



REPUBLIQUE ALGERENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

# Université Ammar Thelidji-Laghouat

FACULTE DE SCIENCES

DEPARTEMENT SCIENCES AGRONOMIQUE

## **MEMOIRE DE MASTER**

Présenté par Hamdi Mahfoud

**DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DR LA VIE (SNV)**

**FILIERE: SCIENCE AGRONOMIQUE**

**OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX**

***Thème***

**Etude in vitro de l'effet combiné des deux huiles  
essentielles de deux plantes : *Anacyclus valentinus L*  
et *Juniperus phoenicea* sur la croissance de quelque  
champignons phytopathogènes**

**Devant le jury :**

M. Bcheur Mourad

MAA

Président

M. Houicher Abderrahmane

MCA

Rapporteur

Mm. Ameer Djamilia

MAA

Examinatrice

**Soutenu publiquement le 02 Juillet 2018**

## *Dédicace*

*Aux êtres les plus chers : Mes parents ;*

*A mes sœurs : Nassira, Fatima,*

*Fieneb et Khaoula*

*A mes amis ; et tous mes collègues et les membre  
de Agro Club*

*A tous ceux que je vous aime*

*A tous ceux que j'ai oubliés, je m'en excuse et je  
vous remercie aussi.*

*Mahfoud*

## ***Remerciement***

*Je remercie Dieu, le tout puissant, qui m'a donné la force, la patience ainsi que le courage pour arriver à réaliser ce travail.*

*Je tente par la suite à exprimer toute notre gratitude et mes sincères remerciements à mon encadreur Mr. Houicher Abderrahmane pour avoir dirigé ce travail ainsi que pour ses précieux conseils et ses critiques constructives.*

*J'adresse mes chaleureux remerciements aux respectueux membres du jury Mr. Becheur Mourad et Ameer Djamila d'avoir accepté présider et examiner mon travail.*

*Enfin, je tente à remercier toute personne qui à participer à l'aboutissement de ce projet de près ou loin.*

## *Table de matières*

---

<b>Liste des tableaux.....</b>	<b>I</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>II</b>
<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>III</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>01</b>

### *Partie bibliographique*

1. LES PLANTES AROMATIQUES .....	03
1.1. La plante <i>Anacyclus valentinus L</i> .....	03
1.1.1. Classification taxonomique.....	03
1.1.2. Aspects botaniques.....	03
1.1.3. Aspects phytochimiques.....	04
1.1.4. Aspects pharmacologiques.....	04
1.2. La plante <i>Juniperus phoenicea</i> .....	05
1.2.1. Classification taxonomique .....	05
1.2.2. Aspects botaniques.....	06
1.2.3. Aspects phytochimiques.....	06
1.2.4. Aspects pharmacologiques.....	07
2. LES MOISSISSURES .....	09
2.1. Les moisissures pathogènes .....	09
2.1.1. Les moisissures des céréales.....	09
2.1.2. Moisissures des légumes secs .....	10
2.1.3. Aliments composés pour les animaux .....	10
2.1.4. Autres végétaux.....	11
2.2. Les facteurs de développement des moisissures .....	11
2.2.1. Température et humidité .....	12
2.2.2. Les vecteurs .....	13

## *Table de matières*

---

2.2.3. Etat des grains .....	13
2.2.4. Atmosphère de lot de stockage .....	13
2.3. Effet néfaste .....	14
2.3.1. Maladies fongiques .....	14
2.3.2. Sécrétion des mycotoxines .....	14
2.3.3. Contamination de la chaîne alimentaire .....	16
3. LA LUTTE CONTRE LES MOISSURES PATHOGENES.....	19
3.1. Lutte chimique.....	19
3.2. Lutte physique .....	20
3.3. Lutte biologique .....	21
3.3.1. Biopesticides : cas des huiles essentielles.....	23

### *Partie expérimentale*

<b>MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>	<b>26</b>
<b>1. MATÉRIEL.....</b>	<b>26</b>
1.1. Matériel végétal .....	26
1.1.1. Lieu et période de récolte .....	26
1.2. Matériel fongique.....	26
<b>2. MÉTHODES.....</b>	<b>27</b>
2.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles .....	27
2.2. Calcul du rendement .....	28
2.3. Détermination de la composition chimique d'huile essentielle .....	28
2.4. L'étude de l'activité antifongique.....	28
2.4.1. Préparation des dilutions des HEs .....	28
2.4.2. Préparations des tubes CMI de l'HE .....	29
2.4.3. Préparation des suspensions fongiques .....	30

## *Table de matières*

---

2.4.4. Inoculation des tubes CMI .....	31
2.4.5. Incubation et lecture .....	31
2.3.6. Détermination de la CMF .....	32
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>33</b>
<b>1. Résultats.....</b>	<b>33</b>
1.1. Rendement et composition chimique .....	33
1.2. Activité antifongique des huiles essentielles.....	35
<b>2. Discussion.....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>41</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>50</b>

<b>AFSSA</b>	: Agence Française de <b>S</b> écurité <b>S</b> anitaire des <b>A</b> liments.
<b>BCCM</b>	: <b>B</b> elgian <b>C</b> o-ordinated <b>C</b> ollections of <b>M</b> icro-organisms.
<b>CG/SM</b>	: <b>C</b> hromatographie analytique en <b>P</b> hase <b>G</b> azeuse/ <b>S</b> pectrométrie de <b>M</b> asse.
<b>CLSI</b>	: <b>C</b> linical and <b>L</b> aboratory <b>S</b> tandards <b>I</b> nstitute.
<b>CMI</b>	: <b>C</b> oncentration <b>M</b> inimal <b>I</b> nhibitrice.
<b>CMF</b>	: <b>C</b> oncentration <b>M</b> inimal <b>F</b> ongicide.
<b>DMSO</b>	: <b>D</b> i <b>M</b> ethyl <b>S</b> ulf <b>O</b> xide
<b>FAO</b>	: <b>F</b> ood and <b>A</b> griculture <b>O</b> rganisation.
<b>HE</b>	: <b>H</b> uile <b>E</b> ssentielle.
<b>MOPS</b>	: 3-( <b>N</b> -morpholino)]-propanesulfonic acide).
<b>m/z</b>	: <b>m</b> asse/ <b>z</b> arge ( <b>i</b> ons)
<b>PDA</b>	: <b>P</b> atato <b>D</b> extrose <b>A</b> gar
<b>RHE</b>	: <b>R</b> endement en <b>H</b> uile <b>E</b> ssentielle
<b>RPMI</b>	: <b>R</b> oswell <b>P</b> ark <b>M</b> emorial <b>I</b> nstitute <b>M</b> idium.
<b>SAB</b>	: <b>S</b> abouraud <b>A</b> gar <b>B</b> ouillon
<b>UFC</b>	: <b>U</b> nité <b>F</b> ormant de colonies.

<b>Figure 1</b> : Planche d' <i>Anacyclus valentinus</i> .....	4
<b>Figure 2</b> : Photo d'un rameau de <i>Juniperus phoenicea</i> L. ....	6
<b>Figure 3</b> : Les cinq approches de la protection des cultures .....	19
<b>Figure 4</b> : Photo d'un rameau de <i>J. phoenicea</i> L.....	26
<b>Figure 5</b> : La plante <i>A.valentinus</i> .....	26
<b>Figure 6</b> : Dispositif d'hydrodistillation .....	27
<b>Figure 7</b> : Les dilutions de l'agent antifongique insoluble dans l'eau....	29
<b>Figure 8</b> : Préparation des tubes CMI de l'agent antifongique insoluble dans l'eau.....	30
<b>Figure 9</b> : Préparation des suspensions fongiques (inoculum) pour la méthode de macro-dilution en milieu liquide .....	31
<b>Figure 10</b> : Ballon d'assemblage de l'huile essentielle.....	33
<b>Figure11</b> : Rendement en huile essentielle des plantes aromatiques <i>A. valentinus</i> et <i>J. phoenicea</i> .....	33

<b>Tableau 1 :</b> Les principales mycotoxines dans le monde.....	15
<b>Tableau 2:</b> Exemples de biopesticides développés pour le contrôle des ennemis et compétiteurs des plantes cultivées.....	22
<b>Tableau 3 :</b> Les souches fongiques utilisées dans l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles d' <i>A.valentinus</i> et de <i>J. phoenicea</i> .....	27
<b>Tableau 4:</b> Les composés majoritaires des huiles essentielles des plantes <i>A. valentinus</i> et <i>J. phoenicea</i> .....	34
<b>Tableau 5 :</b> Activité antifongique (CMI, CMF) des HEs des plantes <i>A.valentinus</i> et <i>J. phoenicea</i> cune entrée de table des matières n'a été trouvée.....	35

---

## *Introduction*

---

Les moisissures constituent un agent de détérioration des produits agricoles. Ils diminuent la qualité technologique, et sanitaire, réduisent la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économique due aux couts de détoxification des grains ou le rejet des produits contaminés (Belyagoubie, 2006).

Les produits phytosanitaires, plus communément nommés "Pesticides", sont des sujets de discussion incontournables de la société actuelle. Si, auparavant, ces termes étaient associés à la maîtrise de la production agricole et la garantie de ressource alimentaire suffisante, ils sont désormais souvent associés, à tort ou à raison, à un problème de santé publique. En l'espace de quelques années, les pesticides sont en effet passés du rang de produits révolutionnaires et bienfaiteurs au rang de produits néfastes dont il faut se débarrasser.

La problématique « pesticides » est à la fois d'ordre environnemental avec la contamination de la faune et de la flore, elle est aussi d'ordre sanitaire. En effet, de par leurs propriétés toxiques, les pesticides représentent un réel danger pour l'homme lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans des conditions appropriées (Fillatre, 2011).

Les fongicides chimiques ont certes permis l'amélioration des rendements en agriculture, cependant leur utilisation abusive a engendré à long terme l'apparition de phénomène de résistance, en plus de la pollution de l'environnement. De ce fait, beaucoup de ces fongicides deviennent inefficaces (Amri et *al.*, 2014). De plus, la tendance actuelle des consommateurs à chercher une alimentation plus naturelle a incité la recherche, le développement et l'application de nouveaux produits naturels ayant des activités antimicrobiennes et antifongiques (Bouguerra, 2012).

Il est devenu très indispensable la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antibactériennes et antifongiques pouvant constituer une solution alternative aux produits chimiques. La recherche continue de nouveaux produits antifongiques reste donc une nécessité à laquelle il faut répondre. L'orientation des recherches vers des "biofongicides" semble alors prometteuse ; la stratégie de développer de nouvelles molécules à partir de substances végétales peut ainsi être intéressante. En effet, certains extraits végétaux (comme les huiles essentielles) sont pourvus d'activités antibiotiques importantes et ont un large spectre d'activités (Amri et *al.*, 2014).

En raison de la richesse de notre région en plantes médicinales et aromatiques, une étude approfondi de celles-ci s'impose dans le cadre de mettre en lumière une espèce proliférant dans notre région et qui elle a fait l'objet d'une seul étude pour ces propriétés antifongiques, il s'agit d'*A.valentinus*; c'est une plante vivace herbacée légèrement aromatique appartenant à la famille des Asteraceae, communément appelée " Guertoufa " (Maiza et al., 1993). Une autre plante très intéressante *J. phoenicea* ; qu'est une plante aromatique, arbrisseau, ramifié dès la base et à houppier dense, allongé, appartenant à la famille des Cupressacées, très répandue dans le sud Algérien, elle est connue sous le nom vernaculaire « Arar ». Bouzouita et al. (2008) ont démontré que les HEs possèdent un effet inhibiteur vis-à-vis de quatre microorganismes ; et d'après (El Morsi et Hassanein, 1999) le genre *Anacyclus* ont fourni de nombreuses propriétés tels que l'effet insecticide ; Et antifongique (Boungab et al., 2011).

Dans ce contexte, cette étude a pour objectif d'analyser la composition chimique des HEs des deux plantes, afin de connaître leurs composés actifs, et de déterminer *in vitro* l'effet antifongique de chaque huile sur la croissance des moisissures phytopathogènes ainsi que l'effet d'une combinaison de deux huiles essentielles. Ce travail propose également de prospecter et d'élargir ce spectre d'action antifongique sur des moisissures nuisibles à l'agriculture telles que les espèces appartenant aux genres *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*.

Le présent mémoire est structuré en trois parties. La première s'intéresse à une recherche bibliographique sur la plante *A. valentinus* et la plante *J. phoenicea*, les moisissures phytopathogènes et les différentes méthodes de lutte contre ces maladies fongiques. La deuxième partie aborde la méthodologie utilisée pour l'extraction et la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle ainsi la méthode de macro-dilution en milieu liquide utilisée pour l'étude de l'activité antifongique, selon la norme internationale M38-A préconisée par CLSI. La troisième partie discute les résultats obtenus, enfin nous achevons ce travail par une conclusion générale et des perspectives.

---

*Synthèse bibliographique*

---

### 1. LES PLANTES AROMATIQUES

#### 1.1. La plante *Anacyclus valentinus* L

L'*Anacyclus valentinus* est plante aromatique et médicinale commune dans le bassin méditerranéen et en Afrique septentrionale. La dénomination de cette plante diffère d'un pays à l'autre. Elle est nommée en France anacycle de valence, en Italie camomilla de Valencia et en Espagne manzanilla corda (Léger, 2007). En Algérie, la plante est connue sous le nom vernaculaire « Guertoufa » (Maiza *et al.*, 1993). Elle pousse spontanément sur les sols argileux des lieux incultes et sur les bords des chemins dans les Pyrénées (Julve *et al.*, 2015). Cette plante se reconnaît à ses gros capitules jaunes dépourvus de ligules apparentes.

##### 1.1.1. Classification taxonomique

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotyledones
<b>Sous Classe</b>	Gamopetales
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	<i>Anacyclus</i>
<b>Espèce</b>	<i>A. valentinus</i> L.

