon les normes AFNOR. Ainsi, 300 gr de matière végétale préparée ultérieurement, sont introduits dans un ballon rempli avec 700gr d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant, se condensent puis elles sont récupérées dans une Ampoule à décanter. L'eau aromatique et l'huile essentielle se séparent par différence de densité. L'huile essentielle est récupérée du haut de l'essencier à l'aide d'une micropipette, puis stockée à 4°C dans des tubes à eppendorf fermées hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température, qui sont les principaux agents de dégradation. Une huile altérée perd son activité biologique.

Durant la distillation, la vapeur d'eau s'imprègne de toutes les propriétés de la plante. Cette vapeur retourne ensuite à l'état liquide et donne l'hydrolat. Il s'agit donc d'un sous-produit de l'extraction de l'huile essentielle. Et tout comme cette dernière, l'hydrolat cumule toutes les vertus de la plante dont elle est extraite.

Pour l'extraction des huiles essentielles d'orange, éplucher les oranges et couper le zeste en petits morceaux pour que l'hydro distillation soit plus efficace, donc les huiles essentielles est majoritairement contenue dans le zeste d'orange, ensuite broyer les zestes d'orange dans un robot. Tarer la balance avant de procéder à la pesée des zestes, nous allons introduire 100g de zeste d'orange dans le ballon. Ajouter de l'eau

dans le ballon. Puit réaliser le montage d'hydrodistillation .Nous suivant les mêmes étapes lors de l'extraction de l'huile essentielle de clou de girofle.

I.2.1.2. Conservation des huiles essentielles obtenues

L'huile essentielle surnageant à la surface, a été recueillie puis conservée au réfrigérateur à 4°C dans les tubes à eppendorf enveloppée fermées au papier aluminium pour la préserver de la chaleur en attendant son utilisation.

I.2.1.3-Détermination du rendement

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

I.2.2. Préparation de la moisissure

I.2.2.1. Isolement du *Fusarium*

L'isolement du moisissure a été réalisé par l'équipe du laboratoire de phytopathologie de l'SRPV d'El Kous (commune d'El Chatt) selon la technique universel PDA : les racines des plants sont préalablement désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2 pendant une minute suivi d'un rinçage abondant à l'eau distillée stérile (3 fois) afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de sodium. Elles sont ensuite séchées à l'aide de papier filtre stérile.

I.2.2.2 Isolement du champignon sur le milieu Sabouraud

Les échantillons présentant les symptômes de la maladie sont découpés, ensuite désinfectés dans l'hypochlorite de sodium dilué à 2% pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage dans trois (3) bains successifs d'eau distillée stérile pendant cinq (05)

minutes chacun, puis sont séchés entre deux feuilles de papier stérile (**Zehharet al ., 2006**). Les échantillons sont ensuite déposés dans les boîtes de pétri contenant le milieu Sabouraud à raison de cinq (5) fragments par boîte, les boîtes sont incubées dans l'étuve bactériologique à une température de 22°C pendant 7 à 10 jours. La composition ainsi que la technique de la préparation du milieu Sabouraud figurent dans l'annexe I. Sa composition sert à l'isolement des moisissures à l'entretien des souches et à la culture d'espèces dont ils favorisent la croissance mycélienne.

I.2.2.3. Purification de l'agent pathogène

A partir des cultures âgées de sept (07) jours de *Fusarium*, une suspension de spore est préparée dans les tubes contenant de l'eau distillée stérile, ensuite une goutte de chaque suspension est alors prélevée et étalée de manière uniforme sur les boîtes de pétri, les boîtes sont ensuite incubées à la température ambiante du laboratoire. Après 48h, un prélèvement de filament mycélien est effectué sous une loupe binoculaire, et repiqué sur les boîtes contenant le milieu Sabouraud. Les boîtes sont mises en incubation pendant 7 jours à la température ambiante du laboratoire (22°C) sous lumière continue. Les isolats obtenus sont purifiés par un repiquage successif, qui consiste à transférer aseptiquement le microorganisme sur un milieu stérile pour l'isoler ou le maintenir en culture pure. Il convient de prélever avec une anse stérile pour quelques spores ou un fragment mycélien et le transférer dans un milieu neuf (**Guellal et Aouadi, 2019**)(Figure 24).

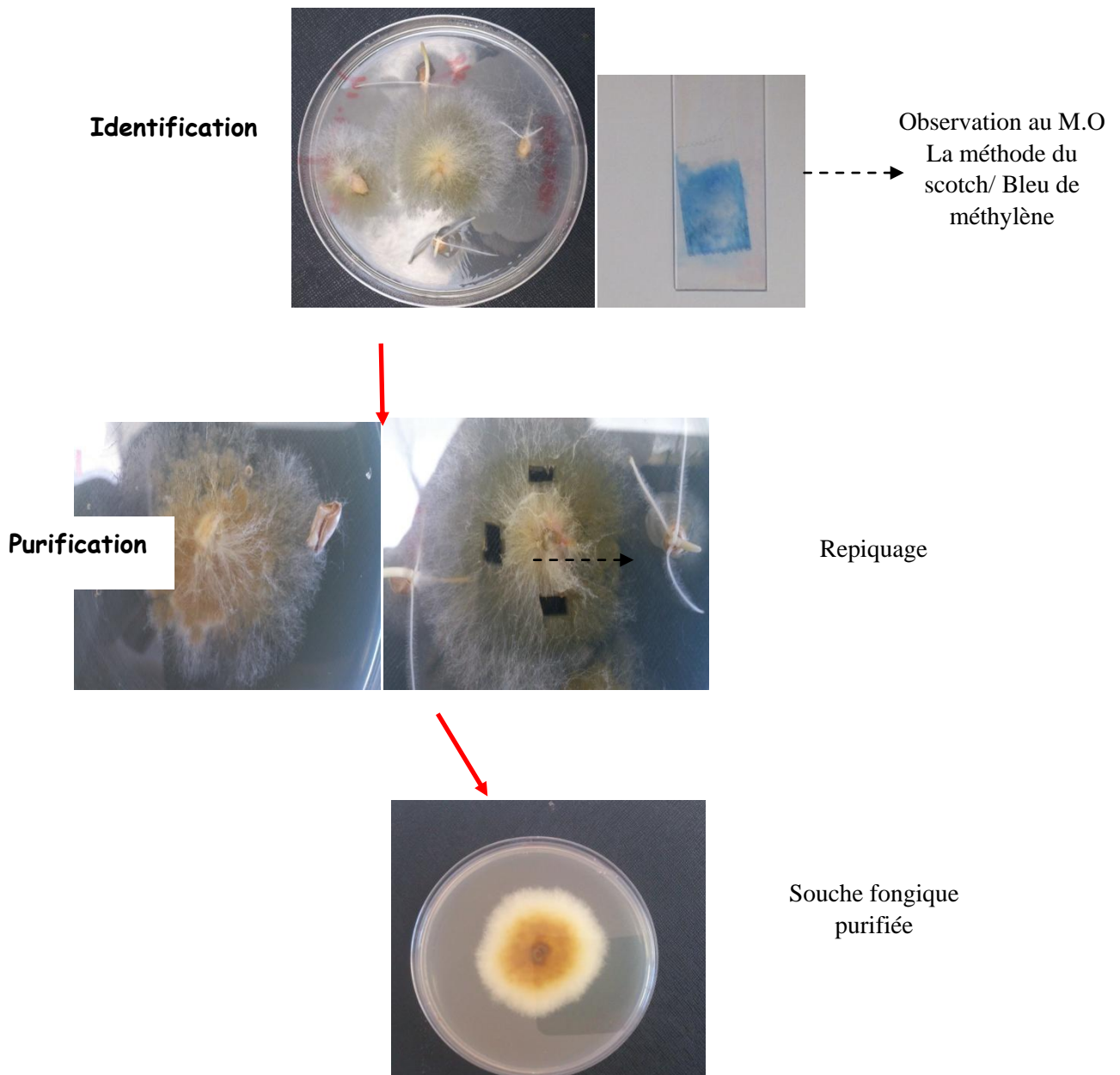


Figure 24 : Différentes étapes adoptées pour l'isolement et la purification de la souche fongique du *Fusarium oxysporum* (SRPV, 2017).

I.2.3. Tests de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle

I.2.3.1. La méthode de diffusion par puits

La méthode des puits est la technique choisie pour déterminer l'activité antifongique des huiles essentielles à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des

huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieure d'une boîte de pétri (**Figure 25,26**)

Le protocole de ce test consiste d'abord à creuser 4 puits équidistants dans la gélose à une distance de 3cm du disque mycélien déposé au centre la boîte. Ce disque est prélevé à l'aide d'une pipette de pasteur d'une culture de moisissure âgée d'un mois par la suite. Par la suite, 50µl d'huile essentielle est déposé au niveau de chacun des puits alors que pour la boîte du témoin ,le puits est rempli par l'eau distillée stérile .Trois répétitions (3 boîtes de pétri) par traitement sont mises en incubation à 25 °C pour une période de 10 jours . Dans les boîtes témoins on met de l'eau distillée dans les 4puits équidistants à la place de l'huile essentielle.La lecture de la croissance mycélienne du *Fusariumoxysporum* sur boîte de pétri se fait tous les 2 jours.



Figure25 : Préparation des boîtes de pétri (Merzougui, 2021).



Figure26 : Tests fongiques par la méthode de puits (Merzougui, 2021).

I.2.3.2.La méthode de diffusion par confrontation à distance

La suspension sporale consiste à prélever à l'aide d'une anse de platine stérile, des spores à des cultures de *Fusarium* sur milieu de Sabouraud des boites de pétri, en ajoutant 5ml de solution stérile d'eau physiologique dans un tube à essai. Le mélange est ensuite agité à l'aide d'un vortex afin de libérer les spores des conidiophores et l'obtention de suspension sporale fongique. Le test par diffusion à distance consiste à étaler 300µl de la suspension sporale de chaque isolat de la moisissure dans une boite de pétri, puis à pulvériser 200µl de l'huile essentielle sur le papier filtre collé au niveau du couvercle. Trois répétitions (3boites de pétri) par traitement sont mises en partir incubation à 27°C pendant 10 jours.

Dans les boites témoins on pulvérise de l'eau distillé au niveau du couvercle à la place de l'huile essentielle.

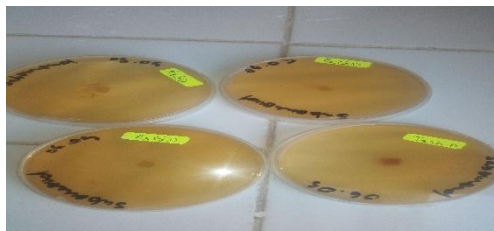


Figure 27 : Teste fongique par la méthode à distance (Merzougui ,2021)

I .2.3.3.La méthode de diffusion par dilution de mélange

Cette technique consiste par l'ajout de 200µl des huiles essentielles au milieu de Sabouraud liquide à l'aide d'une pipette Pasteur, puis mélanger bien le mélange jusqu'à ce qu'il devienne un mélange homogène au niveau des trois répétitions (3 boites de pétri). Par la suite on procède au mélange de l'huile essentielle de l'orange et de clou de girofle avec le milieu Sabouraud liquide, on laisse 25 minutes pour que ce dernier devienne une gélose, puis on place les différentes boites dans un autoclave à 27°C pendant 10 jours .Dans les boites de pétri témoins, on pulvérise de l'eau distillé avec le Sabouraud liquide. Lestrois méthodes ont été réalisées le même jour soit le05/05/2021.

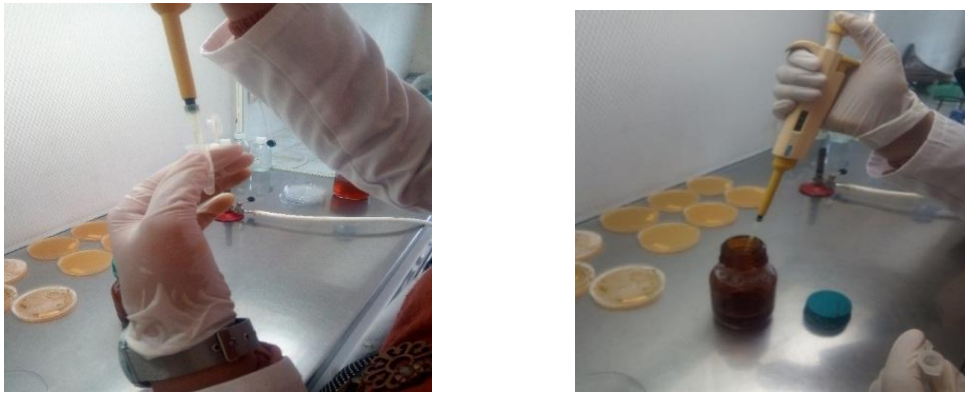


Figure 28 : Tests fongiques par la méthode du mélange huiles essentielles –milieu Sabouraud(Merzougui, 2021).

I.3. Paramètres étudiés

I.3.1. Identification de la souche fongique

I .3.1.1.Caractères macroscopiques

L'analyse des boites s'effectue à l'œil nu se basant sur les caractères morphologiques des colonies, on note la couleur, la forme de la colonie (régulière irrégulière, dentelée, filamenteuse).

1.3.1.2. Caractères microscopiques

L'analyse des boites s'effectue à l'aide de microscope. Elle consiste à observer sous microscope :

- Les organes de reproduction.
- L'aspect et la taille.
- Type de spores et leur disposition.

I.3 .2.Evaluation de la croissance mycélienne moyenne

Ce paramètre consiste à estimer de la croissance mycélienne du *Fusarium*. La lecture se fait chaque jour en mesurant le diamètre dans la colonie mycélienne des moisissures, elle est comparée avec elle de témoin, qui a démarré dans les mêmes conditions et le même jour du test. Selon **Guellal et Moulai Aouadi(2019)**, toute pousse même légère de moisissure sera considérée comme action négative c'est à dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique.

Pour les trois méthodes d'application de l'huile, huit lectures ont été réalisées au date « 3, 4, 5, 6,7, 8, 9,10 » jours après l'application du traitement.

I.3.3. Taux d'inhibition(T %)

Le principe de ce paramètre consiste à déterminer le taux d'inhibition de la croissance du mycélium par rapport au témoin selon la formule suivante (**Bennouaer, 2016**).

$$TI(\%) = 100x (dC-dE) /dC$$

TI(%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

dC : Diamètre de colonies dans les boîtes témoins.

dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'huile.

I.3.4. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

La vitesse de croissance mycélienne consiste à mesurer le diamètre de la colonie, elle est déterminée par la formule suivant :(**Bennouaer ,2016**)

$$VC = [D1/Te1] + [(D2-D1)/Te2] + [(D3-D2)/Te3] + \dots + [(Dn-Dn-1)/Ten]$$

D : diamètre de la zone de croissance de champignon.

T : le temps d'incubation.

I.4. Traitement statistique

Les moyennes plus moins l'écart type des trois essais ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par le logiciel EXCEL.

II.1 Résultats et Discussion

II.1.1. caractéristiques organoleptique de l'huile essentielle

Le tableau 06 suivant récapitule les principales caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur et odeur) des deux huiles essentielles à savoir du zeste d'orange douce (*Citussinensis*) et celui des clous de girofle(*Syzygiumaromaticum*).

Tableau06 : les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'orange et de clou de girofle

Origine d'huile essentielle	Couleur	Odeur	Aspect
L'orange	Jaune très pale a transparent	Légèrement acidulée	Liquide, limpide, mobile
Clou de girofle	Jaune clair	Epicée	Liquide, limpide, mobile

Les résultats du tableau 06 nous montre que l'huile essentielle de *Citrus sinensis* présente un aspect liquide visqueux, limpide et jaune très pâle à transparent caractérisé par une odeur fraîche, acidulée et aromatique. , ces constatations confirment ceux de (Bouhali, 2015) ainsi que ceux de (Benabdi et Otmani ,2019). Ils sont également conformes aux normes décrites par les normes décrites par l'AFNOR (Anonyme, 2006 in Bouhali , 2015).

Le clou de girofle *Syzygiumaromaticuma* donné une huile jaune claire, liquide mobile et limpide d'une odeur épicée. Ces résultats confirment ceux de (Banouh et Azzouz ,2019). Ces auteurs rapportent que ces résultats sont identiques à celles décrites par les normes d'AFN.

II.1.2.Rendement en huile essentielle

Les résultats de ce paramètre figurent dans le tableau 07et figure29

Résultats et discussion

Tableau 07 : le rendement des huiles essentielles d'orange et de clou de girofle

Espèces	Quantité de la biomasse en(g)	Quantité d'huile essentielle en(g)	Rendement(%)
L'orange	300	04	1,33%
Clou de girofle	300	09	3%

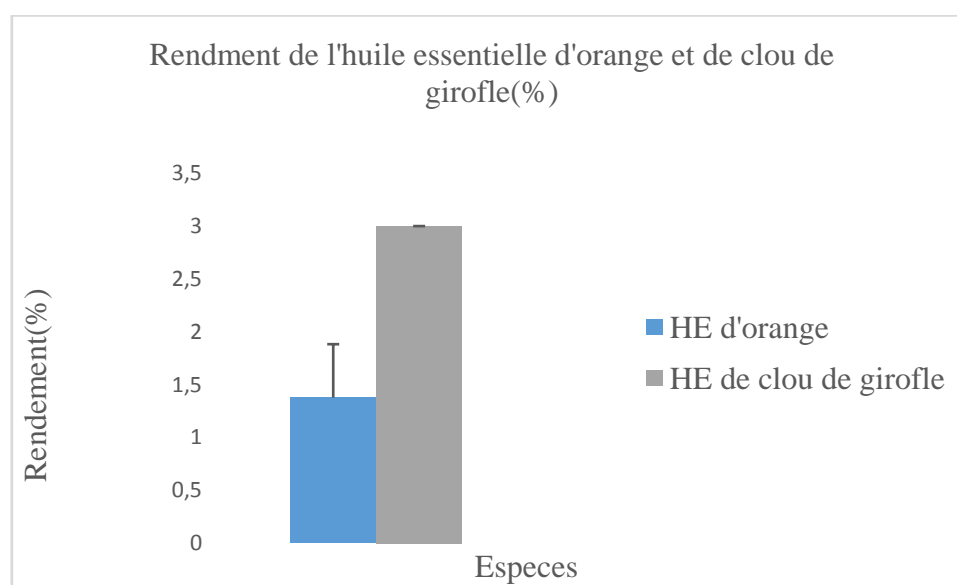


Figure 29 : Rendement de l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle.

Les résultats de ce paramètre montrent un rendement de 1,33% pour le zeste de l'orange. Ce dernier est légèrement supérieur à celui de (Bouhali ,2015) et qui est de 0.39%, et ceux de (Hamdani, 2018) (0.17 ; 0.26 ; 0.48 ; 0.54 et 0.82) dans les régions de Remchi, Sekkak, Maghnia, Beni ghenam et Beni-saf.

Le Clou de girofle a donné un rendement de 3%. Ce dernier est considéré comme faible comparativement à celui de (Adli ,2015) qui est de 10,6%. Les mêmes résultats que les notre ont été obtenus par (Banouh et Azzouz ,2019). Qui, selon elle cette faiblesse est probablement due à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat. On peut dire qu'en termes de quantité, malgré que ce pourcentage semble inférieur par rapport aux normes AFNOR, ce rendement reste dans la pratique satisfaisant pour mener bien à une telle étude.

Selon (Arabet *al.* 2014), les rendements en huiles essentielles des plantes semblent dépendre de la nature des parties de plantes utilisées, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante et la période de récolte.

II.1.3- L'identification de l'isolat fongique

II.1.3.1 -Aspects macroscopiques

La souche fongique qui a été prise au niveau du collet de blé est représentée dans la (Figure 30). Nous avons remarqué que sur milieu Sabouraud la croissance de la souche est rapide allant de 7 à 8 jours et se traduit par la production d'un mycélium dense et aérien.

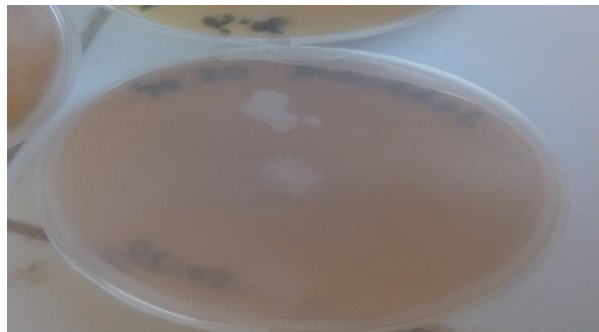


Figure 30 : Aspect des colonies de *Fusariumoxysporum* sur le milieu de culture Sabouraud après 7 jours d'incubation à 25°C. (Croissance de la souche fongique) (Merzougui, 2021).

II.1.3.2.Aspects microscopique

La figure 30 nous montre que les micros conidies sont absentes. Sous le microscope, les macroconidies paraissent étroites, fusiformes et sont divisées en 6 à7 loges très caractéristique du genre *Fusarium*. Elles sont peu incurvées sur leur face ventrale et peuvent avoir une extrémité terminale arrondie. Courbées au sommet.

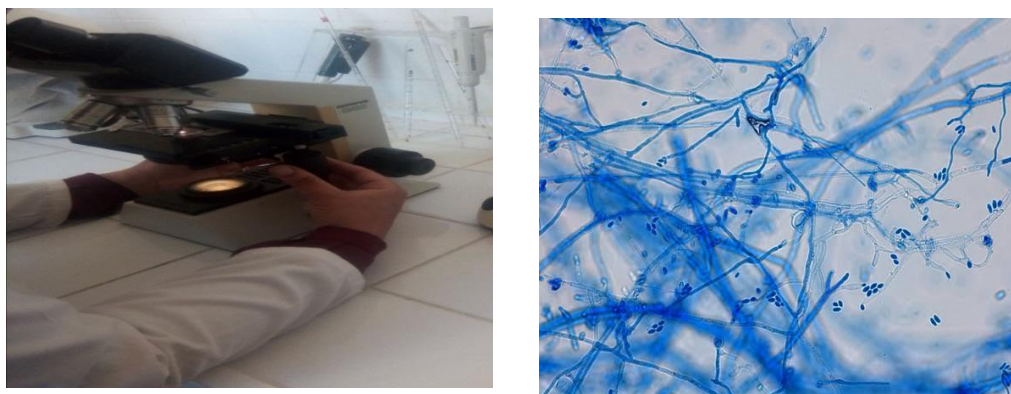


Figure 31 : Aspect microscopique de *Fusarium oxysporum* (SRPV, 2021)

II.1.4. Activité antifongique des huiles essentielles de l'orange et du clou de girofle in vitro sur milieu gélosé

II.1.4. Effet des deux huiles sur la croissance mycélienne moyenne

II.1.4.1. Méthode de diffusion par puits

Les résultats de ce paramètre sont présentés dans les tableaux 08 et 09, et les figures 32 et 33

Tableau 08 : Effet de l'huile essentielle de l'orange (*Citrus sinensis*) sur la (croissance

	Témoins	Sd	Traités	Sd
3eme jour	1,7	0	0,1	0,1
4eme jour	2,4	0	0,45	0,3
5eme jour	2,5	0	0,73	0,4
9eme jour	4,3	0	4,2	0,51