##### 1.1.2. Aspects botaniques

La principale particularité du genre *Anacyclus* est la présence d'ailes aplaties entourant les fruits. L'espèce, objet de notre travail, dont la floraison est entre Mars- Avril est une plante annuelle, à tige de 10 à 40 cm de hauteur, dressée et plus ou moins velue. Cette dernière, en s'épaississant au sommet, porte un capitule hémisphérique à fleur jaune toute tubuleuse (cf. fig.01). Les feuilles de la plante sont bipennatiséquées à lobes étroits mucronulés et les fruits sont des akènes (Hamzi et Belhadj, 2008 ; Julve *et al.*, 2015)



**Figure 1.** L'*Anacyclus valentinus*. Photo prise de la région d'Elbayadh (Algérie) en mars 2012.  
(Kambouche et al., 2013)

### 1.1.3. Aspects phytochimiques

Le genre *Anacyclus* a fait l'objet de quelques investigations chimiques, signalant la présence de nombreux types de métabolites secondaires à savoir les triterpènes, les stéroïdes, les coumarines, les lignanes, les polyacétylènes (alkamides) et les flavonoïdes. Parmi les composés isolés nous citons : lutéoline-7 à partir d'*A. clavatus* (Harald, 1978) ; campésterol, acidehexadécanoïque, acide tétradécanoïque et des monoterpènes à partir des fleurs d'*A. cyttropidioides* (Bergaoui et al., 2006) ; anacycline (iso butylamide) à partir des racines d'*A. perythrum* (Arnason et al., 1989).

L'anacycle de valence est l'espèce la moins étudiée parmi celles du genre *Anacyclus*. En effet, Harald (1978) a pu isoler à partir des feuilles de cette plante trois types de flavonoïdes : Lutéoline-7-glucoside, 7-rhamnosylglucoside et quercétine-7-glucoside.

### 1.1.4. Aspects pharmacologiques

Les espèces appartenant au genre *Anacyclus* ont fourni de nombreuses propriétés tels que l'effet insecticide (El Morsi et Hassanein, 1999), antibactérien (Selles *et al.*, 2013) et antifongique (Boungab *et al.*, 2011). Chez la population autochtone, *A. valentinus* est souvent utilisée dans les préparations culinaires, mais elle est également administrée pour les maux d'estomac (Hamzi et Belhadj, 2008).

D'autres travaux (Adnane et Arbaoui, 2008 ; Tadjeddine *et al.*, 2013) montrent son effet antidiabétique; elle possède également le pouvoir de solubiliser le cholestérol (Hacheimi et Kadi, 2009). Les travaux antérieurs réalisés sur les plantes de la famille des *Asteraceae* en particulier celles appartenant au genre *Inula* et *Anacyclus* ont mis en évidence leur richesse en métabolites secondaires tels que les huiles essentielles et les flavonoïdes.

### 1.2. La plante *Juniperus phoenicea*

Le nom «*Juniperus*» provient du mot celtique «*juneprus*» qui signifie âpre, à cause de la saveur des fruits (Garnier *et al.*, 1961; Bonnier, 1990). Ou encore *dejunio* et *pario*, l'arbre possédant à la fois des fruits jeunes et des fruits près de tomber (Garnier *et al.*, 1961). *Juniperus phoenicea* est une espèce répondeur sur tout le pourtour de la méditerranée. La dénomination de cette plante diffère d'un pays à l'autre. Elle est nommée en France Genévrier de Phénicie, en Italie Cedro licio et en Angleterre Phoenician cedar (Bonnier, 1990). En Algérie, la plante est connue sous le nom vernaculaire « Arar » (Quezel et Santa, 1962).

#### 1.2.1. Classification taxonomique

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous-Embranchement</b>	Gymnospermes
<b>Classe</b>	Conifères
<b>Ordre</b>	Coniférales
<b>Famille</b>	Cupressacées
<b>Genre</b>	<i>Juniperus</i>
<b>Espèce</b>	<i>J. phoenicea</i> (Quezel et Santa, 1962).

### 1.2.2. Aspects botaniques

L'espèce, objet de notre travail, est un arbrisseau, de 1 à 8 mètres de hauteur, ramifié dès la base et à houppier dense, allongé. L'écorce est brun-rouge, fibreuse, assez épaisse. Les feuilles persistantes opposées (rarement verticillées par trois), sont de deux sortes:

- Des feuilles en aiguilles (10×1 mm), piquantes, avec deux lignes blanches dessus et dessous, qui se trouvent uniquement sur les individus très jeunes ;
- Des feuilles en écailles, petites (1mm), ovales et bombées sur le dos, étroitement appliquées sur les rameaux, bordées d'une marge d'aspect cartilagineux.

Les fruits (automne de la deuxième année) sont globuleux, assez gros (8 à 10 mm), noirâtres quand ils sont jeunes, puis verts et enfin rouges sombres et luisants à maturité; ils renferment 7 à 9 graines (Becker et *al.*, 1982) (cf. fig.02).



**Figure 2.** Photo d'un rameau de *Juniperus phoenicea* L. (Becker et *al.*, 1982)

### 1.2.3. Aspects phytochimiques

Akrouit (1999) a déterminé la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Juniperus phoenicea*, récolté en Tunisie. L' $\alpha$ -pinène est le composé majoritaire avec une teneur de 67,71%. D'autres composés sont présents dans cette huile en quantités appréciables: le p-cymène (5,86%), le  $\beta$ -phellandrène (2,21%) et l'acétate d' $\alpha$ -terpényle (2,71%).

L'étude de Rozzi et *al.* (2002) sur variabilité chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Juniperus phoenicea* subsp. *turbinata* récolté dans différentes régions en Corse a permis de définir deux groupes d'huiles essentielles:

- Les huiles essentielles du groupe I sont caractérisées par une forte teneur en  $\alpha$ -pinène (58,7%).
- La composition chimique des échantillons du groupe II, est caractérisée par une faible teneur en  $\alpha$ -pinène (33,0%) et une teneur significative en  $\beta$ -phellandrène (21,1%) et en acétate d' $\alpha$ -terpényle (8,2%).

Par ailleurs, l'étude réalisée par Cavaleiro et *al.* (2001) sur la même sous-espèce récoltée en Portugal, leur a permis de distinguer trois groupes d'huiles essentielles:

- Le premier groupe est caractérisé par une prédominance en  $\alpha$ -pinène (teneur moyenne: 44,3%), suivi de  $\beta$ -phellandrène (teneur moyenne: 22,7%) et de l'acétate d' $\alpha$ -terpényle (teneur moyenne: 6,9%). Le rapport  $\alpha$ -pinène/  $\beta$ -phellandrène est proche de 2/1.
- Les huiles essentielles du groupe II sont aussi caractérisées par l' $\alpha$ -pinène (teneur moyenne: 27,8%), le  $\beta$ -phellandrène (teneur moyenne: 28,8%) et l'acétate d' $\alpha$ -terpényle (teneur moyenne: 10,5%), mais le rapport  $\alpha$ -pinène/  $\beta$ -phellandrène est proche de 1.
- Les échantillons appartenant au groupe III, sont dominés par l' $\alpha$ -pinène (teneur moyenne: 81,5%).

Barrero et *al.* (2006) ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea* L, récolté en Maroc. Les constituants majoritaires sont des hydrocarbures monoterpéniques : le  $\alpha$ -pinène (45,5%) et le  $\delta$ -carène (13,0%). Hayouni et *al.* (2007) ont également démontré que les solvants et la méthode d'extraction, influent significativement sur la teneur des polyphénols et les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) des extraits des fruits de *J. phoenicea* L récolté en Tunisie.

### 1.2.4. Aspects pharmacologiques

## **Synthèse bibliographique**

---

Les huiles essentielles de l'espèce *J. phoenicea* L., ont fourni de nombreuses propriétés biologiques telles que l'effet insecticide, antibactérien et antifongique. Selon Bouzouita et al. (2008), l'huile essentielle extraite des feuilles séchées de *J. phoenicea* a un effet inhibiteur vis-à-vis de quatre microorganismes, *Klebsiella oxytoca*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Geotrichum candidum*. Les propriétés insecticides de l'huile *J. phoenicea* sont également testées contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum*. Cette huile a manifesté un effet anti-appétant intéressant et montré une toxicité élevée vis-à-vis de cet insecte. De plus, l'efficacité des huiles essentielles des rameaux de la sous espèce *lycia* (*Juniperus phoenicea* ssp. *Lycia*) contre les champignons de pourriture du bois a été mise en évidence (Mansouri et al., 2011). L'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles *J. phoenicea* et *J. oxycedrus* a également montré que ces deux huiles sont actives uniquement sur la souche bactérienne *Enterococcus faecalis*, tandis la souche fongique *Penicillium* s'est révélée sensible uniquement à l'huile de *J. oxycedrus* (Mezari, 2009).

## **2. LES MOISSURES**

Les moisissures sont omniprésentes dans la nature. Les plus répandues sont les *Penicillium* et les *Aspergillus*. Elles sont aérobies strictes (Bouix et Leveau, 1993), capables de se développer sur toutes sortes de nourriture : céréales, viande, lait, fruits, légumes...etc (Filténborg et al.,1996). Hétérotrophes, peu exigeantes et possèdent un potentiel élevé de sécrétion d'enzymes exocellulaires (Bouix et Leveau, 1993). Certaines moisissures vivent en symbiose avec d'autres organismes : les plantes vertes (champignons mycorhiziens), les algues (lichens) et les bactéries. Beaucoup mènent une vie parasite vis-à-vis des animaux et des plantes, et s'attaquent aux végétaux en pleine croissance, aussi bien aux jeunes plantules qu'aux feuilles et aux fruits, et provoquent de sérieuses maladies (rouilles, mildious, etc.) (Bouix et Leveau,1993).

### **2.1. Les moisissures pathogènes**

#### **2.1.1. Les moisissures des céréales**

Dans le champ, les céréales sont principalement attaquées par les moisissures qui ont besoin pour leur croissance d'un facteur d'humidité élevé (de 0.88 au moins) tandis que pendant le stockage, les moisissures qui se développent supportent des degrés d'humidité moindres (FAO, 2003). Les céréales sont contaminées dès avant la récolte par une mycoflore dit du « champ » qui comprend un grand nombre d'espèces appartenant aux genre, *Alternaria*, *Cheatomium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium* ...etc (Belyagoubie, 2006). Les *Fusarium* sp, peuvent infecter les céréales à paille et le maïs. Ces moisissures produisent des mycotoxines notamment au niveau de l'épi au champ (Fabrice et Calair, 2006).

Les principaux groupes de moisissures susceptibles de se développer pendant l'entreposage sont les *Aspergillus* et les *Penicillium* (Aliou et Jan, 1991 ; FAO, 1995). Aux fortes teneurs en humidité, les *Fusarium* (champignon des plantes en plein champ) peuvent apparaître sur des céréales alimentaires en stockage (Aliou et Jan, 1991). Lors de la période de stockage, les *Fusarium*, très répandus dans le sol, ont des besoins en eau assez importants et ils fréquentent sur les cultures aux champs. Ce n'est pas le cas d'*Aspergillus* et *Penicillium* qui croissent plutôt sur les denrées stockées (Zaid et Pierre, 2011). Les

moisissures peuvent se développer rapidement sur les céréales et les maïs conservés dans des conditions humides. La microflore du blé, à la récolte, est composée d'un très grand nombre de genre de moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*) (Armand et Germain, 1992).

### **2.1.2. Moisissures des légumes secs**

Les grains à la récolte sont porteurs de moisissures champêtres, surtout adaptées aux conditions extérieures. Il s'agit essentiellement de *Fusarium*, qui peut dans certaines conditions produire au champ des mycotoxines toxiques. Ces dernières sont thermorésistantes, donc le séchage ne les détruit pas. Les précautions à prendre pour les éviter sont d'ordre agronomique en privilégiant les variétés résistantes, l'utilisation du labour avant le semis, un programme antifongique adapté et une rotation des cultures (Terrain et Grallet, 2003).

La flore intermédiaire regroupe les germes capables d'un développement limité en début de stockage, en conditions particulières et notamment sur grains suffisamment secs. *Cladosporium*, *Trichoderma*, et surtout les Mucorales comme *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor*, avec les levures *Candida*, *Torulopsis*, etc, sont les représentants habituels de cette flore intermédiaire, dont la mise en évidence révèle, très souvent, un stockage en conditions confinées et trop humides (Blanc et al., 2006).

La flore de stockage est composée d'espèces xérophiles adaptées à des substrats relativement secs, qui peuvent proliférer au cours du stockage (Feillet, 2000). *Penicillium* et *Aspergillus* ne se trouvent qu'en faible proportion sur les grains à la récolte, mais, adaptés aux substrats relativement secs, ils peuvent prendre leur essor au cours du stockage, alors que les autres espèces, plus hydrophiles, se multiplient moins activement ou régressent. Les origines du peuplement microbien sont multiples. Une grande partie des éléments qui le composent proviennent de la plante sur pied : c'est ainsi que des plantes fusariées peuvent donner des grains riches en *Fusarium* (Multon, 1982).

### **2.1.3. Aliments composés pour les animaux**

Les aliments composés peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition. Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de

fabrication ou pendant le stockage. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments composés appartiennent aux mêmes genres que ceux contaminant les céréales : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*.

Les études disponibles concernant l'évaluation du niveau de contamination fongique des aliments pour animaux concernent en général les aliments composés pour animaux monogastriques (volailles, porcs...) qui sont plus sensibles à l'action des mycotoxines que les ruminants. Malgré les processus technologiques permettant souvent la réduction de la contamination fongique à cause de l'élévation de température (pendant la granulation par exemple), les résultats disponibles montrent souvent une contamination fréquente par de nombreuses espèces fongiques (AFSSA, 2006).

### 2.1.4. Autres végétaux

Les moisissures sont fréquemment retrouvées dans les céréales, mais elles peuvent aussi se développer sur d'autres végétaux destinés à l'alimentation humaine ou animale (légumes, fruits). En 2003-2004 en Lituanie, (Lugauskas et al., 2005) ont analysé la contamination mycologique de légumes nouvellement récoltés puis après stockage. Le but de l'étude était de détecter des espèces fongiques capables de synthétiser les métabolites toxiques. Des échantillons de carottes, d'oignons et de choux ont été prélevés dans des entrepôts. *Penicillium expansum*, *P. nalgiovense* et *P. verrucosum* ont été retrouvés sur les carottes, *P. expansum* sur les oignons et *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium funiculosum* et *P. expansum* sur les choux. La fréquence de contamination des légumes était importante (Lugauskas et al., 2005).