Résultats et discussion

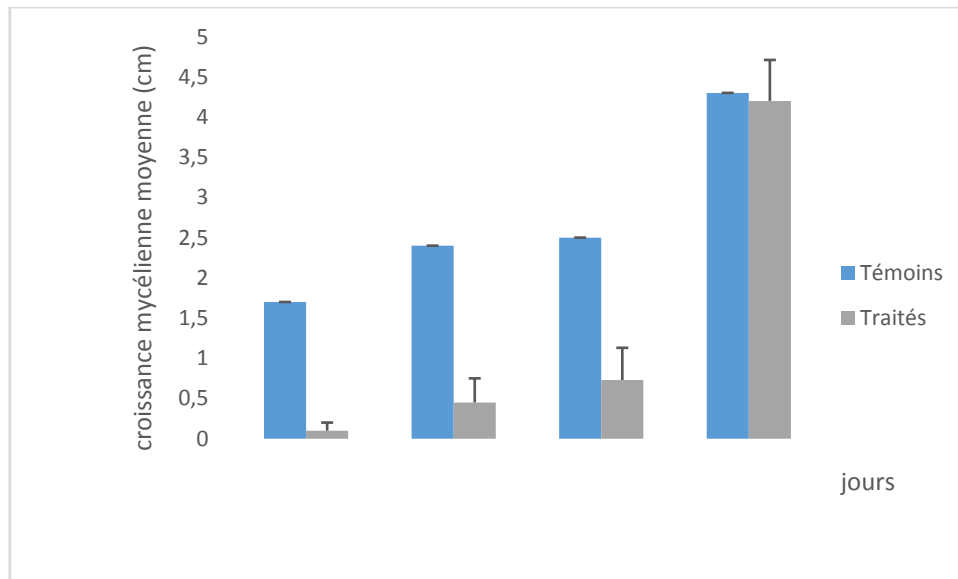


Figure32 : Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm /jours) (diffusion par puits).

Tableau09 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm).

	Témoins	Sd	Traités	Sd
3eme jour	1,7	0	0	0
4eme jour	2,3	0	0	0
5eme jour	2,6	0	0	0
9eme jour	4,5	0	0	0

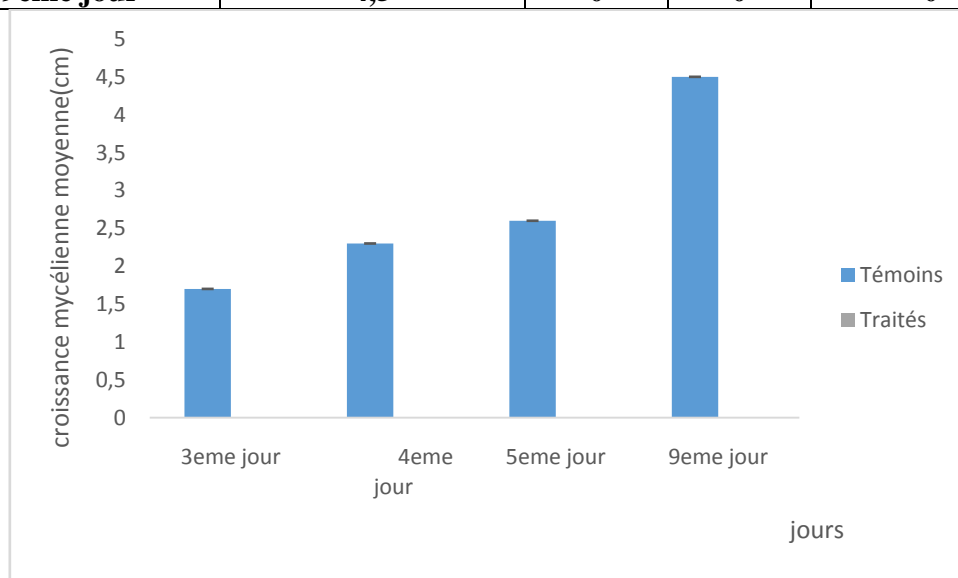


Figure 33 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sure la croissance mycélienne moyen (cm /jour) (diffusion par puit).

Résultats et discussion

Les différents résultats nous montrent une différence quant à la réponse du champignon vis à vis des deux traitements. La croissance radiale du champignon est plus importante chez les témoins par rapport aux traités.

L'examen des résultats rapportés sur l'effet de l'huile essentielle de l'orange (tableau 08 et figure 33), montre qu'elle a une très faible activité antifongique vis-à-vis du *Fusarium*. Où la croissance du champignon évolue en fonction du temps d'incubation elle progresse lentement pendant les premiers jours (3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème}) pour atteindre approximativement la taille du témoin au 9^{ème} jour, elles sont presque égales (4.2 contre 4.3).

Les résultats de l'huile essentielle du clou de girofle montrent que cette dernière est très efficace. Durant toute la période de l'essai, aucune croissance du champignon n'a été observée dans les boîtes de pétri traitées avec de l'huile.

A partir de ces observations nous pouvons conclure que l'huile essentielle du clou de girofle possède un très grand pouvoir antifongique comparativement à celle de l'orange.

Djeddiet al. (2007), rapportent qu'une souche fongique est considérée comme étant extrêmement sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à ≥ 20 mm. .

.II.1.4.2. Méthode de confrontation par diffusion à distance

Les résultats de ce paramètre sont présentés dans les tableaux 10 et 11 et les figures 34 et 35

Tableau 10 : Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).

	Témoins	Sd	Traités	Sd
3eme jour	1,6	0	0	0
4eme jour	1,8	0	0,1	0,17
5eme jour	2 ,1	0	0,26	0 ,25
9eme jour	4,5	0	4,2	0,51

Résultats et discussion

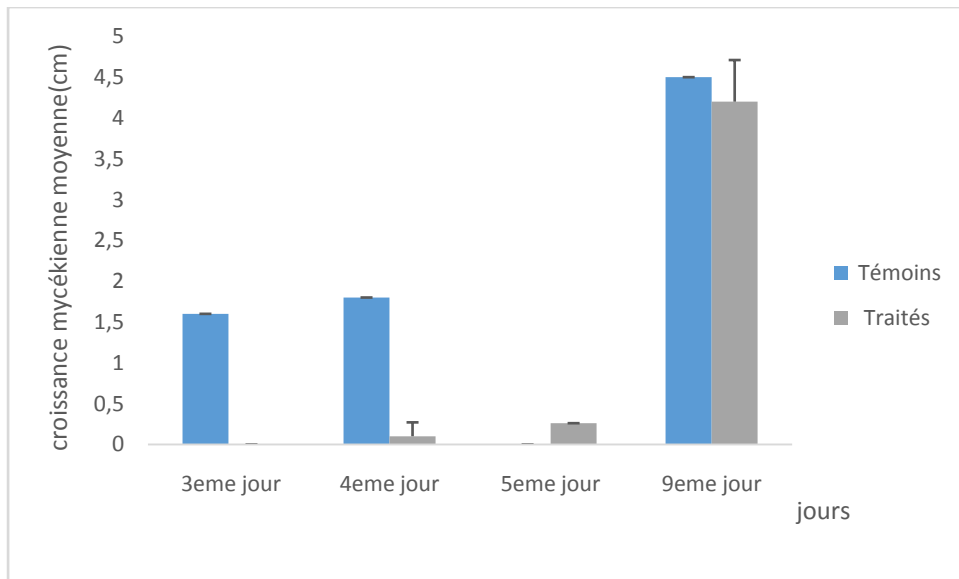


Figure 34 : Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).

Tableau 11 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).

	Témoins	Sd	Traités	Sd
3eme jour	1,8	0	0	0
4eme jour	2	0	0	0
5eme jour	2,4	0	0	0
9eme jour	4,5	0	0	0

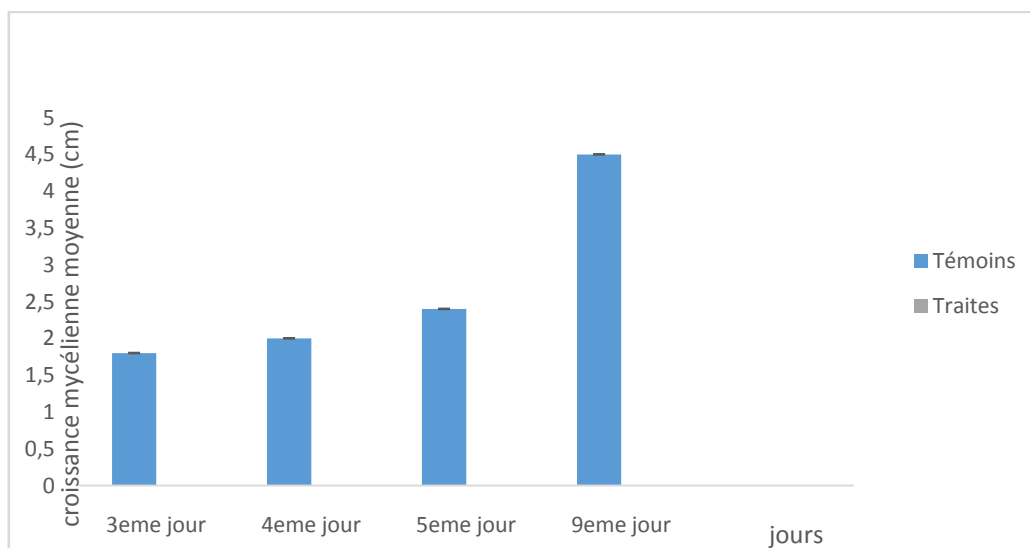


Figure 35: Effet de l'huile essentielle de l'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance).

Il en est de même pour ce paramètre, le développement du champignon est plus important dans les boîtes des témoins pour les deux huiles que dans ceux des boîtes des traités.

Concernant l'huile essentielle d'orange, le champignon commence à se développer à partir du quatrième (4^{ème}) jour (0,1 cm) au 9^{ème} jour cette dernière atteint 4,2 cm.

Pour l'huile essentielle du clou de girofle, les mêmes résultats ont été obtenus lors de la première méthode (puits). La croissance du champignon a été inhibée durant toute la période de l'essai.

(Djeddiet *al*, 2007), rapportent que les espèces, dont les diamètres d'inhibition sont inférieures ou égales à 9 mm, comme la réponse de l'espèce *Fusariumoxysporum* dans notre cas envers l'huile essentielle de l'orange, ne sont pas pris en considération et l'espèce est qualifiée comme étant non sensible ou résistante à l'huile essentielle

II.1.4 .3. Méthode par mélange de l'huile essentielle et le milieu de culture

Les tableaux 12 et 13 et les figures 36,37 présentent les résultats de ce paramètre

Tableau 12 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (dilution par mélange).

	Témoins	Sd	Traités	Sd
6eme jour	1,3	0	0,66	0,55
7eme jour	1,7	0	0,93	0,89
8eme jour	2	0	1,16	1,2
9eme jour	2,5	0	2,33	0,85

Résultats et discussion

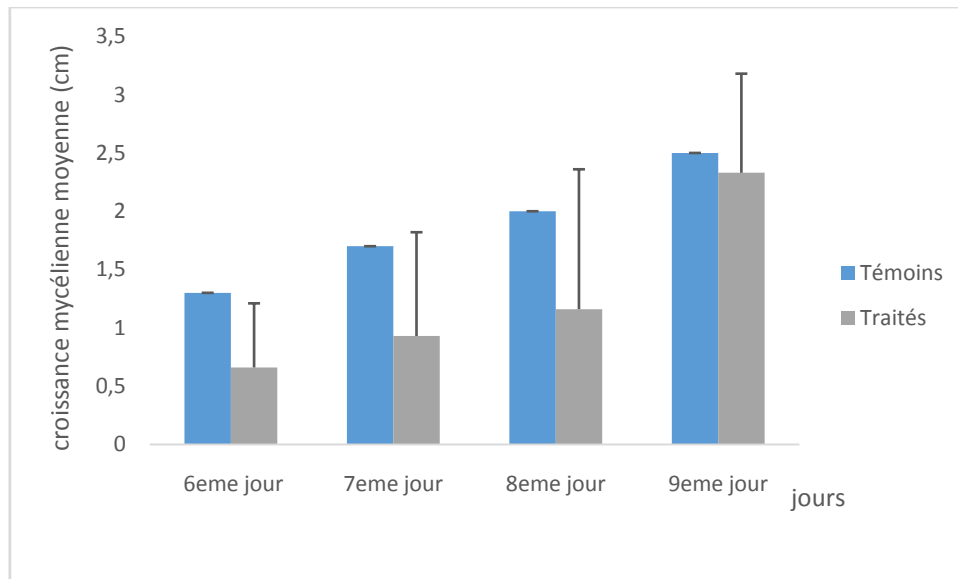


Figure 36 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (dilution de mélange).

Tableau 13 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (dilution par mélange).

	Témoins	Sd	Traités	Sd
6eme jour	1,3	0	0	0
7eme jour	1,7	0	0	0
8eme jour	2	0	0	0
9eme jour	2,5	0	0	0

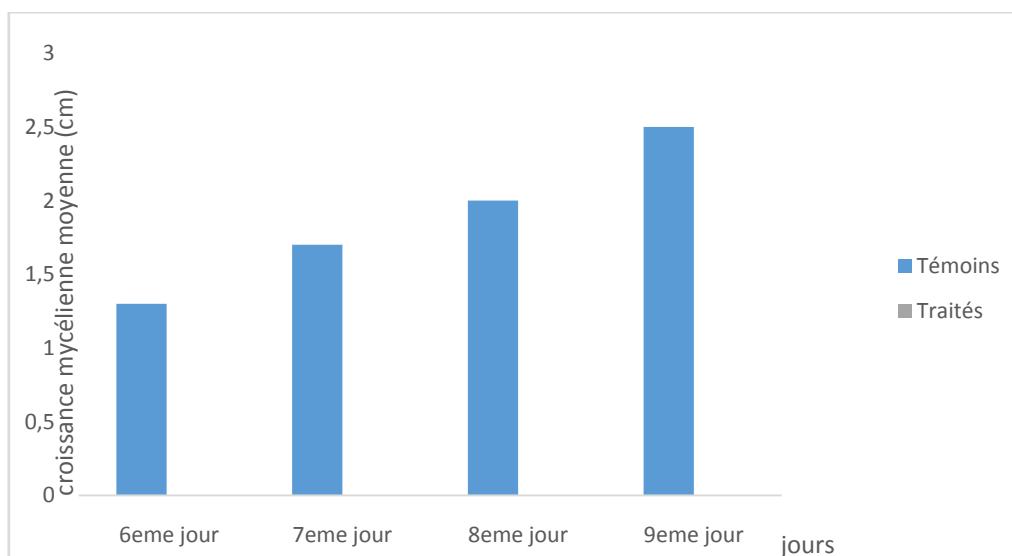


Figure37 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (dilution par mélange).

Résultats et discussion

Les différents résultats (tableaux 12 et 13 et les figures 36,37), nous montrent que pour les témoins des deux traitements, la croissance des champignons augmente avec le temps. Chez les traités à l'huile d'orange, la croissance du champignon commence dès le 6^{ème} jour (0,66cm) pour atteindre les (2,33 cm) le 9^{ème} jour.

Concernant l'huile essentielle du clou de girofle, les résultats de cette méthode, nous ont permis de mettre en évidence l'activité antifongique de cette dernière, le *Fusariumoxysporum* s'est montré plus sensible à cette huile étant donné que sa croissance est inhibée également durant toute la période de l'essai (croissance nulle 0 cm).

Ce choix est également justifié par leur incidence dans l'élaboration de mycotoxines dangereuses pour la santé humaine et animale,

II.1.5 .Effet de l'huile essentielle d'orange et du clou de girofle sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium

Les résultats de ce paramètre sont consignés dans les tableaux 14, 15, les figures 38, 39.

II.1.5 .1 .Méthode de diffusion par puits

Tableau 14 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* par l'huile essentielle d'orange(méthode diffusion par puits).

Les jours d'incubation	Inhibition de la croissance mycélienne(%)
3eme jour	94
4eme jour	80
5eme jour	70
9eme jour	2

Résultats et discussion

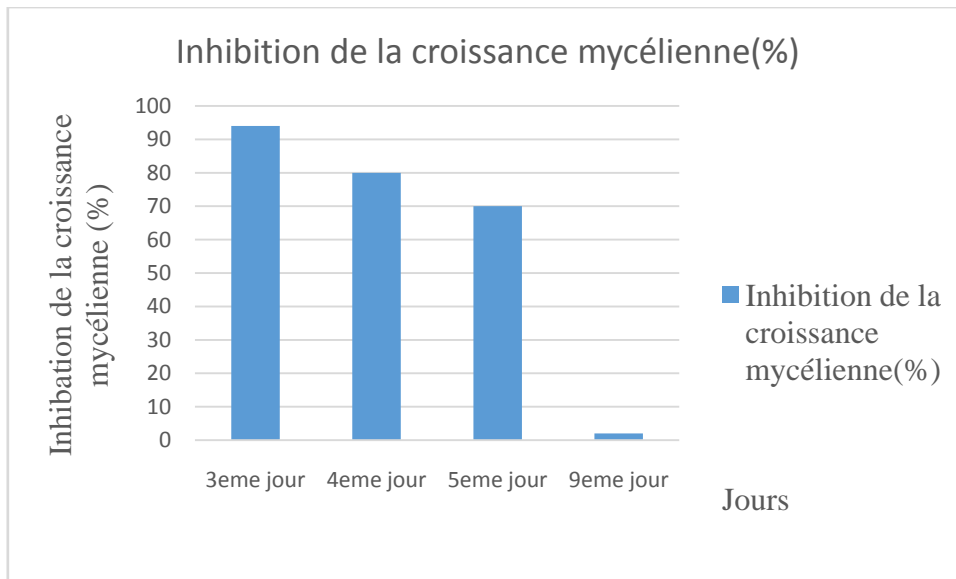


Figure 38 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium*(diffusion par puits), (huile essentielle d'orange).

Tableau 15 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* par l'huile essentielle de clou de girofle (méthode diffusion par puits),

Les jours d'incubation	Inhibition de la croissance mycélienne (%)
3eme jour	100
4eme jour	100
5eme jour	100
9eme jour	100

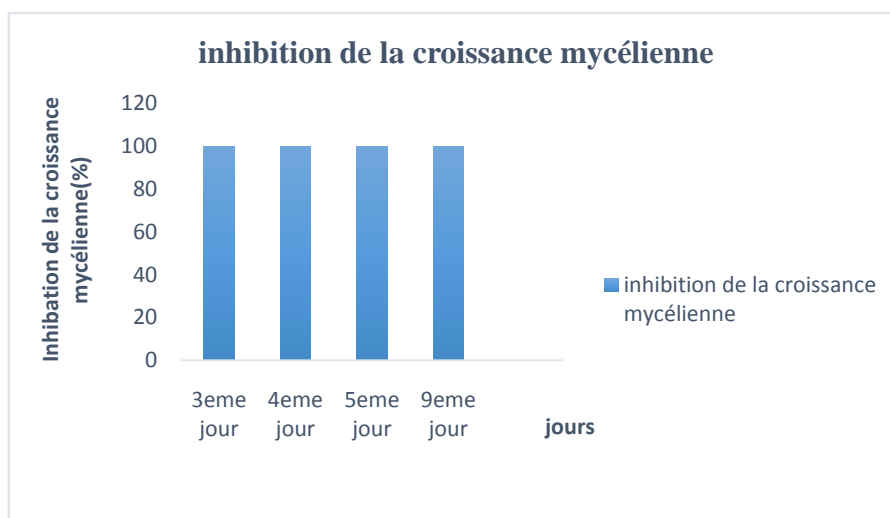


Figure 39 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium*), huile essentielle de clou de girofle (diffusion par puits).

Résultats et discussion

Pour cette méthode, les résultats (tableaux 14, et figure 38) montrent que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'orange diminue en fonction de temps, il est de 94% le 3^{ème} jour, 80% pour le 4^{ème} jour, 70% le 5^{ème} jour et diminue pour atteindre les 2% durant la période restante du traitement (9^{ème} jour). Tandis que celles du lentisque et du cèdre, ont montré une très faible activité antifongique vis-à-vis de ces mêmes moisissures étudiées

Les résultats relatifs à l'huile essentielle du clou de girofle (tableau 15 et figure 39) présente un effet inhibiteur de 100% durant toute la période de l'essai (9^{ème} jour). Il semble que cette huile possède un spectre de toxicité fongique qui cause l'inhibition totale de la croissance du *Fusarium*. Les mêmes résultats ont été rapportés par (Kedia *et al.*, 2015 et Meghazi., 2015), sur l'huile essentielle d'*Ammoidespusilla*. très active sur l'ensemble des moisissures testées sur le blé provoquant l'inhibition totale de la croissance de 19 moisissures d'altération des aliments dont les espèces *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.flavus*, *Penicillium sp* et *Fusarium sp* isolées à partir du blé.

II.1.5.2 : Méthode de diffusion par confrontation à distance

Les résultats de ce paramètre consigné dans les tableaux 16,17 et les figures 40 ,41

Tableau 16 : Pourcentage d'inhibition, de la croissance mycélienne du *Fusarium* par huile essentielle d'orange (méthode diffusion à distance),

Les jours d'incubation	Inhibition de la croissance mycélienne(%)
3 ^{ème} jour	100
4 ^{ème} jour	94
5 ^{ème} jour	87
9 ^{ème} jour	6

Résultats et discussion

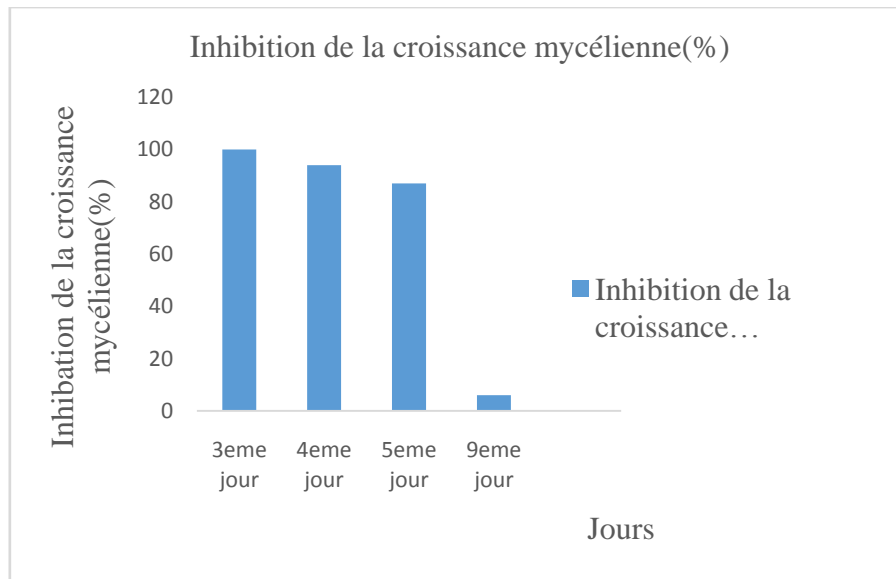


Figure40 : Pourcentage d’inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* (Diffusion à distance), (huile essentielle d’orange).