## 2.2. Les facteurs de développement des moisissures

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes: elles peuvent se développer seulement si le milieu lui apporte les éléments nutritifs nécessaires. La paroi rigide de la cellule fongique l'empêche de phagocyter les substances nutritives complexes du milieu; la moisissure est obligée les transformer préalablement en molécules simples absorbables. Ceci est rendu possible grâce à des dépolymérases qui sont excrétées dans l'environnement. Sous leurs actions les polymères complexes sont transformés en molécules simples (monosaccharides, acides gras, acides aminés). (Tabuc, 2007)

Comme tout micro-organisme, la croissance fongique est aussi dépendante d'un certain nombre de paramètres intrinsèques et extrinsèques du milieu. Les facteurs qui contribuent au premier chef à la biodétérioration (dont fait partie le développement de moisissures) d'un écosystème sont l'humidité, la température et les ravageurs (FAO, 2003). Par conséquent, les moisissures sont des microorganismes ubiquistes, peu exigeants quant à leur environnement et capables de se développer dans une large gamme de conditions environnementales et sur de nombreux substrats. Le développement incontrôlé de ces contaminants peut entraîner une altération de l'aspect des aliments et en modifier la qualité organoleptique. Dans certaines conditions, ce développement fongique peut aussi conduire à la production et à l'accumulation dans les aliments de métabolites secondaires zootoxiques: les mycotoxines. (Tabuc, 2007)

### **2.2.1. Température et humidité**

Le développement de moisissures dépend de plusieurs facteurs : l'humidité, la température et la présence de spores et d'éléments nutritives. La température et l'humidité conditionnent leurs proliférations, il est généralement admis que, à température ambiante, les moisissures ne peuvent proliférer que si l'humidité relative locale dépasse 80% pendant plusieurs semaines. L'humidité relative locale dépend de l'humidité absolue de l'air intérieur et de la température locale (Claude, 2004). Les moisissures se développent le mieux dans une atmosphère chaude et humide. Elles se développent même à basse température si l'humidité relative de l'air est élevée, c'est-à-dire si l'air contient beaucoup de vapeur d'eau. Une atmosphère sèche prévient la germination des spores et par conséquent le développement de moisissures. Cependant, elle ne tue pas les spores qui sont très résistante aux conditions sèches (Inge, 2004). La prolifération des moisissures dépend de la teneur en eau des grains, de leurs températures et de l'importance des dommages physiques qu'ils causent. Dans certaines circonstances, le développement de mycotoxines peut constituer un danger particulier (FAO, 1995). L'humidité et la température favorisent le développement des moisissures sécrétant des mycotoxines qui constituent actuellement un problème de santé public (Abdoulayes, 2012)

Dans les céréales, les moisissures utilisent la vapeur d'eau présente dans les interstices entre les grains dont la concentration est déterminée par l'équilibre entre l'eau libre

contenue dans le grain (la teneur en eau du grain) et l'eau présente sous forme de vapeur autour du grain. La concentration de l'eau interstitielle est désignée soit par les termes d'humidité relative d'équilibre (exprimée en pourcentage), soit par ceux de facteur d'humidité (FAO, 2003).

- Atmosphère de lot de stockage

Le développement des moisissures est aussi en fonction des proportions d'oxygène, d'azote et de dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère interstitielle. De nombreux champignons se développent malgré des teneurs très faibles en oxygène; la croissance linéaire n'est divisée par deux, par exemple, lorsque la teneur en oxygène est réduite à moins de 0,14%. Les interactions entre les gaz et l'humidité influencent également le développement des moisissures (FAO, 2003). Les moisissures sont des organismes vivant qui ont besoin d'oxygène pour se développer. La faible teneur en oxygène peut stopper le développement des moisissures mais l'absence de l'oxygène permet en outre, de bloquer la respiration du grain lui-même et donc sa dégradation interne (Aliou et Cruz, 1989).

### **2.2.2. Les vecteurs**

Les petits vertébrés sont de grave cause d'altération par la consommation qui font des denrées par les souillures et contamination microbiologiques diverses dont ils sont les vecteurs. Les rats et les souris peuvent provoquer des dégâts considérables, non seulement par les pertes en grains consommés mais surtout par la contamination microbienne et par leurs activités biologiques qui produisent des déchets (fines farines) et dégagements de chaleur et de vapeur d'eau. Les moisissures se disséminent par l'intermédiaire de leurs spores transportées par l'air ou véhiculées par les insectes. Les mycotoxines se concentrent volontiers dans ces spores, contaminants l'air respirable, adsorbées sur des particules organiques ou par la poussière (Pierre, 2000 ; Zaid et Pierre, 2011). Enfin, les moisissures peuvent servir de nourriture pour les insectes et les mites, mais, dans certains cas, être pour eux des agents pathogènes (FAO, 2003).

### **2.2.3. Etat des grains**

L'autre facteur susceptible d'influer sensiblement sur le développement des moisissures est la proportion de grains brisés se trouvant dans un lot de céréales. Ces grains,

endommagés par la moisissure ou les insectes (FAO, 2003), et les différents impuretés (poussières, farines, pailles) et les grains briser sont plus facilement attaqués par les moisissures et les insectes et constitue pour les stocks des foyers d'infestation privilégiés (Aliou et Cruz, 1989).

### **2.3. Effets néfastes**

#### **2.3.1. Maladies fongiques**

La pourriture racinaire, la pourriture de pied et la pourriture commune, sont des noms qui se rapportent à une même maladie d'origine fongique (*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*, *Cochlibolus sativus*) et qui peut affecter le blé et l'orge. La pourriture racinaire est répandue dans toutes les régions du Maghreb. Des réductions en rendement de grain, en poids de grains, en émergence des plantules, en nombre de talles et d'épis, sont souvent rapportées (Sayoud et *al.*, 2008).

#### **2.3.2. Sécrétion des mycotoxines**

Mycotoxines, mot formé à partir de mycose, qui veut dire champignon en grec, et de toxium, poison (Zaid et Pierre, 2011). Le terme mycotoxine est utilisé pour désigner les toxines produites par les champignons microscopiques (Henri et *al.*, 1992). Ce sont des substances élaborées par des champignons dont la toxicité ne s'exerce sur la plante hôte, mais sur les consommateurs (Royer, 1990). La production de mycotoxines est directement liée à la croissance fongique. Par conséquent, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique vont aussi jouer un rôle sur la toxinogénèse. De manière générale, les conditions environnementales nécessaires à la production de mycotoxines sont plus étroites que celles permettant la croissance fongique et sont, le plus souvent, proches des conditions optimales de développement de l'espèce considérée (Tabuc, 2007).

En générale, les mycotoxines transférées dans la chaîne alimentaire sont en quantité très faibles, de l'ordre du nanogramme par kilogramme (ng/kg) (Zaid et Pierre, 2011). On distingue deux types d'accidents : les accidents aigus font suites à l'ingestion d'une grande quantité de mycotoxines et une maladie chronique qui fait généralement suit à l'ingestion de mycotoxine en faible quantité mais sur une long période, cette chronique provoque un affaiblissement du système immunitaire (Gury, 1997), à des effets délétères sur le système

## Synthèse bibliographique

nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil respiratoire, ainsi que sur l'appareil digestif. Elles peuvent aussi avoir des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs (FAO, 2003). Le Tableau suivant (cf. tableau 1) représente les principales mycotoxines dans le monde.

**Tableau 1.** Les principales mycotoxines dans le monde

Espèce de moisissure	Mycotoxines engendrées	Les denrées
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2	Oléagineux, pastiches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1, B2	Oléagineux, pastiches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctus</i>	Trichothécenes (Toxine T-2, DON...)	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Fusarium graminearum</i>	Déoxynivalénol (ou nivalénol), Zéaralénone Trichothécenes (Toxine T-2, DON...)	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Fusarium moniliforme</i> ( <i>F. verticillioides</i> )	Fumonisine B1	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium crookwellense</i>	Zéaralénone Trichothécenes (Toxine T-2, DON...)	Blé, Orge, maïs, riz, seigle, avoine
<i>Aspergillus niger</i>	Ochratoxine A Fumonisine B2	Oléagineux, pastiches, épices, maïs, sorgho, grains de coton,
<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Aspergillus carbonarius</i> <i>Claviceps</i>	Ochratoxine A Alcaloïdes de l'ergot	Oléagineux, pastiches, épices, sorgho, céréales, café. Blé et dérivés, seigle
<i>Pithomyces bakeri</i> ( <i>Sporidesmium</i> )	Sporidesmine	Divers graminées
<i>Acremonium</i> sp.	Une neurotoxine	Riz et autres céréales
<i>Penicillium islandicum</i>	Lutéoskyrine	Riz et autres céréales
<i>Alternaria</i>	Alternariol, acide tenuazonique	Fruits (pomme et tomate) et légumes.
<i>P. expansum</i> , <i>A. clavatus</i> ,	Patuline	

Source : ( Royer, 1990. Keon et proost, 2002 ; FAO, 2003. Christine.2010. Zaid et Pierre 2011)

### **2.3.3. Contamination de la chaîne alimentaire**

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes qui peuvent se développer sur une grande variété de substrats. Les espèces de moisissures les plus fréquentes retrouvées dans les aliments appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Ces moisissures peuvent proliférer et produire des mycotoxines avant ou après la récolte, pendant le stockage, le transport, ou la transformation des matières premières et des aliments (Tabuc, 2007).

- Contamination de céréales et produits végétaux

Les céréales sont sans doute les denrées alimentaires les plus fréquemment contaminées par les moisissures. La contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage, du stockage et après transformation des graines. Si de très nombreuses études sont disponibles concernant la contamination mycotoxique des céréales, les enquêtes sur la contamination fongique de ces matières premières sont plus rares. De manière schématique, elles mettent en évidence une relation entre la flore fongique et les conditions climatiques pendant le développement et/ou le stockage des grains. (Tabuc, 2007)

- Aliments composés pour les animaux

Les aliments composés peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition. Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments composés appartiennent aux mêmes genres que ceux contaminant les céréales : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les études disponibles concernant l'évaluation du niveau de contamination fongique des aliments pour animaux concernent en général les aliments composés pour animaux monogastriques (volailles, porcs...) qui sont plus sensibles à l'action des mycotoxines que les ruminants. Malgré un processus technologique permettant souvent la réduction de la contamination fongique à cause de l'élévation de température (pendant la granulation par exemple), les résultats disponibles

montrent souvent une contamination fréquente par de nombreuses espèces fongiques (Tabuc, 2007).

- Produits alimentaires à base de céréales

Les céréales représentent une matière première importante pour l'alimentation. Elles sont transformées en farines à partir desquelles sont élaborés de nombreux aliments finis comme produits issus de la panification, de la biscuiterie, les céréales pour le petit déjeuner, les gâteaux... Ces produits, comme les aliments composés pour les animaux, peuvent être contaminés soit par les spores qui se trouvent initialement dans les céréales, soit plus tard, pendant le stockage. Les principales espèces de moisissures qui les contaminent appartiennent toujours aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les données concernant la contamination fongique de produits alimentaires à base de céréales ne sont pas nombreuses. En effet, les recherches sont, en général, orientées directement vers l'analyse de la présence de mycotoxines dans ces produits. De plus, la nature des procédés de fabrication implique souvent la réalisation de traitements thermiques suffisants pour détruire les spores fongiques présentes. Il peut néanmoins se poser la question de recontamination de ces produits après le traitement thermique et le développement des moisissures pendant le stockage (Tabuc, 2007).

- Produits affinés d'origine animale

Les moisissures participent directement au processus de fabrication de nombreux aliments transformés d'origine animale. Ainsi, il s'agit d'auxiliaires de fabrication indispensable à la fabrication fromagère ainsi qu'à l'acquisition des qualités organoleptiques des produits de salaison sèche. Par conséquent, ces aliments représentent, par définition, un substrat favorable au développement fongique et posent donc un double problème en termes de santé publique : l'innocuité des souches fongiques utilisées en tant que ferment (absence de pouvoir toxigène notamment), et le développement possible d'une flore contaminante potentiellement capable d'altérer le produit et/ou de produire des métabolites toxiques (Tabuc, 2007).

En effet, le lait est, en général, peu contaminé. Les conditions de pasteurisation et/ou stérilisation, de conditionnement et de stockage ne permettent pas de contaminations

ultérieures. Les produits laitiers comme les yaourts ou les fromages sont, eux, beaucoup plus sensibles aux contaminations fongiques (Tabuc, 2007).

### 3. LA LUTTE CONTRE LES MOISSURES PATHOGENES

La protection des plantes peut être divisée suivant cinq approches (cf. fig.03) : la lutte chimique, la lutte physique, les biopesticides, la lutte biologique et les facteurs humains qui interviennent pour limiter le recours aux produits chimiques ou pour l'encourager.

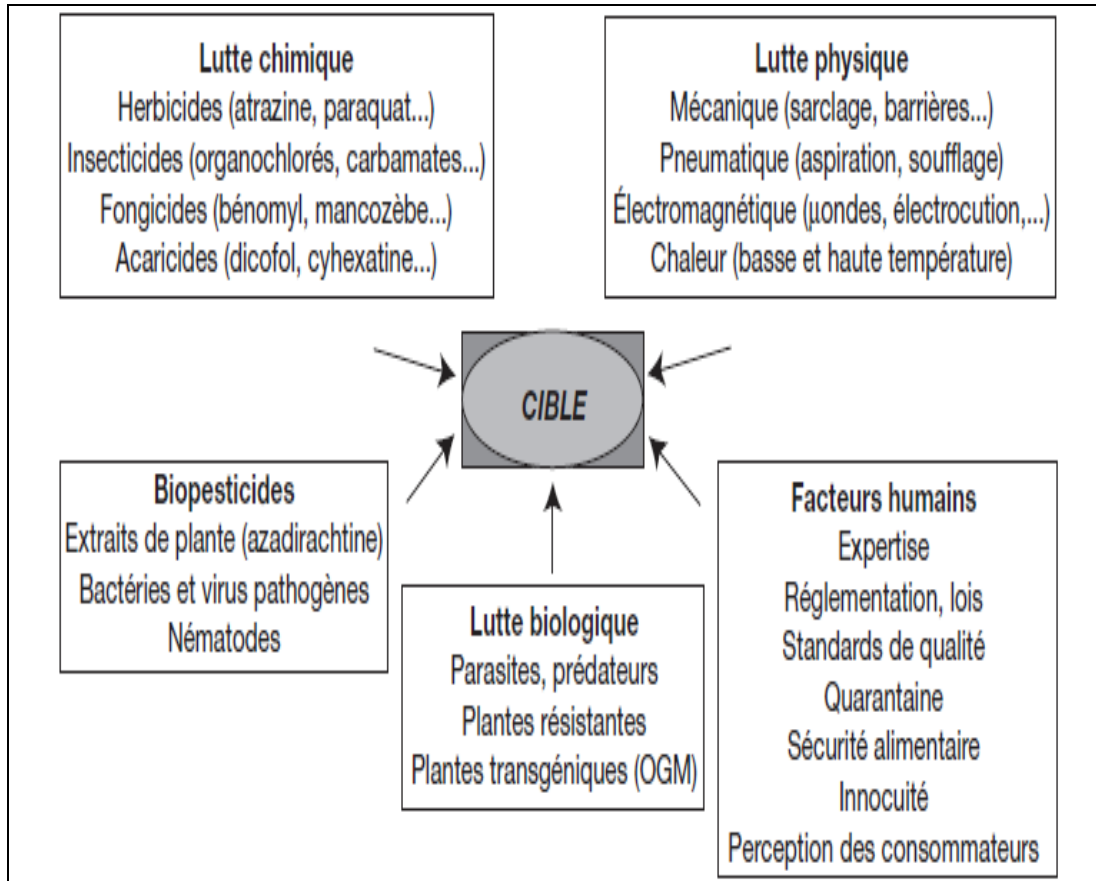


Figure 3. Les cinq approches de la protection des cultures (Vincent et al., 2000).

#### 3.1. Lutte chimique

La lutte contre les moisissures pathogènes a été menée avec le soufre et de divers sels de cuivre. Les fongicides organiques développés en deuxième moitié du XX<sup>ème</sup> siècle sont nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques, ce sont, par exemple, des composés hétérocycliques, des strobilurines, des stimulateurs de défense naturels ...etc. signalons que le soufre et le cuivre restent encore d'excellents fongicides et sont toujours utilisés (Roaul et al., 2005). Les fumigants diffusent dans la masse des denrées et sont ensuite éliminés par aération. Le phosphore d'hydrogène est actuellement le plus utilisé,

laissant peu de résidus (à la limite de la méthode de dosage), il est produit à partir de phosphore d'aluminiums ou de phosphore de magnésium et de la vapeur d'eau atmosphérique. Il est très toxique lors de sa manipulation. Deux mécanismes sont possibles pour le stockage en silos : la voie chaude qui crée un séchage, la voie froide plus nouvelle. Cette dernière présente de nombreux avantages au point de vue qualitatif, énergétique et économique (Vierling, 2008).

L'utilisation des produits chimiques pour le stockage des semences est très répandue, mais peut être évitée dans la plupart des cas. Les fongicides peuvent également faciliter le stockage, mais compte sur un bon séchage (Harry, 2004). Les avantages de cette pratique sont liés à sa faible cout, à sa facilité de la mise en œuvre et à la durée de la protection qui se prolonge plusieurs mois, jusqu'à ce que les niveaux de résidus encore active ne deviennent inférieure au seuil pour les espèces ciblées (Bernard et *al.*, 2000). Dans de nombreuses situations, l'utilisation de fongicide est inutile et accroît les risques de pollution d'environnement (Davide et Hervé, 2011).

### **3.2. Lutte physique**

La lutte physique en protection des plantes regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action primaire ne fait intervenir aucun processus biologique ou biochimique. L'utilisation de méthodes de lutte physique doit s'inscrire dans une démarche de lutte intégrée. En effet, comme toute méthode de lutte, les méthodes physiques ont leurs forces et leurs faiblesses et certaines sont susceptibles d'avoir des effets secondaires sur la faune et la flore. De plus, il n'existe pas de technique de lutte physique ayant le potentiel de devenir la seule technique nécessaire (ou suffisante) pour tous les traitements phytosanitaires sur une culture donnée. Il convient de distinguer deux types fondamentaux de méthodes en lutte physique : les méthodes actives et les méthodes passives. Les méthodes actives utilisent de l'énergie au moment de l'application pour détruire, blesser ou stresser les ennemis des cultures, ou pour les enlever du milieu. Ces méthodes n'agissent qu'au moment de l'application et ne présentent pratiquement pas de rémanence. Les méthodes passives procèdent par une modification du milieu et ont un caractère plus durable. On peut aussi classer les méthodes physiques selon le mode d'utilisation de l'énergie (Vincent et *al.*, 2000).

En phytopathologie, on retrouve moins de travaux scientifiques concernant la lutte physique. Par exemple, l'utilisation des films de polyéthylène ayant des propriétés filtrantes à l'égard de parties spécifiques du spectre de lumière solaire. C'est donc une technique passive faisant appel à une barrière physique. Le traitement des semences de blé à l'aide de micro-ondes pour le contrôle de *Fusarium graminearum* a été évalué (Reddy *et al.*, 1996). Des essais similaires ont été réalisés par ces auteurs pour l'inactivation d'*Ustilago nuda* sur des graines d'orge. Dans la culture de la pomme de terre, on utilise souvent un fongicide en complément du défoliant chimique comme mesure sanitaire prévenant la transmission de l'infection par *Phytophthora infestans* à la prochaine production. Le défanage thermique, qui remplace la défoliation chimique, réduit significativement la viabilité de *P. infestans* présent dans les feuilles au moment du défanage (Désilets *et al.*, 1996). Les usages de la lutte physique en post-récolte se sont développés à travers les procédés de contrôle des conditions physiques dans les masses de grain stockées (température et teneur en eau), les chocs thermiques ou mécaniques. De plus, les méthodes physiques les plus accessibles pour cette lutte raisonnée, comme les traitements par la chaleur sèche ou la conservation hermétique sous gaz inerte, devraient être bénéfiques sur le plan de la réduction du risque secondaire de détérioration des denrées brutes par les moisissures de stockage, ce qui n'est pas le cas de la lutte chimique (Vincent *et al.*, 2000).

### 3.3. Lutte biologique

La lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes est définie comme l'utilisation de processus biologiques pour diminuer la densité d'inoculum des agents pathogènes dans le but de réduire leur capacité à induire la maladie. Les principaux critères de sélection d'un agent de lutte biologique contre des agent pathogènes des plantes sont : la stabilité génétique de la souche, son efficacité à faible concentration et le grand nombre d'agent pathogènes, ses faibles exigences nutritionnelles, sa capacité d'adaptation et de suivre aux conditions environnementale, la possibilité de production de masse à faible cout, son absence de toxicité sur d'autres organismes, sa résistance aux pesticides et sa compatibilité avec d'autre traitement (cf. tableau 2) (Lydie, 2010).

**Tableau 2.** Exemples de biopesticides développés pour le contrôle des ennemis et compétiteurs des plantes cultivées (Vincent *et al.*, 2000).

Bactéries entomopathogènes	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Mycopesticides	<i>Metarhizium anisopliae</i> et <i>M.flavoviride Beauveria bassiana, B.brognardtii, ect.</i>
Virus entomopathogènes	Baculovirus (carpovirusine)
Bioherbicides	<i>Colletotrichum</i> sp
Microorganismes antagonistes de maladies	<i>Trichoderma viridae ; Gliocladium</i> sp ; <i>Pseudomonas</i> sp.
Nématodes entomopathogènes	genres <i>Steinernema</i> et <i>Heterorabditis</i>

En pratique, l'application de la lutte biologique repose souvent sur une multitude d'actions et d'informations complexes et fines. La lutte biologique est séduisante sur le plan scientifique et écologique et son image plaît au grand public. On distingue plusieurs stratégies d'application en lutte biologique. La première stratégie, l'exploitation de biocides inertes, est l'approche « biopesticide ». La seconde stratégie est l'exploitation de biocides autonomes, que l'on peut relâcher selon une stratégie de lutte classique, inoculative ou inondative. Il est également possible de favoriser la lutte biologique en intervenant sur le milieu. La variation entre les organismes est une caractéristique inhérente et fondamentale des organismes biologiques et constitue une des limites importante de la lutte biologique (Vincent *et al.*, 2000). Parmi les méthodes de lutte biologique, les biopesticides occupent une place de choix car ils se prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie et ils s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel ce qui en facilite l'adoption par les producteurs agricoles (cf. tableau 2). Ils sont généralement compatibles avec des méthodes de lutte biologique, même s'ils peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes utiles (Giroux *et al.*, 1994 ; Roger *et al.*, 1995). Les biopesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes. Il y a plusieurs façons d'améliorer l'efficacité des biopesticides. On peut trouver des souches plus virulentes. On peut aussi travailler à des formulations prolongeant la rémanence au champ ou incorporant des produits synergistes qui, étant eux-mêmes non toxiques aux doses utilisées, augmentent de beaucoup l'effet toxique du

biopesticide (Bernard et Philogène, 1993). Certains champignons hyperparasites d'agents pathogènes font également l'objet de recherches intensives : *Ampelomyces quisqualis*, *Tilletiopsis*, *Verticillium lecanii* et *Stephano ascus*, pour ne citer que les plus répandus. Des mutants résistants à la sécheresse sont également recherchés pour favoriser l'action de ces hyperparasites sur les champignons pathogènes. Les réductions de l'usage des fongicides peuvent être de l'ordre de 50 % sachant qu'il est impossible de concevoir la lutte contre les mycopathogènes de la vigne par exemple avec moins de 5 à 8 applications de fongicide dans la phase de végétation de la plante (Vincent et al., 2000).

### 3.3.1. Biopesticides : cas des huiles essentielles

Des études fondamentales (*in vitro*) ont également montré que la phase volatile des huiles essentielles (alcools et lactones sesquiterpiniques) provoque un effet fongistatique par inhibition de croissance, ce qui permettrait le contrôle de la prolifération et surtout de dissémination des champignons opportunistes allergisants. On pourrait alors envisager une utilisation préventive d'huile de l'atmosphère des locaux (Daniel et al., 2008).

Une huile essentielle (ou essence) est un produit huileux ; volatil ; odorant ; que l'on retire des végétaux généralement par distillation. Toutes les plantes ne secrètent pas de huile essentielle ; certaines espèces contiennent vraiment des huiles essentielles ; d'autres n'en ne contiennent pas. Parfois huile essentielle est présent dans la plante entière ; parfois elle n'est présentée que dans une partie de la plante. De plus ; huile essentielle contenue dans les feuilles n'est pas forcément contenue dans les fruits de la même plante ; l'utilisation des huiles est donc complexe ; il faut bien connaître la plante et leurs propriétés (Laurence et Nathahie, 2009).

Les principales familles végétales susceptibles de donner des huiles essentielles sont : les abietacées (le plus connu est le *Pinus pinaster* qui produit la térébenthine), les cupressacées (thuya cyprès), les lamiacées qui est l'une des plus importantes familles pour les huiles essentielles (lavande, menthe, origan...), les myrtacées (eucalyptus, myrtes), les lauracées (cannelles, laurier de noble), les rutacées (citron, orange douce et amers...), les éricacées (gaulthérie et lédon), les astéracées (camomille, estragon, inule odorante, santoline), les poacées (le mon grasse, citronnelle), les rosacées (rose) (Homsy, 2009). Pour la même espèce, la composition varie selon le climat, de l'origine géographique, du

mode de culture, de la saison, de la récolte, de la partie de la plante utilisée, des matériels et des techniques employées pour la préparation des huiles essentielles (Jean-Claude, 2002).

Les composés actifs, de même que l'équipement enzymatique d'une plante, sont déterminés génétiquement et écologiquement, ils sont donc susceptibles de varier en fonction des conditions écologiques, pédologiques, climatiques, de l'altitude, de l'ensoleillement, du stade de développement botanique (période de récolte : avant ou après floraison), la biosynthèse s'oriente alors vers la formation préférentielle d'un constituant aromatique actif. Ces différences peuvent totalement changer les propriétés pharmacologiques d'huile essentielle. Ces différences chimiques (chimotype= type chimique), donc pharmacologique, doivent impérativement être prises en compte dans l'utilisation d'huile essentielle (Daniel et *al.*, 2008).

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les moisissures phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis- Balchin, 2002). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiaceae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc..., étant donnée la grande complexité de la composition chimotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou et *al.*, 1988). Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique: Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers>Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne

les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol > thymol > isoeugénol > eugénol) (Ullree et *al.*, 2002).

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de Chao et *al.* (2000), ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

---

## *Partie expérimentale*

---

## 1. MATÉRIEL

Le présent travail a été effectué en laboratoire de Biologie/Agronomie, Université Amar Telidji-Laghouat, durant le période (de Janvier jusqu'à Avril).

### 1.1 Matériel végétal

Les plantes qui ont fait l'objet de notre étude sont *J. phoenicea* et *A.valentinus* (fig. 04 ; et fig. 05).



**Figure 4.** Photo d'un rameau de *J. phoenicea* L. (Becker et al., 1982)



**Figure 5.** la plante *A.valentinus* (Kambouche et al.,2013).

#### 1.1.1. Lieu et période de récolte

Les parties aériennes des plantes *A.valentinus* et *J. phoenicea* ont été récoltées durant le mois Avril 2016 dans les régions de Hassi R'mel et Aflou, Laghouat, respectivement. Le matériel végétal est séché à la température ambiante et à l'abri de la lumière dans un endroit sec et aérer pendant deux mois. Après le séchage, les plantes sont récupérées dans des sacs en papier propres pour servir ultérieurement à l'extraction des huiles essentielles.