Tableau 17 : Pourcentage d’inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* par l’huile essentielle de clou de girofle (diffusion à distance)

Les jours d’incubation	Inhibition de la croissance mycélienne(%)
3eme jour	100
4eme jour	100
5eme jour	100
9eme jour	100

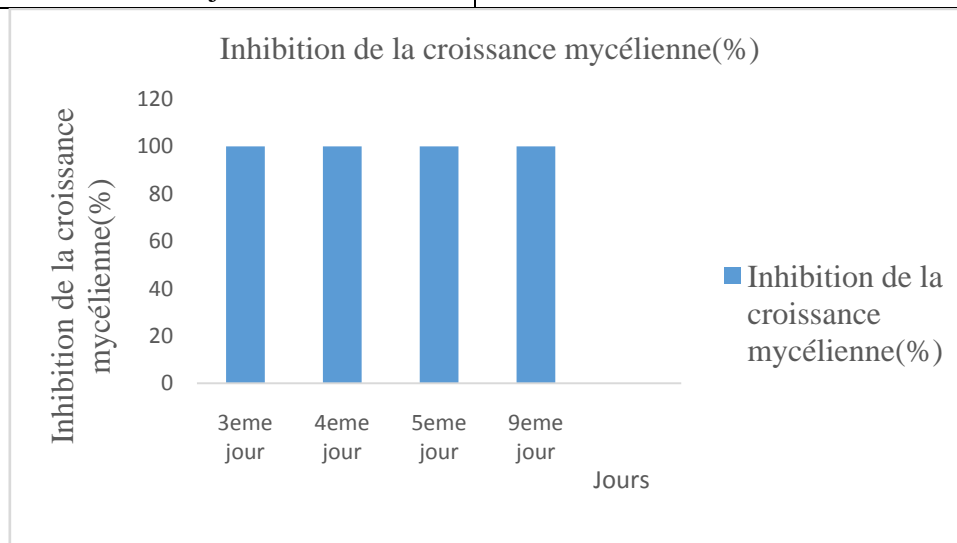


Figure41 : Pourcentage d’inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium*(diffusion à distance), (huile essentielle d’orange).

Pour cette méthode, les résultats montrent que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'orange diminue en fonction de temps, il est de 100% pour le 3ème jour, 94% pour le 4ème jour, 87% pour le 5ème jour pour atteindre les 6% le 9ème jour.

Il en est de même pour cette méthode, les résultats de l'huile essentielle du clou de girofle, montrent un effet inhibiteur total de cette huile. Il est de 100% durant toute la période de l'essai (9ème jour).

II .5.1.3 : Méthode par mélange

Les résultats de ce paramètre sont présentés dans les tableaux 18 et 19 et les figures 42,43.

Tableau 18 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* par huile essentielle d'orange (méthode de dilution ou mélange).

Les jours d'incubation	Inhibition de la croissance mycélienne(%)
6eme jour	49
7eme jour	45
8eme jour	42
9eme jour	6

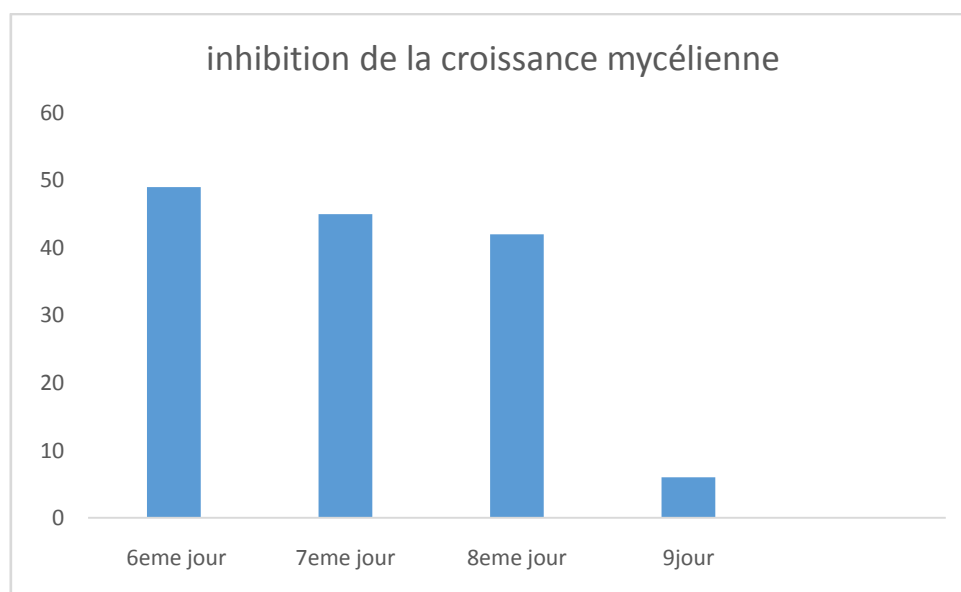


Figure 42 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* (méthode par mélange) (l'huile essentielle d'orange).

Résultats et discussion

Tableau 19 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* par l'huile essentielle de clou de girofle. (Méthode de dilution ou par mélange)

Les jours d'incubation	Inhibition de la croissance mycélienne(%)
6eme jour	100
7eme jour	100
8eme jour	100
9eme jour	100

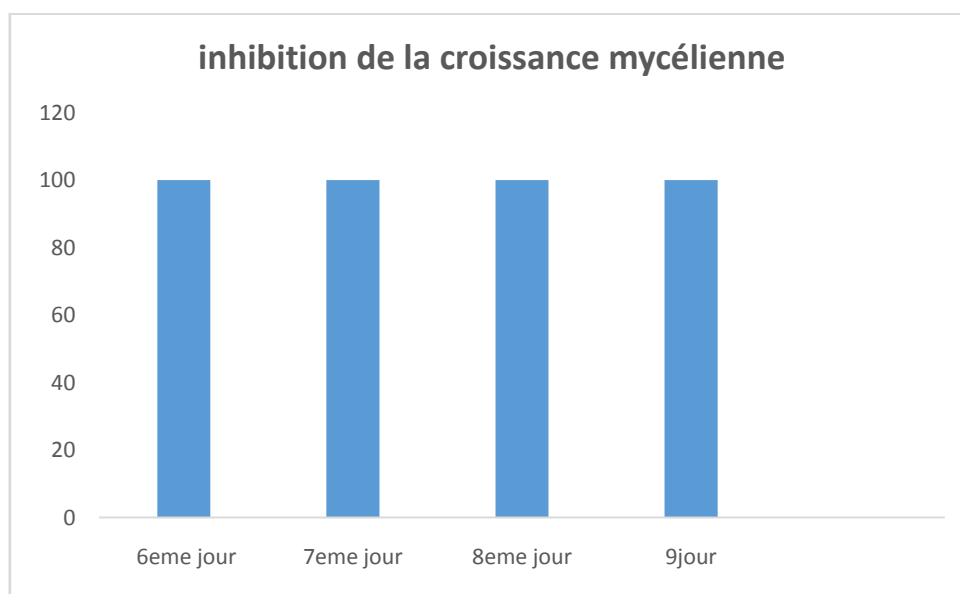


Figure 43 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium*(méthode par mélange) (huile essentielle de clou de girofle).

Pour cette méthode, les résultats montrent que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'orange diminue en fonction du temps, il est de 49% pour le (6^{ème}) jour et 45% (7^{ème}) jour, 42% au (8^{ème}) jour et 6% pour le 9^{ème} jour.

Concernant l'huile essentielle de clou de girofle, son effet inhibiteur est également de 100% pendant toute la durée de l'essai. .

Ces résultats concordent avec ceux de **(Banouh et Azzouz)** qui ont pu démontrer que l'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes. Ceci est identique aux travaux d'Eugénia et ces collaborateurs (2009) sur le *Candida albicans* et d'autres pathogènes

fongiques. D'autres travaux, ont montré que l'HE du clou de girofle, ainsi, l'Eugénole montre une grande activité fongicide contre *Candida albicans*. A la lumière de tous ces travaux et recherches, l'extrait des « clous de girofle » présente un large spectre d'activité antimicrobienne d'où l'importance de cette huile comme étant un conservateur, antiseptique très efficace pour empêcher le développement microbien surtout quand il s'agit de protéger la santé vis-à-vis de la présence des pathogènes.

Concernant l'activité antifongique, l'espèce *Fusariumoxysporum*, se montre très sensible à l'huile essentielle du clou de girofle. De ce fait, cette huile présente un large spectre d'activité antimicrobienne d'où l'importance de cette huile essentielle de l'utiliser comme un conservateur, antiseptique très efficace pour empêcher le développement microbien pour préserver la santé. De ce fait, l'huile essentielle de clou de girofle testée peut être utilisée en tant que un antibactérien et antifongique dans les industries alimentaires, cosmétique et pharmaceutique. La continuité de ce travail s'avère primordial et plusieurs axes de recherche sont ouverts. En perspectives, il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur la plante (clou de girofle). Ainsi que la détermination de l'activité antioxydante par d'autres méthodes et l'étude d'autres méthodes d'activités biologiques attribuées à cette plante. Aussi faire des essais dans le domaine pharmaceutique pour savoir l'utilité de ces huiles essentielles

III .1.6- Effet de l'huile essentielle des écorces d'orange douce (*Citrus sinensis*) et du clou de girofle (*Syzygiumaromaticum*) sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne (VC)

III.1.6.1-Méthode de diffusion par puits

Les tableaux 20,21 et les figures 44,45 présentent les résultats de l'effet de l'huile essentielle d'orange et de clou de girofle sur la vitesse moyenne de croissance du champignon *Fusariumoxysporum* (méthode par puits).

Résultats et discussion

Tableau 20 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance (cm/jour).

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/jour)	0,040	0,023

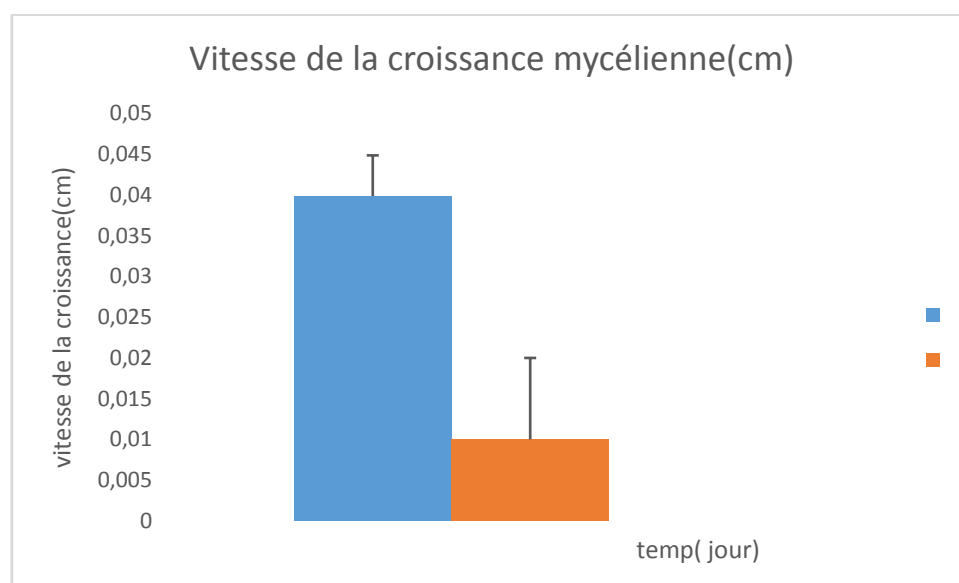


Figure 44 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance mycélienne (cm /jour) (diffusion par puits).