### 1.2. Matériel fongique

Le tableau suivant représente les sept moisissures utilisées dans cette étude qui sont des souches fongiques responsables des dégâts considérables qu'ils causent aux cultures des céréales, des fruits et des légumes sur champs et en stockage.

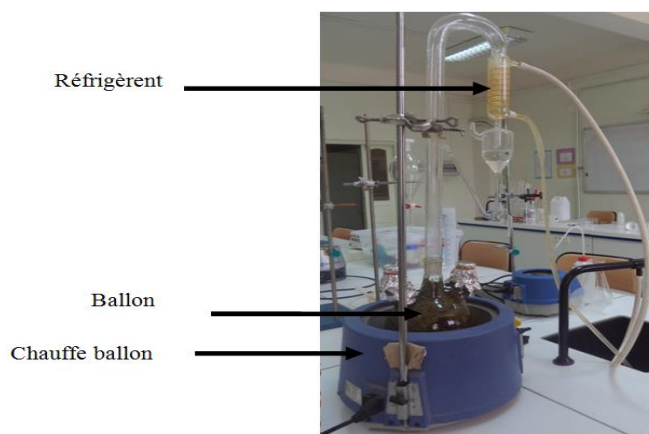
**Tableau .3** Les souches fongiques utilisées dans l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*A.valentinus* et de *J. phoenicea*

Souches	Référence	Origine
<i>Fusarium graminearum</i>	MUCL 53452	Collection BCCM (Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms)
<i>Fusarium moniliforme</i>	MUCL 53645	
<i>Penicillium citrinum</i>	MUCL 31475	
<i>Penicillium expansum</i>	MUCL 29192	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	NRRL 3174	Collection ARS culture collection (NRRL)
<i>Aspergillus flavus</i>	NRRL 3251	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	CBS 100926	Collection CBS Culture Collections of Micro-Organisms

## 2. MÉTHODES

### 2.1. Procédé d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation utilisant un appareil de type Cleverger (cf. fig.06). 150 grammes du matériel végétal sont mises dans un ballon à fond rond et additionnés à l'eau distillé (1500 ml), puis sont portés à l'ébullition pendant 4 h à l'abri de la lumière (Kalimouni, 2010). L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le réfrigèrent. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide. L'huile extraite est conservée à 4°C dans l'obscurité.



**Figure 6.** Dispositif d'hydrodistillation (Photo originale 2017)

## **2.2. Calcule du rendement**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traité.

$$\mathbf{Rd \% = (m_1 \times 100)/m_0}$$

$m_0$  : masse en gramme de la matière végétale sèche

$m_1$  : masse en gramme d'huile essentielle

Rd : Le rendement en huile essentielle.

## **2.3. Détermination de la composition chimique d'huile essentielle**

Les échantillons des huiles essentielles ont été envoyés au laboratoire de chimie analytique, Faculté des pêches, Université de Cukurova, Turquie, pour déterminer la composition chimique de l'huile sur la chromatographie en phase gazeuse (CG) couplée à la Spectrométrie de masse (SM) de type Perkin Elmer Clarus 500 (CG - SM), équipé d'une colonne SGE (60 m. 0,25mm ID. BPX5 0,25um, USA). L'appareil comprend deux injecteurs capillaires améliorés, split/splitless (PSS) et sur colonne (POC). La température de la colonne est programmée de 60 à 250 °C pendant 10 min à raison d'une montée de 4 °C. La température d'injection est réglée à 240°C. Le gaz utilisé est l'hélium avec un débit de 1.5 ml/min. La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70eV. La gamme de masse scannée est de 35-425 m/z. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse Nist et Wiley. L'huile essentielle est diluée dans du n-hexane (1%, v/v) avant de procéder aux analyses CG/SM. Le volume injecté est 1 µl.

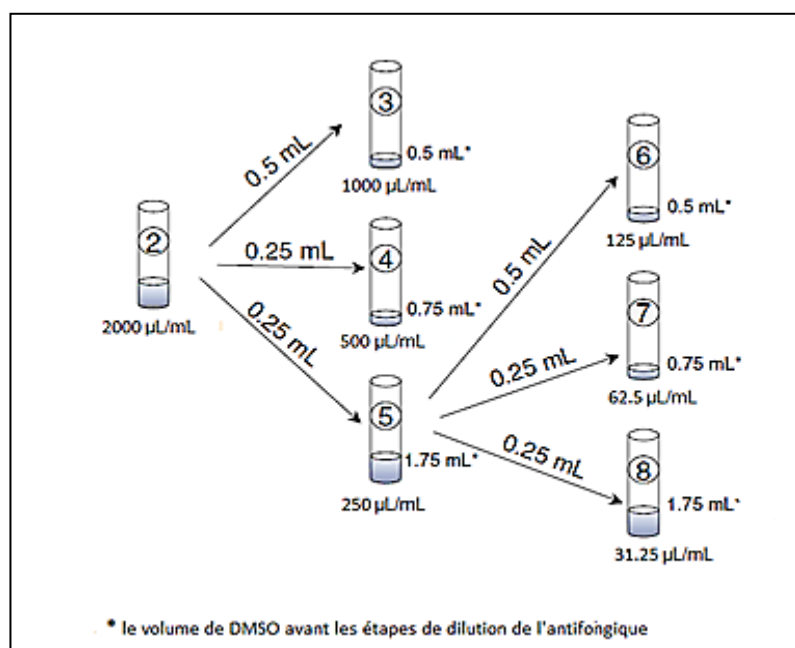
## **2.4. L'étude de l'activité antifongique**

### **2.4.1. Préparation des dilutions des huiles essentielles**

L'activité antifongique des huiles essentielles d'*A. valentinus* et de *J. phoenicea* a été évaluée selon la méthode de macro-dilution en milieu liquide M38-A préconisée par CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (Espinel-Ingroff et Cantón, 2007). Les dilutions de l'agent antifongique insoluble dans l'eau sont préparées à l'aide d'un solvant de type DMSO (Sigma 34943).

Il est important de noter que dans cette étude trois préparations ont été effectuées : des dilutions pour chaque huile essentielle séparée et des dilutions pour une combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration de 2/8 (v/v). Notons que cette concentration a été déterminée selon le rendement de chaque plante en huile essentielle.

Sept tubes ont été étiquetés de 2 à 8, puis des quantités appropriées de DMSO ont été ajoutées selon le protocole décrit ci-dessous (cf. fig.07). À partir de tube (2) qui représente la solution stock de l'huile essentielle ou de la combinaison des deux huiles (2000 µl/ml), des dilutions ont été préparées selon le protocole décrit dans la Figure 6. Après agitation au vortex, un volume 1 ml a été constaté dans tous les tubes.

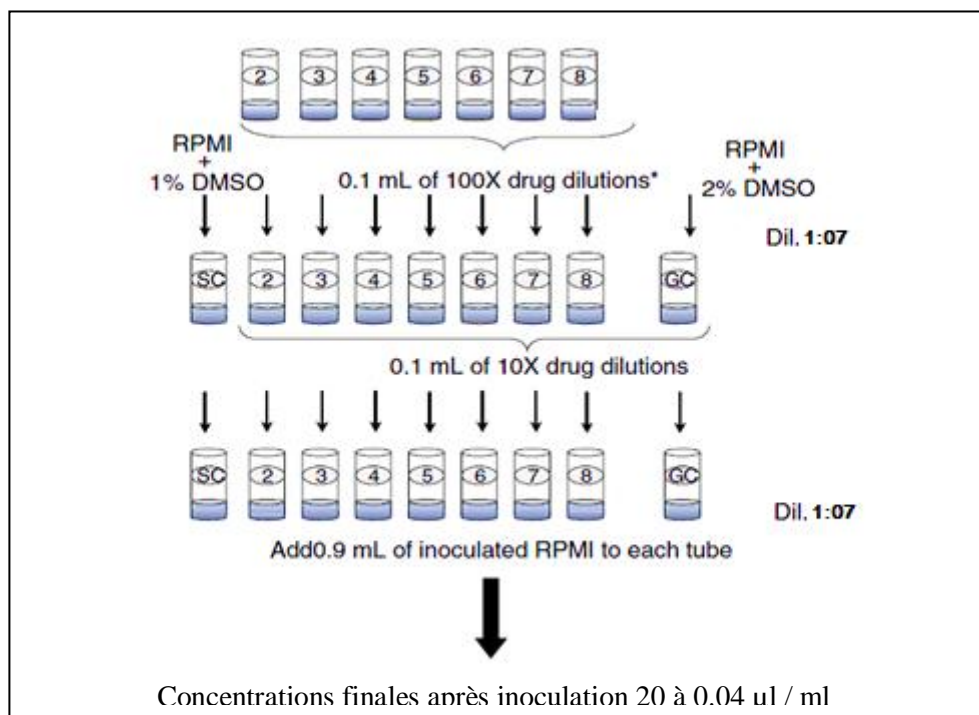


**Figure 7.** Les dilutions de l'agent antifongique insoluble dans l'eau (Espinel-Ingroff et Cantón, 2007)

### 2.4.2. Préparations des tubes CMI de l'huile essentielle

Les tubes contenant les dilutions de l'antifongique (1 ml) ont été placés d'une manière organisée, de la concentration la plus élevée vers la plus basse. Sept nouveaux tubes ont été rangés en étiquetant avec la concentration de l'antifongique finale de 20 à 0.04 µl/ml. Le milieu de culture RPMI1640 (avec de la glutamine, sans bicarbonate, et avec un indicateur de pH, Sigma R6504) est le milieu recommandé par la norme M38-A (Espinel-Ingroff et Cantón, 2007) pour les tests de sensibilité des moisissures (cf. Annexe n° 1). Le milieu a été tamponné avec un tampon de type MOPS (Sigma M3183) (0.164 mol/L).

Une dilution de 1:10 a été préparée en ajoutant 0.9 ml de RPMI 1640 au 0.1 ml de chaque dilution de l'antifongique. Notons, que neuf séries de tubes CMI sont préparées avec ces volumes. Enfin, à l'aide d'une micropipette, 0.1 ml a été distribué à nouveau de chaque concentration dans le fond de chaque tube à essai stérile en commençant par la plus faible concentration. Ensuite, chaque tube est ensemencé avec 0.9 ml de l'inoculum correspondant, et la concentration finale de DMSO est de 1% (cf. fig.08).

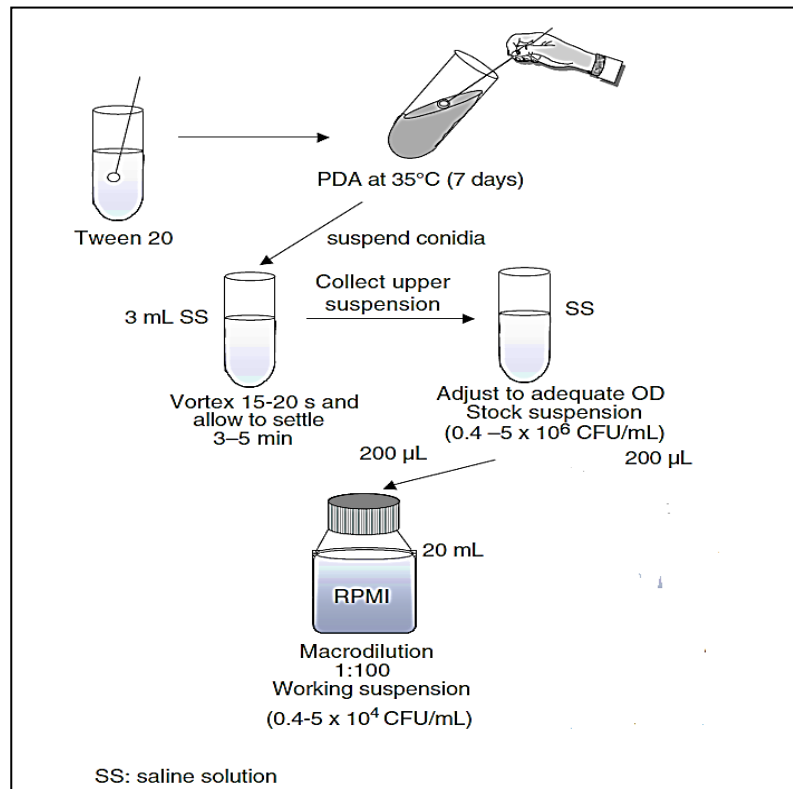


**Figure 8.** Préparation des tubes CMI de l'agent antifongique insoluble dans l'eau  
(Espinel-Ingroff et Cantón, 2007)

### 2.4.3. Préparation des suspensions fongiques

Pour chaque moisissure, l'inoculum est préparé à partir d'une culture de 7 à 14 jours en milieu PDA à 25°C. Les spores ont été récupérés en imbibant un écouvillon stérile avec du Tween 20 et le transféré dans 3 ml de solution saline stérile 0.9% (cf. fig.08). Pour empêcher l'agglutination des spores, la suspension de spores est mélangée vigoureusement à l'aide d'un vortex pendant 15-20 secondes, puis le surnageant est transféré dans un tube stérile en ajustant la densité optique (DO) à l'aide d'un spectrophotomètre (Jenway, 6405 UV/VIS) à 530 nm afin d'obtenir une suspension de stock de  $0.4-5 \times 10^6$  spores/ml. La DO à laquelle l'inoculum doit être ajusté varie en fonction de la taille des spores (cf. Annexe

n°2). Enfin, une suspension de travail de  $0.4-5 \times 10^4$  spores/ml a été préparée en diluant la suspension mère 1:100 spores dans le milieu d'essai RPMI 1640 (cf. fig.09).



**Figure 9.** Préparation des suspensions fongiques (inoculum) pour la méthode de macrodilution en milieu liquide. (Espinel-Ingroff et Cantón, 2007)

#### 2.4.4. Inoculation des tubes CMI

Les tubes de l'antifongique sont organisés avant la préparation de l'inoculum dans l'ordre croissant, comprenant deux témoins, positif (contrôle de croissance) et négatifs (contrôle de stérilité) pour chaque souche fongique. L'inoculation des tubes CMI a été commencée de la concentration la plus faible vers la plus forte, y a compris les témoins positifs. 0,9 ml de la suspension de travail sont ajoutés dans les tubes CMI, en mélangeant cette suspension à l'aide d'un vortex avant l'étape d'inoculation. Notons que, chaque essai est répété deux fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

#### 2.4.5. Incubation et lecture

Les tubes CMI sont incubés à 35°C (sans agitation) dans des conditions d'aérobiose pendant 72 heures. Si la croissance adéquate n'est pas présente, les tubes ont été re-incubés

une deuxième fois. Cette croissance dépendra de l'espèce fongique testée. Enfin, le point final CMI a été déterminé par une lecture visuelle, en comparant la croissance à celle du témoin. La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'antifongique pour laquelle aucune croissance n'est visible (détection visuelle) comparativement au témoin.

#### **2.4.6. Détermination de la CMF**

Pour déterminer la CMF, 20 µl de chaque tube CMI ont été inoculés en surface (sans agitation) sur le milieu Sabouraud Dextrose Agar (SAB) (Eur-Pharm, 1024.00), y compris tous les tubes qui ont montré une inhibition visuelle complète. Après incubation des boîtes à 35°C pendant 72 heures, la CMF est considérée comme la concentration la plus faible d'antifongique qui indique soit une croissance nulle, soit une croissance de moins de trois colonies pour obtenir une activité fongicide d'environ 99 à 99.5%.

## 1. RESULTATS

### 1.1. Rendement et composition chimique

Après l'extraction des huiles essentielles nous obtinssions la couche huileuse figurée au-dessus (cf fig.10)

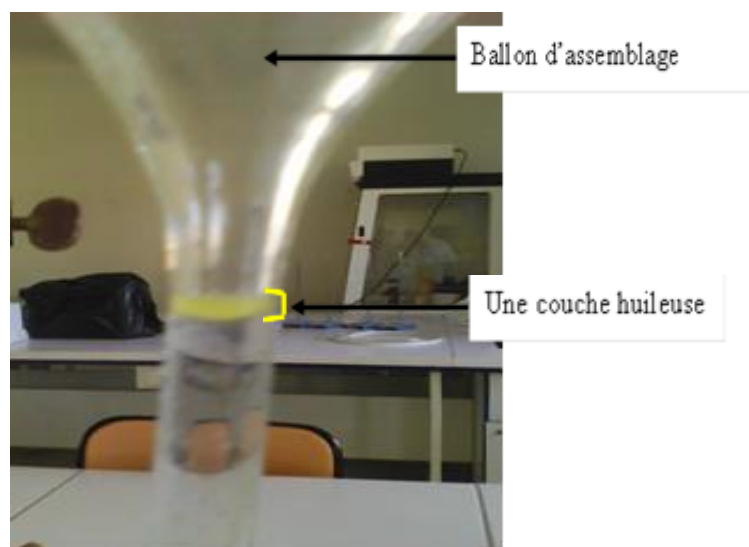


Figure 10. Ballon d'assemblage de l'huile essentielle (Photo originale 2017)

Les rendements en huiles essentielles des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea* sont de 0.13% et 0.83%, respectivement (cf. fig.11).

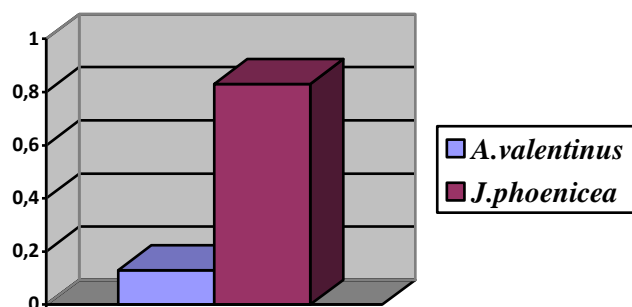


Figure11. Rendement en huile essentielle des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea*

L'analyse chromatographique des huiles essentielles a permis d'identifier 17 composés majoritaires dans l'huile essentielle d'*A. valentinus* et 12 composés majoritaires dans l'huile

## Résultats et discussion

essentielle de *J. phoenicea*. D'autres composés sont également présents dans ces huiles mais à des teneurs moins importantes (cf. tableau 4). L'huile essentielle d'*A. valentinus* est caractérisée par la présence de  $\delta$ -3-Carène (31%), Spathulenol (14.2%), acide decanoïque (5.5%),  $\delta$ -Cadinene (4.4%) et Aromadendrene (3.3%), tandis que l'huile essentielle de *J. phoenicea* est constitué principalement de  $\alpha$ -pinène (58%),  $\delta$ -Cadinene (5.6%), *t*-Cadinol (3.8%), Limonène (3.5%) et  $\delta$ -3-Carène (3.1%).

**Tableau 4.** Les composés majoritaires des huiles essentielles des plantes *A. valentinus* et *J. phoenicea*

<i>Anacyclus valentinus</i>		<i>Juniperus phoenicea</i>	
Composé	%	Composé	%
$\delta$ -3-Carène	<b>31</b>	$\alpha$ -pinène	<b>58</b>
Spathulenol	<b>14.2</b>	$\delta$ -Cadinene	<b>5.6</b>
acide Decanoïque	<b>5.5</b>	<i>t</i> -Cadinol	<b>3.8</b>
$\delta$ -Cadinene	<b>4.4</b>	Limonène	<b>3.5</b>
Anéthol	<b>3.4</b>	$\delta$ -3-Carène	<b>3.1</b>
Aromadendrene	<b>3.3</b>	$\alpha$ -Terpinenyl Acétate	<b>2.8</b>
Acenaphthylene	<b>2.8</b>	trans-Caryophyllene	1.7
Carvone	<b>2.7</b>	$\beta$ -Myrcene	1.4
Cuminaldehyde	<b>2.5</b>	Germacrene-D	1.3
$\alpha$ -Curcumene	<b>2.3</b>	Calarene	1.3
Thymol	<b>2</b>	Thymol	1.2
Geranyl acetate	1.9	Acenaphthene	1.2
Cis- $\alpha$ -Copaene-8-Ol	1.6	Composés mineurs	15.1
$\alpha$ -Bisabolol	1.5		
Alloocimene	1.3		
Estragole	1.3		
Agarospinol	1.2		
Composés mineurs	17.1		
Rendement	<b>0.13</b>	Rendement	<b>0.83</b>

## 1.2. Activité antifongique des huiles essentielles

Le Tableau ci-dessous montre les résultats de l'activité antifongique (CMI, CMF) des huiles essentielles des plantes *Anacyclus valentinus* et *Juniperus phoenicea* contre les moisissures testées.

**Tableau 5.** Activité antifongique (CMI, CMF) des huiles essentielles des plantes *Anacyclus valentinus* et *Juniperus phoenicea*

Souches	<i>Anacyclus valentinus</i>		<i>Juniperus phoenicea</i>		<i>A. valentinus/J. phoenicea</i> (2/8)	
	CMI	CMF	CMI	CMF	CMI	CMF
<i>Aspergillus ochraceus</i> NRRL 3174	2.5	10	1.25	5	10	20
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 3251	2.5	2.5	2.5	5	10	20
<i>Aspergillus parasiticus</i> CBS 100926	1.25	1.25	1.25	5	10	20
<i>Fusarium graminearum</i> MUCL 53452	1.25	1.25	2.5	2.5	5	10
<i>Fusarium moniliforme</i> MUCL 53645	2.5	2.5	5	5	5	10
<i>Penicillium citrinum</i> MUCL 31475	5	10	5	20	10	20
<i>Penicillium expansum</i> MUCL 29192	1.25	1.25	1.25	2.5	5	5

\* la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMF (concentration minimale fongicide) sont déterminées par la méthode de macro-dilution en milieu liquide et exprimées en µl/ml (v/v)

Nous notons que le pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*A. valentinus* est varié d'une souche fongique à une autre en fonction de sa résistance. L'huile essentielle d'*A. valentinus* a exercé une forte activité antifongique sur toutes les souches fongiques testées. *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus

sensibles à l'huile d'*A. valentinus* pour une concentration inhibitrice et fongicide de 1.25 µl/ml (v/v), alors que la concentration 2.5 µl/ml (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance de *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* et *A. ochraceus*. Par contre une CIM de 5 µl/ml est suffisante pour inhiber la croissance *P. citrinum*. L'huile d'*A. valentinus* présente également une forte activité fongicide contre les moisissures testées. La concentration 2.5 µl/ml (v/v) a montré un effet fongicide sur les souches *Fusarium moniliforme* et *Aspergillus flavus*, alors que la concentration 10 µl/ml (v/v) de l'huile est suffisante pour exercer un effet fongicide sur *P. citrinum* et *A. ochraceus*.

L'huile essentielle de *J. phoenicea* est également active sur toutes les moisissures testées. *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus sensibles à l'huile de *J. phoenicea* pour une concentration inhibitrice de 1.25 µl/ml (v/v), tandis que la concentration 2.5 µl/ml (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance *F. graminearum* et *A. flavus*. La concentration 5 µl/ml (v/v) a montré un effet fongicide sur les souches *F. moniliforme* et *P. citrinum*. L'effet fongicide de cette huile est détecté à la concentration de 2.5 µl/ml pour *Fusarium graminearum* et *Penicillium expansum*. *Penicillium citrinum* est l'espèce la plus résistante à l'huile de *J. phoenicea* où la concentration fongicide est égale à 20 µl/ml, tandis que la concentration 5 µl/ml (v/v) de l'huile est suffisante pour exercer un effet fongicide sur les autres souches fongiques testées.

La combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration de 2/8 (v/v) est moins active comparée aux effets de deux huiles séparées. L'effet inhibitrice de cette combinaison est détecté à la concentration de 5 µl/ml pour *Fusarium graminearum*, *F. moniliforme* et *Penicillium expansum*, tandis que la concentration 10 µl/ml (v/v) était suffisante pour inhiber la croissance des autres souches fongiques testées. Cette combinaison présente également une activité fongicide relativement faible contre les moisissures testées. La souche *P. expansum* est la souche la plus sensible à la combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration fongicide de 5 µl/ml (v/v), alors que la concentration 10 µl/ml (v/v) était suffisante pour exercer un effet fongicide contre *F. graminearum* et *F. moniliforme*. Les autres souches fongiques testées sont les espèces les plus résistantes à cette combinaison où la concentration fongicide est égale à 20 µl/ml.

## 2. DISCUSSION

Le rendement en huile essentielle de la plante *A. valentinus* (0.13%) est quasiment identique à celui obtenu par Haoui *et al.* (2011) et ceux de Kheyer *et al.* (2014) qui ont enregistré des rendements variant entre 0.14 et 0.22%, respectivement. Les plantes appartenant au genre *Anacyclus* sont généralement peu rentables en HEs, ce qui a été prouvé par les travaux de Selles *et al.* (2013) et de Elazzouzi *et al.* (2014). D'autre part le rendement de la deuxième plante étudié *J. phoenicea* (0.83%) est inférieur à celle de Mansouri *et al.* (2011) qui ont enregistré des rendements variant allant de  $1.10 \pm 0.03$  et  $1.02 \% \pm 0.02$  à partir des échantillons des fruits de la même espèce. Cependant, on note aussi que le rendement en HE de *J. phoenicea* est presque identique avec les résultats de travaux de Mansouri *et al.* (2011) issus des rameaux avec  $0.98 \% \pm 0.03$  pour Assif Almal et  $0.90 \% \pm 0.05$  pour Mehdi. Toutefois, ces taux restent plus élevés que ceux des genévriers rouges de la Grèce (0.21 % pour les rameaux) (Adams *et al.*, 1996), de la même espèce d'Espagne (0.30 % pour les rameaux) (Adams *et al.*, 1996), d'Égypte (0.36 % pour les rameaux) (El-Sawi *et al.*, 2007), et de la même plante du Portugal (0.41 % pour les rameaux) (Adams *et al.*, 1996). Cette variation dans le rendement des plantes en huiles essentielles peut être attribuée non seulement à la partie de la plante étudiée mais aux techniques d'extraction, à l'origine géographique de la plante, aux conditions climatiques et à la saison de récolte. Par ailleurs, le séchage et le stockage de la matière végétale ainsi que la méthode d'extraction influent largement sur la qualité organoleptique des extraits en particulier les HEs (Lee *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2005).

L'analyse de la composition chimique montre une variation quantitative et qualitative du profil chimique des HEs étudiées. D'après les résultats de Side Larbi (2016), l'analyse de l'*A. valentinus* par CPG-MS a permis d'identifier 20 constituants qui sont le germacrene (15.46 %), le *trans* Chrysanthényl acétate (12.41 %), le *trans*-thujone (7.26 %), l'eudesma-4 (15%), le 7-diène-1- $\beta$ -ol(6.2 %) et le  $\beta$ -Biotol (5.13 %). D'autres composés mineurs ont été également identifiés comme mayurone (4.94%), terpinen-4-ol (4.72%), salvial-4 (14)-en-1-one (4,23%), 14-oxy- $\alpha$ - muurolene (4.05%). Donc, ces résultats sont différents avec celui obtenus par la plante étudiée.

De plus, Mansouri et *al.*, (2011) ont trouvé trois constituants chimiques dominant l'huile essentielle des rameaux de *J. phoenicea*, il s'agit de l' $\alpha$ -pinène (34.23 %), le  $\delta$ -3-carène (20.64 %) et le limonène (14.56 %) accompagnés d'autres constituants avec des pourcentages moins importants : acétate d' $\alpha$ -terpényle (6.80 %),  $\beta$ -pinène (4.65 %), terpinolène (4.12 %) et  $\alpha$ -phellandrène (2.19 %). En revanche, un seul constituant, l' $\alpha$ -pinène, est majoritaire dans l'huile essentielle des fruits de Mehdiya avec un pourcentage de 79.08 % (Mansouri et *al.*, 2011), ce qui est en accord avec nos résultats. Cette différence de la composition chimique observée entre les sous-espèces et entre les deux parties de la plante pourrait s'expliquer par une adaptation aux facteurs biotiques et abiotiques, tels que le climat spécifique aux régions de provenance des échantillons, aux facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol qui orientent la biosynthèse vers la formation préférentielle de produits précis (Brada et *al.*, 2007 ; Ghanmi et *al.*, 2007).