Les résultats de ce paramètre montrent que la vitesse de croissance chez les témoins est nettement supérieure à celle des traités. Ceci confirme le paramètre de croissance où cette dernière était supérieure chez les témoins.

Résultats et discussion

Tableau21 : Effet de l'huile essentielle du clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/jour)

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/jour)	0,040	0

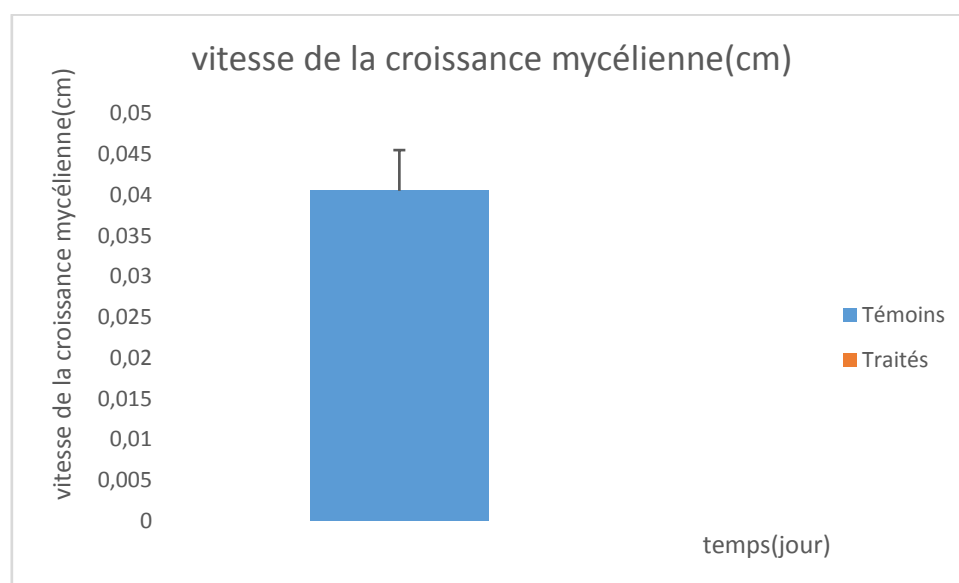


Figure 45 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion par puits).

Les résultats de ce paramètre ont montré que la vitesse de croissance du mycelium chez les témoins est de 0,04 cm/jour et nulle pour les traités. Ceci a confirmé les résultats précédents de la croissance mycellaire. Comme cela a été rapporté dans la littérature (**Djeddi et al, 2007, Meghazi, 2015**), une souche fongique est considérée comme étant extrêmement sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à ≥ 20 mm. L'examen des résultats nous révèle que cette souche s'est montrée extrêmement sensible à l'huile du clou de girofle.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par (**Kedia et al., 2015 in Meghazi 2015**). Ces derniers rapportent que cette huile essentielle est dotée d'un large spectre de toxicité fongique causant l'inhibition totale de la croissance de 19 moisissures d'altération des aliments dont l'espèce *Fusarium* sp isolées à partir du blé

III .1.6.2-Méthode de confrontation par diffusion à distance

Les résultats de cette méthode sont présentés dans les tableaux 22 ,23et les figures 46 et 47

Tableau22 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance (cm/jour) (diffusion à distance).

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/jour)	0,38	0,022

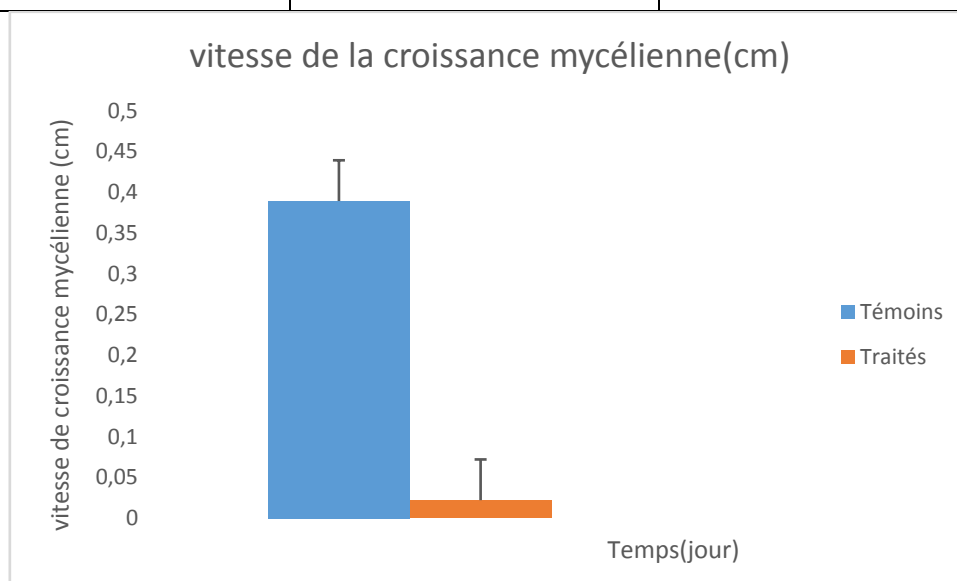


Figure 46 : Effet de l'huile essentielle d'orange douce sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion à distance).

Sous l'effet de l'huile essentielle de l'orange douce, la vitesse de croissance du mycélium du *Fusarium* est nettement supérieure chez les témoins non traités (0.38) contre 0.022 chez les traités. Il semble qu'il en est de même pour ce paramètre, l'huile de l'orange douce a eu un effet dépressif sur la vitesse ce croissance du champignon.

Résultats et discussion

Tableau23 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/jour) (diffusion à distance).

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/jour)	0,040	0

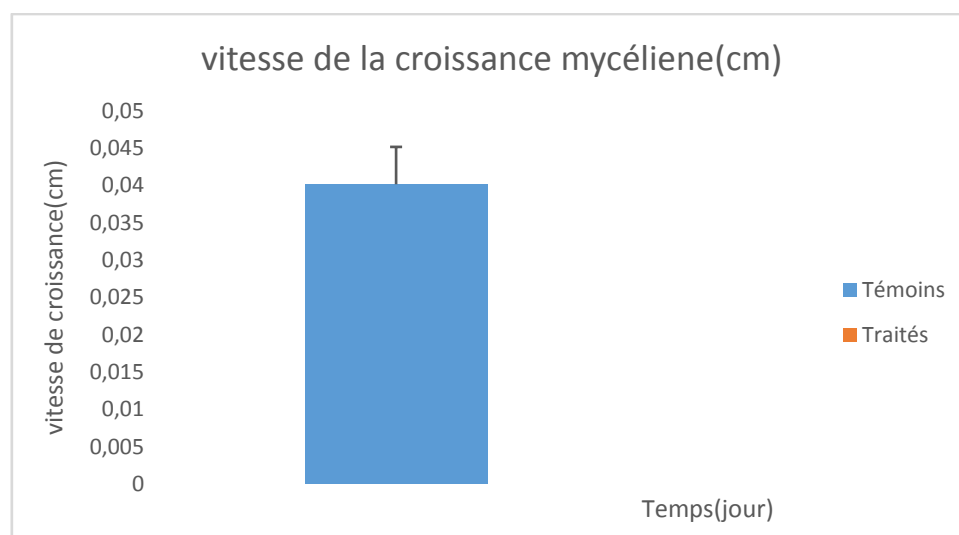


Figure 47 : Effet de l'huile essentielle du clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (diffusion à distance).

Les résultats de ce paramètre montrent qu'il en est de même pour ce paramètre, l'huile essentielle du clou de girofle a inhibé totalement la croissance du champignon et par conséquent sa vitesse de croissance est nulle. Par contre chez les témoins n'ayant pas été traités, cette dernière est de 0,40 cm/jour

III.1.6.3-Méthode de dilution par mélange

Les résultats de cette méthode sont présentés dans les tableaux 24 et 25 et les figures 48 et 49.

Tableau24 : Effet de l'huile essentielle d'orange douce sur la vitesse de croissance (cm/jour) (dilution par mélange).

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/heure)	0,034	0,017

Résultats et discussion

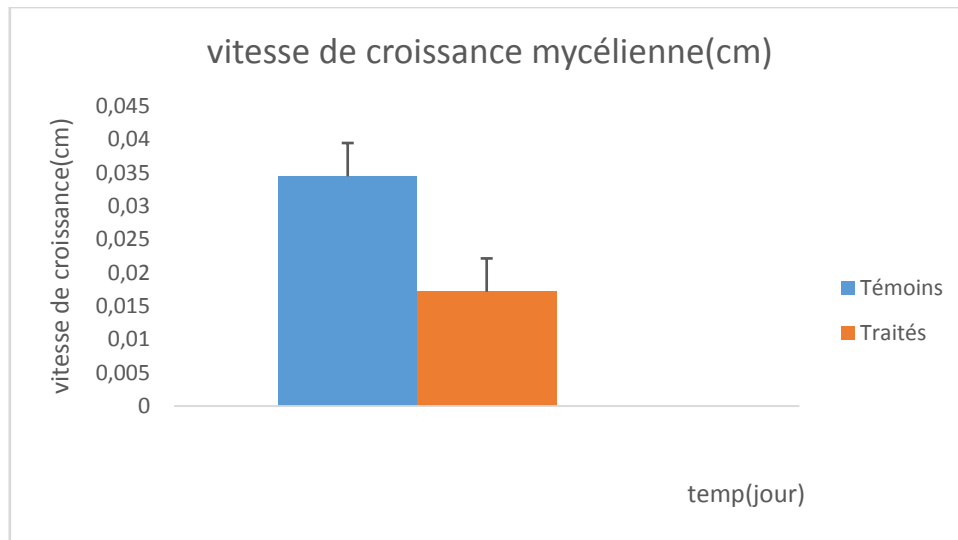


Figure 48 : Effet de l'huile essentielle d'orange sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (dilution par mélange)

L'analyse des résultats de cette méthode, montre que l'huile essentielle extraite à partir de l'écorce d'orange douce aralentie partiellement la vitesse de croissance du champignon comparativement à celle du témoin. Elle est de 0.017 cm/jour contre 0.034cm/jour.

Tableau25 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance (cm/jour) (dilution par mélange).

	Témoins	Traités
Vitesse de la croissance (cm/jour)	0,034	0

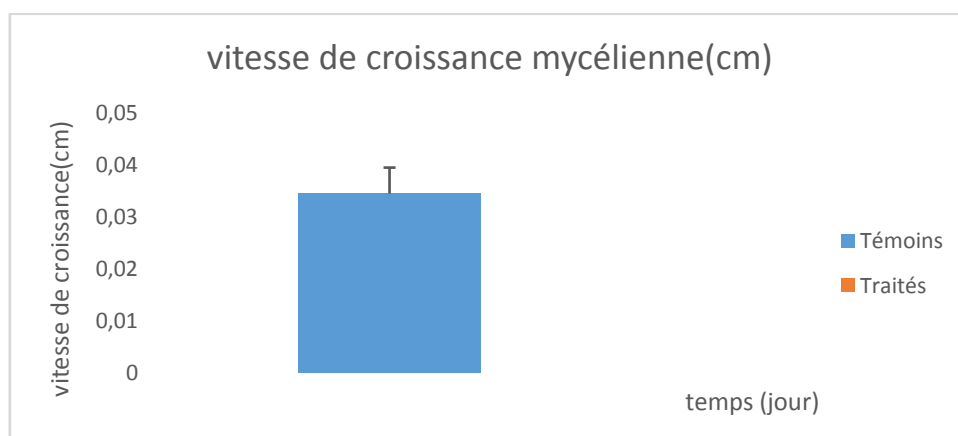


Figure 49 : Effet de l'huile essentielle de clou de girofle sur la vitesse de croissance mycélienne (cm/jour) (dilution par mélange).