Dans la littérature, il n'y a qu'une seule étude (Si Moussa et *al.*, 2010) qui a étudié l'effet antifongique de l'huile essentielle d'*A. valentinus* sur des espèces fongiques phytopathogènes. Les auteurs ont rapporté que l'huile essentielle d'*A. valentinus* à la concentration de 1000 ppm ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) inhibait totalement la germination des microconidies et la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les huiles essentielles et les extraits des autres *Anacyclus* sp. ont également signalé des degrés variables d'activités antimicrobiennes contre les différentes espèces (Hammami et *al.*, 2013 ; Selles et *al.*, 2013 ; Zardi-Bergaoui et *al.*, 2008), mais aucun rapport n'existe sur leurs effets sur les moisissures phytopathogènes. Dans cette étude, les résultats obtenus montrent que les valeurs de CMI de l'huile essentielle d'*A. valentinus* sont très faibles, donc la plante a un effet antifongique très important; par rapport au HE de *J. phoenicea*.

Selon Mansouri et *al.* (2011) Les HEs de *J. phoenicea* ont montré leur efficacité contre les moisissures de pourriture de bois où les plus sensibles étaient *Penicillium expansum*, *Gloeophyllum trabeum*, *Poria placenta* et *Coniophora puteana* qui ont été inhibés à la concentration 1/500 v/v, alors que cette huile ne possède aucune activité contre les bactéries, même à la plus grande concentration. Ceci a été observé aussi par d'autres auteurs comme El-sawi et *al.* (2007) au cours de leurs travaux sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux et des fruits de *J. phoenicea* d'Égypte. Il corrobore également avec les résultats d'Angioni et *al.* (2003) en étudiant l'activité antimicrobienne des huiles

essentielles des rameaux et des fruits de quelques espèces de genévrier sur un certain nombre de micro-organismes.

La combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration de 2/8 (v/v) est moins active comparée aux effets de deux huiles séparées, ce qui est en accord avec les travaux de Side Larbi (2016). De plus, les constituants des deux huiles peuvent également contribuer à cette activité en tenant compte des effets antagonistes possibles entre les composés de deux huiles ainsi que la concentration choisie dans cette combinaison.

En effet, l'effet fongicide des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs, principalement les principaux constituants de l'huile et les micro-organismes cibles. Les groupes de composés les plus abondants dans les huiles essentielles sont les terpènes qui sont connus pour être actifs contre un large éventail de micro-organismes, y compris les moisissures et les levures. En général, les constituants de l'huile essentielle sont responsables de leur mode d'action antifongique qui peut différer d'une souche fongique à l'autre (Bekkali et *al.*, 2008). Les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire fongique et les membranes cytoplasmiques, ce qui entraîne la malformation de structures importantes et conduit à la mort cellulaire (Swamy et *al.*, 2016).

---

## *Conclusion*

---

## Conclusion

---

Cette étude nous a permis d'étudier la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea* de la région de Laghouat. Les rendements en huiles essentielles d'*A. valentinus* et de *J. phoenicea* sont de 0.13% et 0.83%, respectivement. L'huile essentielle d'*A. valentinus* est caractérisée par la présence de  $\delta$ -3-Carène (31%), Spathulenol (14.2%), acide decanoïque (5.5%),  $\delta$ -Cadinene (4.4%) et Aromadendrene (3.3%), tandis que l'huile essentielle de *J. phoenicea* est constitué principalement de  $\alpha$ -pinène (58%),  $\delta$ -Cadinene (5.6%), *t*-Cadinol (3.8%), Limonène (3.5%) et  $\delta$ -3-Carène (3.1%)

De plus, l'huile essentielle d'*A. valentinus* a exercé une forte activité antifongique sur toutes les souches fongiques testées où *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus sensibles à l'activité de cette huile. L'huile essentielle de *J. phoenicea* est également active sur toutes les moisissures testées où *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus sensibles l'activité de cette huile. Cependant, la combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration de 2/8 (v/v) est moins active comparée aux effets de deux huiles séparées.

L'étude présente également un grand intérêt pour l'industrie agroalimentaire car elle propose d'une part l'utilisation des huiles essentielles des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea* dans ce secteur comme un biofongicide afin de réduire la dépendance des fongicides synthétiques et de garantir une meilleure production agricole, et d'autre part la création des pépinières pour la valorisation des plantes médicinales et aromatiques et la disponibilité des biofongicides sur le marché des fongicides. De plus, elle suggère également de tester d'autres formulations de deux ou plusieurs huiles essentielles comme des antifongiques naturels avant leurs applications dans l'industrie agroalimentaire, car chaque extrait de plante inactive efficacement une souche fongique spécifique.

Enfin et pour faire suite à cette étude, plusieurs pistes de travail peuvent être envisagées comme perspectives :

- Etudier *In situ* l'effet antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea* sur la croissance des moisissures phytopathogènes ;
- Etudier l'effet insecticide de ces huiles sur le développement des insectes responsables de la détérioration des céréales, des légumes et des fruits ;
- Réaliser des études toxicologiques sur les huiles essentielles avant leur application comme des biofongicides dans les cultures agricoles.

---

## *Références bibliographiques*

---

**A**

**Abdoulayes, K. (2012).** Sécurité alimentaire et organisation agricoles et rurale au Mali. Paris : Harmattan. P158.

**Adams, R.P., Barrero, A.F., et Lara, A. (1996).** Rev : J. Essential Oil Res. V 8. P367-371.

**Adnane, M., et Arbaoui, A. (2008).** Etude de l'effet de l'extrait aqueux de l'*Anacyclus valentinus* L.

**AFSSA(2006).** Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxine dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique. P81.

**Akrout, A. (1999).** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides, 4119 Medecine, Tunisie .P289-292.

**Aliou, D., Gruz, J. (1989).** Génie agricole et développement technique d'entreposage (Butin des sévices agricoles de la FAO). FAO. P127.

**Aliou, D., Jan, K. (1991).** Bulletin de service agricole FAO : guide pour établissement les opérations et la gestion des banques de céréales. FAO. P92.

**Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Gargouri, S., Jamouss, B. (2014).** Propriétés antifongiques des huiles essentielles de *Biotaorientalis* L. Rev : Phytothérapie Springer-Verlag France. V12(3). P170-174.

**Angioni, A. (2003).** Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. Rev : J. Agric. Food Chem. V51. P3073-3078.

**Arnason, J.T., Philogène, B.J.R., et Morand, P. (1989).** Insecticides of Plants origin (ACS symposium series 387). Rev : American Chemical Society, Washington.

**Armand, B., et Germain, M. (1992).** Le blé : éléments fondamentaux et transformation. Canada : Dominique Johson. P443.

**B**

**Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential Oils. Rev : Food Chem Toxicol. V46. P446-475.

**Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Quilez del Moral, J.F., Sanchez-Fernandez, E., Akssira, M., Aitigri, M., Mellouki, F., Akkad, S.(2006).** Chemical composition of the essential oil from the Leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. Rev : The Journal of essential oil research .V18(2). P 168-16.

**Becker, W., Louisell, W., H. McCullen, J. D., et. Scully, M. O. (1982).** Rev Phys.. . V48, P653

**Belyagoubi, L. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse magistère : Université Abou Becker Belkaid. P110.

**Bergaoui, A., Sakka, R.L., Benjannet, H., Ben Halima, K.M et Mighri, Z. (a) (2006).** Activités antibactériennes, anti-insectes et composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de la plante

*Anacyclus cyrtolepidioides* Poussant en Tunisie. International Symposium on Perfume, Aromatic and Medicinal Plants: From Production to Valorisation. SIPAM, 2-4 novembre, Jarba-Tunisia.

**Bergaoui, A., Sakka, R.L., Benjannet, H., Ben Halima, K.M et Mighri, Z. (b) (2006).** Etude biologique et chimique de l'extrait chloroformique de la plante *Anacyclus cyrtolepidioides* Poussant en Tunisie. International Symposium on Perfume, Aromatic and Medicinal Plants: From Production to Valorisation. SIPAM, 2-4 novembre, Jarba-Tunisia

**Bernard, C.B. et Philogène, B.J.R. (1993).** Insecticide synergists: role, importance and perspectives. Rev : J. Toxicol. Env. Health. V38. P19-22.

**Bernard, P., Francis, F., Charles, P. (2000).** La lutte physique en phyto-protection. Paris: Quae. P348.

**Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, B., Navarro, F., Corte's, P., et Llagostera, M. (2006).** ESBL - and plasmidic class C b-lactamase-producing E. coli strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. Rev : Veterinary Microbiology. V118. P299-304.

**Bonnier, G. (1990).** La grande flore en couleurs. Tome 4 Ed. Belin, Paris, P1353-1355.

**Bouguerra, A. (2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Université Mentouri Constantine. Thèse de magister. P20.

**Boux, M., et Leveau, J.Y. (1993).** Microbiologie Industrielle- les micro-organismes d'intérêt industrielle.2 : Les moisissures. Paris : Tec&doc-Lavoisier. P612.

**Boungab, K., Tadjeddine, A., Belabid, L., Fortas, Z., Lazrag, F. (2011).** Antifungal activity of extracts of *Anacyclus valentinus* L. on phytopathogenic fungi. In the proceedings of the 4th International Conference on Alternative Methods in Crop Protection. Evolution of French and European regulatory frameworks. Innovative new means and strategies, New Century, Lille, France. P230- 238.

**Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., Chaabouni, M. M.,et Brada. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*.. Rev : Journal de la Société Chimique de Tunisie. V10. P119-125

**Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., Lognay, G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. Rev : J. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., V11(1). P3-7.

## C

**Cavaleiro, C., Rezzi, S., Salgueiro, L., Bighelli, A., Casanova, J., Cunha, A. P. (2001).** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Portugal. Biochemical Systematics and Ecology. V29. P1175-1183.

**Chao, S.C., Young, D.G., et Oberg, G.J. (2000).** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. Rev : Journal of Essential oil Research. V12. P639-649.

**Christine, R. (2010).** Production Bio : de quelle qualité parle. France : Educagie. P216.

**Claude, R. (2004).** Santé et qualité de l'environnement intérieur dans les bâtiments. 1<sup>ier</sup> édition. Italie : PPVR. P358.

## **D**

**David, M., Hervé, M. (2011).** Analyses statistique des risques agro-environnementaux. France : Springer. P161.

**Daniel, R., Chaumont, J., Cleur, C. (2008).** Conseilles en aromathérapie. 2<sup>iem</sup> édition France : Wolters kluwer. P187.

**Désilets, Vincent, C., Panneton, B., Fleurat-Lessard, F. (1996).** La lutte physique en phytoprotection. Editions Quae Amazon France. P16.

## **E**

**Elazzouzi, H., Soro, A., Elhilali F, Bentayeb A, El Belghiti MA, Zair T. (2014).** Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* (L.) of Middle Atlas (Morocco), and in vitro study of antibacterial activity of pyrethrum. Rev : Advances in Natural and Applied Sciences, V8(8). P131-140.

**El Morsi, M. A., et Hassanein, A. M. (1999).** Corrosion inihbtion of copper by heterocyclic compounds. Rev :orros. Sci. , V41. P2337.

**El-Sawi, S.A., Motawae, H.M. et Ali, A.M. (2007).** Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. Rev :Afr. J. Tradit. Complementary Altern. Med.. V4(4). P417-426.

**Espinel-Ingroff, et Cantón, (2007).** Antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, In : Schwalbe, R., Steele- Moore, L & Goodwin, A, C (Eds), Ntifungal susceptibility testing protocols. USA : CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC. P210-240.

## **F**

**Fabrice, V., et Calair, D. (2006).** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Paris Quae. P817.

**FAO. (1995).** N°27. Les sorghos et les mils dans la nutrition humaine. P198.

**FAO. (2003).** Manuel du système de l'analyse des risques-points critiques pour leurs maitrises (HACCP) pour la prévention et contrôle des mycotoxines. P92

**Feillet, P. (2000).** Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris. P53

**Fillatre, Y. (2011).** Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Chimie analytique. Université d'Angers, Françai

**Filtborg, O., Thrane, U., Frisvad, J. (1996).** Flore protectrice pour la conservation des aliments. Rev : International Journal of Food Microbiology. V 33(1). P85-102.

## **G**

**Garnier, G., Bezanger-Beauquesne, L., Debraux, G. (1961).** Ressources Medicinales de la Flore Francaise, Tome I. Ed Vigot Freres, (Paris). P124-133.

**Ghanmi, M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc. Rev : Acta Bot. Gallica, V154(2). P293-300.

**Giroux, S., Côté, J.C., Vincent, C., Martel, P., Coderre, D. (1994).** Bacteriological insecticide M-One effects on the mortality and the predation efficiency of adult spotted lady beetle *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). J. Econ. Entomol. V87. P39-43.

**Gury, P. (1997).** Maladies d'elvages des porcs. France : France agricole. P210.

## **H**

**Hacheimi, I., Kadi. O. (2009).** Effet de l'extrait aqueux de L'*Anacyclus Valentinus* 1 sur le cholestérol.

**Hammami, S., Ben Salem, A., Mastouri, M., Falconieri, D. (2013).** Essential oil composition and antimicrobial activities of aerial parts from Tunisian *Anacyclus clavatus* (Desf.). Rev : Journal of Medicinal Plants Research V7(2). P71 -75.

**Hamzi, S. & Belhadj, K. (2008).** Contribution à l'étude de l'activité antifongique des polyphénols extraits de deux plantes médicinales (*Anacyclus valentinus* 1 et *Anacyclus pyrèthum*).