Résultats et discussion

Il en est de même pour ce paramètre et pour cette méthode, la vitesse de croissance du champignon *Fusariumoxysporum* est nulle sous l'effet de l'huile essentielle extraite à partir des boutons floraux du clou de girofle. On peut avancer que le champignon s'est montré très sensible à ce bioproduit. Par contre celle du mycélium n'ayant pas subi de traitement (témoin) cette vitesse est de 0.034 cm/jour.

Au vu de tous ces résultats nous pouvons conclure que quel que soit la méthode appliquée sur la croissance ou calcul de la vitesse de croissance, l'huile essentielle du clou de girofle s'est montrée très efficace contre ce champignon.

L'examen des résultats pour les deux huiles essentielles de *citussinensis* et de *Syzygiumaromaticum*, nous montre clairement que le champignon testé s'est montré tantôt sensible et tantôt moins sensible. Sous l'effet d'huile de Citrus, il s'est développé. Par contre sous l'effet de l'huile essentielle du clou de girofle, la croissance a été inhibée totalement. Benghazi, 2à15 rapporte qu'es espèces dont les diamètres d'inhibition sont inférieurs ou égales à 9 mm, comme la réponse de l'espèce *Fusariumverticillioides* envers l'huile essentielle de *Pistacialentiscus*, ne sont pas pris en considération et l'espèce est qualifiée comme étant non sensible.

DISCUSSION

Les résultats de l'extraction de l'huile essentielle d'orange douce (*Citrus sinensis*) nous a donné un rendement de 1,33% .Ce dernier est légèrement supérieur à celui de (**Bouhali ,2015**) et qui est de 0.39%, Le Clou de girofle a donné un rendement de 3%. Ce dernier est considéré comme faible comparativement à celui de (**Adli ,2015**) qui est de 10,6%, et légèrement supérieur à celui de (**Abdelkader et Bouchakour, 2018**) 0 ,4%.

Divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge de la plante, la partie soumise à la distillation et la technique d'extraction peuvent influencer le rendement (**Bessedik et Khenfer, 2015**).

D'après les résultats obtenus, il a été noté que l'inhibition de la croissance mycélienne en présence de l'huile essentielle d'orange n'est pas importante par rapport aux témoins, mais elle est très importante en présence d'huile essentielle de clou de girofle par rapport au témoin.

L'utilisation du témoin a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet de l'huile contre le *Fusarium*. L'activité antifongique est indiquée par l'absence ou la présence de croissance mycélienne.

Elle se traduit par un halo translucide autour du disque (Mironescua et Georgescub, 2008 L'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'orange diminue en fonction de temps, avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 100% à 2% durant la période restante du traitement (9^{ème} jour).Concernant l'huile essentielle de clou de girofle, son effet inhibiteur est également de 100% pendant toute la durée de l'essai.Il semble que cette huile possède un spectre de toxicité fongique qui cause l'inhibition totale de la croissance du *Fusarium*, Les mêmes résultats ont été rapportés par (**Meghazi., 2015**), sur l'huile essentielle d'*Ammoidespusilla*. très active sur l'ensemble des moisissures testées sur le blé provoquant l'inhibition totale de la croissance de 19 moisissures d'altération des aliments dont les espèces *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.flavus*, *A.ochraceus* ,*Penicillium spetFusariumverticilliodes*isolées à partir du blé.les résultats de (**Douakha e tHamdaoui., 2017**) sur le romarin ont montré une activité antifongique contre le *fusariumoxysporuim* avec des taux d'inhibition variant entre 55 à100% (croissance nulle 0 cm).

Discussion

Dans ce test, les trois méthodes nous ont permis de prouver le pouvoir antifongique de l'huile essentielle du clou de girofle et d'orange sur la souche fongique testée.

Par rapport au témoin, la croissance du champignon était retardée lors de l'ajout d'huile essentielle d'orange, elle augmente en fonction de temps d'incubation (nombre du jour) mais avec un pourcentage d'inhibition différente. Quand l'huile essentielle de clou de girofle, le champignon n'a pas développé pendant le période du test (croissance nulle 0cm).

CONCLUSION

Notre travail est conçu pour rechercher des produits naturels pouvant remplacer les produits chimiques utilisés dans le traitement contre les moisissures des denrées stockées tel que le *Fusarium* qui est considéré comme l'un des champignons les plus agressifs qui provoque le flétrissement et la pourriture de nombreuses espèces végétales telle que le blé..

Les pesticides, utilisés dans la protection de ces cultures font souvent les frais des limites maximum de résidus dans les récoltes. L'utilisation de formulations volatiles à base de plantes aromatiques et médicinales peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèses actuels. En effet, les huiles essentielles sont faiblement toxiques pour l'environnement et ne posent pas de problème de résidus.

Notre travail a consisté à différents tests antifongiques *in vitro* utilisant des huiles essentielles d'orange douce et de clou de girofle appliqués selon différentes méthodes.

Ces deux biofongicides ont montré des propriétés très intéressantes et efficaces même si à des degrés différents. L'huile essentielle du clou de girofle, i a montré un effet antifongique très intéressant au laboratoire, il peut donc être utilisé comme alternative aux produits chimiques utilisés pour protéger le blé.

L'ensemble des résultats obtenus montrent qu'il est possible d'envisager une formulation fongicide contre *Fusariumoxysporum* au moyen de l'huile essentielle du clou de girofle...) à condition toutefois, de respecter une méthodologie bien adaptée. Ensuite, il faut signaler qu'un certain nombre de facteurs limitent l'optimisation du potentiel fongicide de l'huile essentielle. Il s'agit, entre autres, du caractère volatile de cette dernière, qui peut contribuer à réduire son efficacité ; la nature de l'émulsion et surtout les conditions de son application.

Nos résultats montrent que l'étude sur l'huile essentielle du romarin doit être plus approfondie en vue d'exploiter ses propriétés antifongiques en matière de protection phytosanitaires des cultures de blé. Des analyses biochimiques et moléculaires sont également nécessaires afin d'élucider les modes d'action sur les spores et sur les hyphes du *F.oxysporum*. Toutes ces études compléteront les tests sur le mode d'application des huiles essentielles *in vivo* (application directe sur les feuilles ou par

Conclusion

bio-fumigation) dans le but de mettre en valeur l'action du clou de girofle dans le domaine phytosanitaire

Référence bibliographique

A

Abbes A.,(2015).Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'ammoides verticilata « Noukha » de la région de Tlemcen .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master ..Université Abou Bekr Belkaid deTlemcen.

Abdelkader O.,Bouchakour T., (2018).Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de syzygium aromaticum et Illicium verum vis-à vis Aphis spiraeicola. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en agronomie .Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

Adams Martin R and Moss Maurice O. (2008). Food microbiology. RSC Publishing. TheRoyale Society of Chemistry. Third Edition ;p : 463.

Afnor S (1986).Céréales et produit céréaliers. Recueil de normes françaises, 2emeEd, Lavoisier TEC et DOC, Paris, p : 250-263

Agag B.I. (2004). Mycotoxins in foods and feeds 3-Zearalenone.Ass. *Uni. Bull. Environ.Res.* (7):2.

Agriose,G,n.(1988),plant pathology.3rd ed Academi press ,New –York.803pp

Alleche N., (2017). Activité antifongique de quelques extraits d'une plante endémique sur des moisissures du blé stocké .Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master. Université des FrèresMentouri Constantine.

Amrani T., (2018). Etude de l'effet bio-insecticide de l'huile essentielle de Clous de Girofle (*Eugenia aromatica*) vis-à-vis d'un ravageur des denrées stockées (coléoptère; ténébrionidé) *Tribolium confusum*. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de mastere académique en science biologique.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Anonyme,(2012). *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'afla toxines, ANSEP, 3p

Atmani H.,Baira K.,(2015).Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères physico-chimique de l'huile essentielle du clou

Référence bibliographique

de girofle. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de mastere2. Université Frères Mentouri1 Constantine.

B

Bachire Boudjra S., (2017). Etude In vitro du pouvoir pathogène de fusarium oxysporum sur variétés fixes et hybrides de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master en protection des cultures. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

Baji M., (1999). Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variantessoma clonaux sélectionnés in vitro. PhD Thesis, Université catholique de Louvain, Louvain-La-Neuve. B

Bankole S.A., (1997). Effect of essential oils from two Nigerian medicinal plants (*Azadirachta indica* and *Morinda lucida*) on growth and aflatoxin B1 production in maize grain by a toxigenic *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology* p : 190–192. .

Battais F., Richard C. et Leduc V., (2007). Les allergènes du grain de blé. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* 47, 171–174

Belyagoubi L., (2006). Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie. Université Abou Bekr Belkaide Tlemcene.

Benhamimed H., Chaoui F. (2016). Effets de l'incorporation de graines alimentaires sur les qualités technologiques de la farine de blé destinée à la panification. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

Benabdi B . , Otmani A., (2019). Evaluation des activités antibactérienne et antioxydante des huiles de citrus aurantium et *Citrus reticulata*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de mastère. Université Akli Mouhand Oulhadj-Bouira.

Référence bibliographique

Benouaer M., (2016). S L'activité antifongique des extrait aqueux et des huiles essentielle d'Artemisia herba-alba sure des champignons potentiellement mycotoxigénique du blé dure (*Triticum durum* var Vitron).Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de mastere Academique. Université Kasdi Merbah Ourgla.

Berhaut P., Le Bras A., Niquet G., Griaud P., (2003). Stockage et conservation des grains à la ferme, ARVALIS, Institut du végétale, Ed. Tec et Doc, Paris, 108 P

Boudra, H., (2009). Les mycotoxines dans les fourrages : un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants. *Fourrages*, p 199, 265-280.

Bouhali H., (2015).Caractérisation des huiles essentielles de citrus sinensis et étude leur activité antioxydante : étude comparative entre l'huile essentielle des écorces sèches .Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister .Université A.MIRA-BEJAIA.

Bourais I., & Amin A., (2006). Aflatoxines toxiques redoutables dans nos aliments, Les technologies de laboratoire, 4-8 pp

Bourgeois C.M., Mescle J.F and Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire. Tome1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Technique et docLavoisier, Paris, p : 672.

Bousabia N., (2011).Extraction des huiles essentielles riche en anti-oxydants à partir de produits naturels et de coproduites agroalimentaires. Thèse en co-Tutelle.présentée pour obtenir le grade de docteur en Science.Université d'Avignon et des pays de Vaucluseand Ecole Nationale supérieure Agronomique : p .18

Brahimi N., Dahmani H., (2018). Cinétique de séchage convention nelle (étuve) des fines tranches d'orange sanguine Moro*Citrus sinensis* (L)Osbeck, et étude de l'activité antioxydante.Mémoire en vue de l'obtention du diplome de mastère. Université AkliMouhand Oulhadj-Bouira.

C

Chagra K.,(2019).Etude les propriétés physico-chimique et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum(L)*).Mémoire de mastère.Université Mohamed Khider de biskra.

Cheftel J.C and Cheftel H., (1977). Introduction à la Biochimie et à la Technologie des aliments.II-. Graines végétales. Technique et Documentation-Lavoisier. P : 105-130

D

Dealarras C., (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de

Deàk Tibor.,(2008). Handbook of food spoilage yeasts. CRC Press. Second Edition. P : 325.contrôle sanitaire. Tec &Doc ; éditions médicales internationales, pp

Djelti H., (2014). Etude de la qualité du blé tendre utilisé en meunière algérienne. Mémoire de magistère .Option : Technologie Des industries Agro-alimentaire. Université Abou Bakr Tlemecen : 51p

Douakha, F., et Hamdaoui., (2017). Etude sur l'activité antifongique in vitro de l'huile essentielle du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur le fusarium (*F. oxysporum*) parasitant la tomate (*Lycopersicum esculentum*) Mémoire de fin d'étude. Master II Qualité des produits et sécurité alimentaire. Université Chadli Bendjedid El Tarf.

Doumandji A., Doumandji-mitiche B., Salaheddine D. (2003). Cours de technologie descéréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux
Dufresne P., & St-Germain G., (2013). Identification des champignons d'importance médicale : Stage de laboratoire, Laboratoire de Santé Publique du Québec, 57 p.

Duron B. (1999). Le Transport Maritime des céréales. Mémoire pour le D.E.S.S."Transports maritimes et aériens" .Option Droit maritime et Droit des transports.Faculté de droit et de science politique d'aix-marseille. p : 81

Référence bibliographique

Druvefors U.A. (2004). Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala* Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, Department of Microbiology. Agraria. P: 44.

E

Eckwall E.C and Schottel J.L. (1998). Isolation and characterization of an antibiotic produced by the scab disease-suppressive *Streptomyces diastatochromogenes* strain Pon SSII. *J Ind Microbiol Biotechnol.* P: 5-22.

F

Feillet P. (2000). Le grain de blé, composition rigine-histoire-économie-sélection. Ligugé ;Poitiers : *Aubin imprimeur.* 36p.

Filtenborg O., Frisvad J.C. et Thrane U., 1996. Moulds in food spoilage. *International Journal of Food Microbiology* 33; 85-102.

Flamini G and Luigi Cioni P. (2003). Activity of Plant Extracts, Essential Oils, and PureCompounds Against Fungi Contaminating Food stuffs and Causing Infections in HumanBeings and Animals: A Six-Year Experience (1995-2000). Food products press: CropScience; NewYork .P: 279-297

Fredot, E. (2005).« Connaissance des aliments ». Pages : 157 à 199. Edition TEC et DOC. Lavoisier-Paris

Fredot E., (2012). Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 613p

G

Ghorri S., (2015). Isolement des microorganismes possédant une activité anti-fusarium.Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat 3^{ème} cycle LMD.Université frères Mentouri Constantine.

Godon B. (1991). Biotransformation des produits céréaliers. Technique & documentationLavoisier, Paris, p : 221.

Godon B and Loisel W. (1997). Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales.Edition Technique et Documentation Lavoisier., Paris. p : 819

Référence bibliographique

Guellal M ., Moulai AouadiF.,(2019).Isolement des champignons à activité lipolytique à partir des grignons d'olive des huileries de la région de bouira. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de mastère. AkliMouhand Oulhadj-Bouira.

Guiraud J. P., (1998).Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330

Gwimer J., Harnisach R., Mück O., (1999).Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, P : 368

H

Hamdani S., (2018).Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielle des agrumes cultivés dans la région de Tlemcen.Mémoire de mastere.Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.

Hama F., Asloune H., (2017).Effet d'association d'extrait de pulpe d'orange et citron sur l'activité Antioxydante.Mémoire de mastère.Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

Hessas T ., Simoud S., (2018).Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Thymus sp.En vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

J

Jouany J. P and Yiannikouris A. (2002). Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. INRA Productions Animales. P: 3-16.

K

Kermiche A ., Latrous H., (2021).Contribution à l'étude de quelques effets de l'huile essentielle de feuilles de lentisque sure la germination des graine de quelques espèces de céréales et légumineuses.Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de mastère II Académique en Science Alimentaire.Université Chadli Bendjedid-El-Tarf.

Référence bibliographique

Kheladi M., (2009).L'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes
Recherches économiques et managériales N6 :32-67pp.

M

. **Magan N., Hope C.V. and Aldred D., (2003).** Post – harvest fungal ecology:
Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. Euro. J. Plant.
Pathol 109, p: 723-730

Magan N and Olsen M. (2004) . Mycotoxines in food: Detection and control. *F.Sc.
Technol.*p:190-203.

Mahfoud A., Lasbahani,A., (2015). Approche de lutte contre les maladies fongiques
du blé : étude de l'efficacité de trois molécules antifongiques (in-vitro et in situ) et
l'effet antagoniste de certains microorganismes fongiques (in-vitro)". Mémoire du
Diplôme de Master. Filière :Sciences Biologiques .Université des Frères Mentouri
Constantine Faculté des Sciences de laNature et de la Vie 70p

Mahideb N. Merrouche H. (2015). Etude des moisissures potentiellement
productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non
traités). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master. Université
des Frères Mentouri Constantine.

MéghaziN., (2015).Activité antifongique de quelques huiles essentiellesur les
moisissures du blé stocké .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en
science agronomique.Ecole Nationale Supérieure Agronomique Algérie El-Harrach

Messaoure H., (2018).L'étude de l'effet de l'incorporation de l'huile essentielle
d'orange dans le fromage fondu de la laiterie et fromagerie Boudouaou.Mémoire en
vue de l'obtention du diplôme de mastère.Université AkliMouhand Oulhadj-Bouira.

Molkhou P., (2007). Intolérance et allergie au blé, Journal de pédiatrie et de
puériculture, 20 : 228-232.

Moreau C., (1996). Les mycotoxines. *In* : Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J.
(coord.). *Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la
qualité des aliments*. Ed. Tec & Doc. Paris, pp.176-185

Référence bibliographique

Multon, J.L., (1982). Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés ; Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, pp. 576.

N

Ndiaye D.S.B., (1999). Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux, Coopérative Autrichienne pour le développement, 61p.

O

Optis M., Shaw K., Stephenson P., Wild P., (2012). Mold Growth in On-Reserve Homes in Canada: The Need for Research, Education, Policy, and Funding. Journal of Environmental Health. Vol. 74 N°6: 14-21.

P

Pitt J.I., Hocking A.D., (1991). Significance of fungi in stored products, Proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand: Fungi and mycotoxins in stored product, 16-21

Proctor, D.L.,(1995). Techniques d'emménagement des grains : évolutions et tendances dans les pays en développement, Bulletin des services agricoles de la FAO n°109, FAO, Rome.

R

Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F., et Million L., (2010). Pollution atmosphérique, Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées, Revue française d'allergologie 50 : 611–620

Reboux G., (2006). Mycotoxines : effet sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 46 (2006) 208 – 212.

Roberts T.A. (2005). Microorganisms in foods. Microbial Ecology of food Commodities. Second Edition. Springer; p : 776.

Roudane W., (2017). Activité insecticide de l'huile essentielle du bigaradier (*Citrus aurantium* L.) à l'égard de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say

Référence bibliographique

(Coleoptera :Chrysomeliddae :Bruchinae).Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de mastere en Science agronomique.université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

S

Seddik M., (2010).Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'*ammoidesverticillata* de la région d'adrar.Etude de son activité et anti-oxydante.Mémoire pour l'obtention du diplôme de magistère .Université d'ORANE ET- SENIA.

Seye F., Bawine T., Boukraa S., Zimmer J.Y., Ndiaye M., Delvigne F., François F.(2014). Effect of entomopathogenic *Aspergillus* strains against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) . ORIGINAL RESEARCH PAPER

Sophie B ., (2015). Le giroflier : historique , description et utilisation de la plante et de son huile essentielle.Thèse pour obtenir le diplôme de docteur en pharmacie .Université de lorraine faculté de pharmacie.

T

Tatsadjieu N.L., Jazet Dongmo P.M., Ngassoum M.B., Etoa F-X and Mbofung C. (2009). Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus*. Food Control. P: 161–166

Annexe I : Technique de préparation de milieu de sabouraud :

Milieu de sabouraud : PH final à 25C :5,6+/-0,2

Composant	Quantités g/l
Peptone	10
Chloramphénicol	0,5
Glucose	20
Agar	20

Préparation

-Mettre en suspension 45,5g de milieu déshydraté (BK027) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

-Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.

-Répartir en tubes ou en flacons, stériliser à l'autoclave à 121C° pendant 15 minutes.

Mode d'emploi

-Refroidir et maintenir le milieu à 47C°. Transférer 1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de pétri stériles.

-Couler 10 à 15 ml de milieu –Homogénéiser parfaitement

-Laisser solidifier sur une surface froide.

-Incuber à 25-30C° pendant 3 et 5 jours.

Lecture

Les boîtes doivent être examinées chaque semaine, pendant 5 semaines avant de conclure à l'absence de culture



Figure44 : Technique de préparation de milieu de sabouraud :

Annexe III : les effets des huiles essentielles d'orange et de clou de girofle sure le développement de fusarium

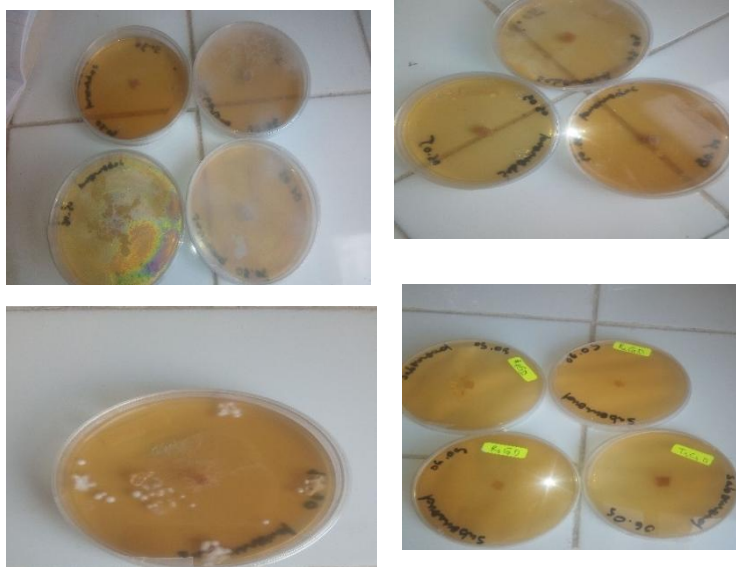


Figure45 :l'effet des huiles essentielles de clou de girofle sure la croissance du fusarium oxysporium pour les trois méthodes (méthode de diffusion par puits, diffusion par à distance, dilution par mélange)

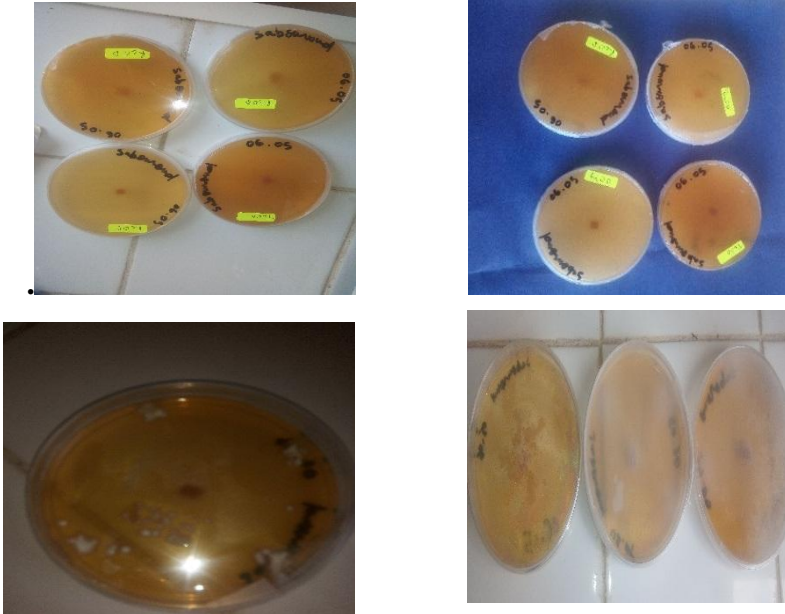


Figure45 :l'effet des huiles essentielles d'orange sure la croissance du fusarium oxysporium pour les trois méthodes (méthode de diffusion par puits, diffusion par à distance, dilution par mélange)