**Haoui, I.E. et al. (2011).** Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* L. Rev : Aiton. Arabian Journal of Chemistry. doi:10.1016/j.arabjc.05.005

**Harald, G. (1978).** Comparative Phytochemistry and Systematics of *Anacyclus*. Rev :Biochemical Systematics and Ecology. V6. P11-17.

**Harry, V. (2004).** Production de semences à petite échelle avec l'amélioration des variétés. Pays Bas : Fondation Agromisa, Wagening 1 ier édition. 106p.

**Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. (2007)** The Effect of Solvents and Extraction Method on the Phenolic Compounds Contents and Biological Activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. Fruit Extract. Rev : Food Chemistry. V105. P1126-1134

**Henri, D., Jean, L., Malewiak, C., Leynoud, R., Berthier, M. (1992).** Alimentation et nutrition humaine. Paris : ESF. 1537p.

**Homsi, M. (2009).** Progrès en dermato-allergologie . France : John Eurotexte.393 p. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765.2006.02011>.

## **I**

**Inge, G. (2004).** Protection des céréales et de légumineuses stockées. Pays Bas: Fondation Agromisa Wageningen. 1<sup>ier</sup> édition 1996, 2<sup>ème</sup> édition 2004. P74.

## **J**

**Jeane-claud, L. (2002).** Traité de phytothérapie: médecine et endobiologie. Paris: Maisson. P827.

**Julve, P., Bültmann, H., Roux, C., José, M., Bricaud, O., Giaccone, G., Täuscher, L., Creveld, M., Di Martino, V., Golubic, S., Takeuchi, N. (2015).** Validations and descriptions of European syntaxa of vegetation dominated by lichens, bryophytes and algae. Rev ; Lazaroa.V36. P107

## **K**

**Kalimouni, C. (2010).** Caractérisation chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorats : Université de Toulouse. P263.

**Kambouche, N., Tadjeddine Lassouani, A., Medjdoub, H., Meddah, B., Dicko, A., Saidi, S., Derdour, A. (2013).** Antidiabetic effect of *Anacyclus valentinus* L. aqueous extract in normoglycemic and streptozotocin induced-diabetic rats. Rev : American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics AJPCT. [1][5] .P424-431

**Kheyer, N., Meridja, D., et Belhamer, K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. Algerian Journal of Natural Products. V2(1). P18-26.

**Keon, D., et proost, C. (2002).** L'impact de la nutrition sur la santé. Belgique : Garant. P221.

## **L**

**Laurence, A., Nathahie, L. (2009).** Agriculture biologique : grande principe de la production . France : Educagri. P239.

**Lee, S., Peterson, C., et Jand Coast, J.R. (2003).** Fumigation toxicity of monoterpenoides to several stored product insect. Rev : Journal of stored products research. V39(1). P77-85.

**Léger, L.F. (2007).** Noms vernaculaires des taxons de la BDTFX. In : Tela Botanica (2011). Fiche de eFlore de *Anacyclus valentinus*.

**Lis-Balchin, M. (2002).** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. P 37, 40,50, 155-200.

**Lugauskas, A., Repeckiene, J., Novosinskas, H. (2005).** Micromycetes, producers of toxins, detected on stored vegetables. Rev : Ann. Agric. Environ. Med. V12. P253–260.

**Lydie, S. (2010).** La lutte biologique : vers de nouveaux équilibres écologiques. Paris : Quae et Educagri. P328.

## **M**

**Maiza, K., Brac de la Perrière, R. A., Hammiche, V. (1993).** Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. In: Schröder, E., Balansard, G., Cabalion, P., Fleurentin, J., Mazars, G. (1993). Médicaments et aliments : L'approche ethnopharmacologique. Actes du 2<sup>ème</sup> Colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11<sup>ème</sup> Conférence internationale d'Ethnomédecine. Heidelberg, P169-171.

**Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Aafi, A. (2011).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. Rev : Biotechnol. Agron. Soc. Environ. V15(3). P415-424

**Mezari, M., (2009).** Etude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *Juniperus phoenicea* L., *Juniperus oxycedrus* L. et *Cupressus sempervirens* L. de la région de Tlemcen. Université Abou Bakr Belkaid. Thèse de Magister. P6, 56,87

**Multon, J.L. (1982)** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. V1. P576

### P

**Pierre, F. (2000).** Le grain de blé. Paris : Quae. P313.

### Q

**Quezel et Santa. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie Ed : éditions du centre nationale de la recherche scientifique .Paris. Tome I. 990p.

### R

**Raoul, C., Barriuso, E., Bedos, C. et al. (2005).** Les pesticides dans le sol (conséquences agronomiques et environnementales. France : France Agricole. P641.

**Reddy, S.G., Scapin, G., et Blanchard, J.S. (1996).** Interaction of pyridine nucleotide substrates with *Escherichia coli* dihydrodipicolinate reductase: thermodynamic and structural analysis of binary complexes. Rev : Biochemistry V35. P13294-13302

**Rozzi, S. et al., (2002).** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* subsp. *Turbinata* from Corsica. Biochem. Syst. Ecol., 29, 179-188.

**Roger, C., Vincent, C., Coderre D. (1995).** Mortality and predation efficiency of *Coleomegilla maculata* lengi Timberlake (Coccinellidae) following application of Neem extracts (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). Rev : J. Appl. Entomol. V119. P439-443.

**Royer, C. (1990).** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plants. 1<sup>ier</sup> édition. Suisse PPUR. P287.

### S

**Sayoud, R., Ezzahiri, B., Bouznad, Z. (2008).** Les maladies des céréales et légumineuses en maghreb. Alger : ITGC. P6.

**Selles, C., Dib, M.A., Djabou, N., Beddou, F., Muselli, A. (2013)** Antimicrobial activity and evolution of the composition of essential oil from Algerian *Anacyclus pyrethrum* L. through the vegetative cycle, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters. Rev : Med. Plants Res. V11. P46.

**Side Larbi K, Meddah B, Tir Touil Meddah A and Sonnet P. (2016).** The antibacterial effect of two medicinal plants *Inula viscosa*, *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. J. Fundam. Appl. Sci. V8(2). P244-255.

**Side Larbi, K., Meddah, B., Tir Touil Meddah, A., et Sonnet, P. (2016).** Central Analgesic Property of Extracts and Essential Oils from *Inula viscosa* And *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) In Wistar Rats. Rev : J. Fundam. Appl. Sci. V6(9). P72-77.

**Si Moussa, L., Tadjeddine, A., Belabid, L., Bayaa, B., Bellahcene, M. (2010).** Effect of Some Botanical Extracts on the Population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the causal agent of bayoud disease in Algeria. Rev : Arab Journal of Plant Protection. V28. P71-79.

**Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I. (2005)** A procedure for the safety evaluation of natural flavour complexes used as ingredients in food: essential oils. Rev : Food Chemistry. Toxicol. V43. P345-363.

**Swamy, M. K., Rudramurthy, G. R., Sinniah, U. R., et Ghasemzadeh, A. (2016).** Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes, Rev : Molecules, V21(7). P836.

## **T**

**Tabuc, C.(2007).** Flore Fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. P190.

**Tadjeddine, A., Kambouche, N., Medjdoub, H., Meddah, B., Dicko, A. (2013).** Antidiabetic effect of *Anacyclus valentines* L. aqueous extract in normoglycemic and streptozotocin induced-diabetic rats. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. AJPCT. V1( 5) .P424-431.

**Terrain, C., et Grallet, H. (2003).** Séchage des grains en organisme stockeur: guide pratique. ARVALIS institut du végétal et FFCAT. P1-5.

## **U**

**Utree, A., Slump, R.A, Steging, G. & Smid, E.J.(2002).** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. Journal of food protection.V63,P620-624.

## **V**

**Vierling, E. (2008).** Filières et produits. France : Wolters-Kluwer. P281.

**Vincent, C., Panneton, B., Fleurat-Lessard, F. (2000).** La lutte physique en phytoprotection. INRA, Paris 2000 – ISSN : 1250-5218 – ISBN : 2-7380-0918-2

**Vokou, D., Kokkini, S., et Bessière, J.M. (1988).** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece: Distribution, Volatile Oil Yield, and Composition. Richard Evans Schultes, Harvard University, Cambridge. V42. P408-411.

## **Z**

**Zaid, N., Pierre, G. (2011).** Danger dans l'assiette. Paris : Quae. P184.

**Zardi-Bergaoui, A., Harzallah-Skhiri, F., Hammami, S., Chreaif, I., Cheriaa-Issa, J., Ben Jannet, H., and Mighri, Z. (2008).** Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil

---

## *Annexes*

---

**Annexe 01 : Composition des milieux de culture utilisés**

• **RPMI-1640, Sigma R6504 :**

Composé	g/L
L-Arginine [Free Base].....	0.2
L-Asparagine [Anhydrous].....	0.05
L-Aspartic Acid.....	0.02
L-Cystine•2HCl .....	0.0652
L-Glutamic Acid.....	0.02
L-Glutamine.....	0.3
Glycine .....	0.01
L-Histidine [Free Base] .....	0.015
Hydroxy-L-Proline.....	0.02
L-Isoleucine .....	0.05
L-Leucine .....	0.05
L-Lysine•HCl .....	0.04
L-Methionine .....	0.015
L-Phenylalanine.....	0.015
L-Proline.....	0.02
L-Serine .....	0.03
L-Threonine.....	0.02
L-Tryptophan .....	0.005
L-Tyrosine•2Na•2H <sub>2</sub> O.....	0.02883
L-Valine.....	0.02
Biotin .....	0.0002
Choline Chloride.....	0.003
Folic Acid .....	0.001
myo-Inositol.....	0.035
Niacinamide.....	0.001
D-Pantothenic Acid Hemicalcium.....	0.00025
PABA.....	0.001
Pyridoxine•HCl.....	0.001
Riboflavin.....	0.0002
Thiamine•HCl.....	0.001
Vitamin B12.....	0.000005
Calcium Nitrate•4 H <sub>2</sub> O.....	0.1
Magnesium Sulfate [Anhydrous].....	0.04884
Potassium Chloride .....	0.4
Sodium Chloride.....	6.0
Sodium Phosphate Dibasic [Anhydrous].....	0.8
D-Glucose.....	2.0
Glutathione, Reduced .....	0.001
Phenol Red•Na.....	0.0053

• **Milieu PDA :**

Extrait de pomme de terre.....1000ml  
 Glucose.....20g  
 Agar .....20g  
 Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn.

• **Sabouraud gélosé :**

Peptone.....40g  
 Agar.....20g  
 Eau distillée.....1000ml  
 Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn.

• **Sabouraud liquide :**

Néopeptone.....10g  
 Glucose.....20g  
 pH.....5-5.6  
 Ce milieu est stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15mn

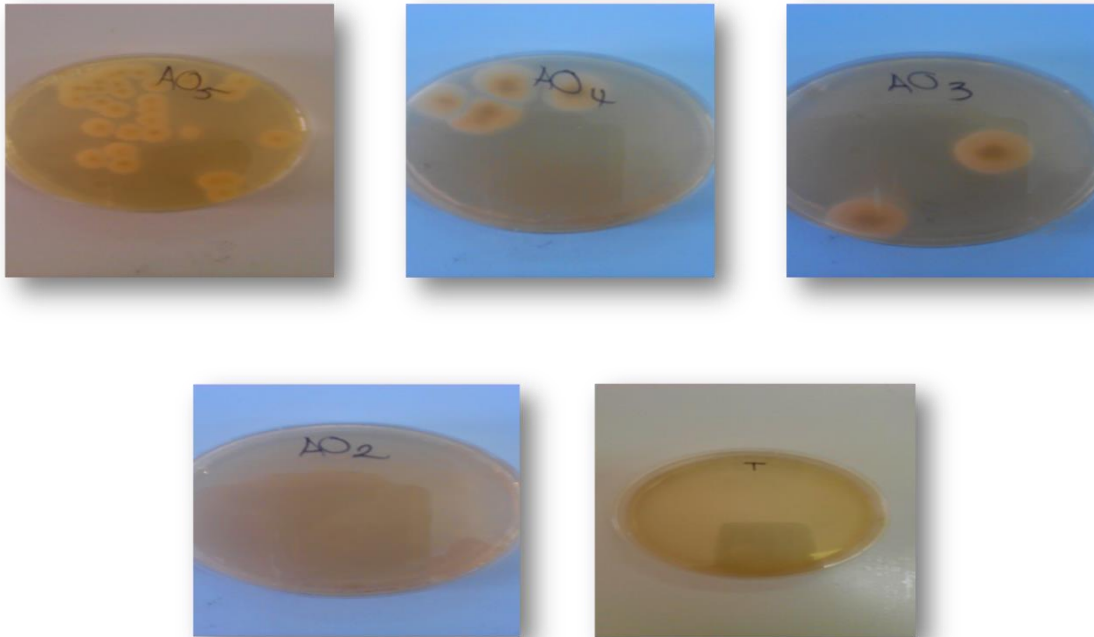
**Annexe 02 : Les plages de la densité optique et la taille de l'inoculum pour les moisissures communes et rares**

---

Species	OD Range (%T) <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> CFU/mL Range
<i>A. nidulans</i>	0.09–0.11 (80–82)	1.1–2
<i>A. flavus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.4–4
<i>A. fumigatus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.6–5
<i>A. terreus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.9–5
<i>Bipolaris hawaiiensis</i>	0.2–0.3	0.07–0.4
<i>B. spicifera</i>	0.2–0.3	0.3–3
<i>Cladophialophora bantiana</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–3.1
<i>Dactylaria constricta</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–1
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.8–5
<i>F. solani</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.5–5.9
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.09–0.13	0.8–2.3
<i>P. variotii</i>	0.09–0.11 (80–82)	ND
<i>Scedosporium apiospermum</i>	0.15–0.17	0.4–3.2
<i>R. arrhizus</i>	0.15–0.17	0.4–2.6
<i>S. prolificans</i>	0.15–0.17	0.6–1.7
<i>S. schenckii</i>	0.09–0.11	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	0.09–0.11	0.7–2.3
<i>Wangiella dermatitidis</i>	0.15–0.17	1.2–3.7

<sup>a</sup> %T = percent transmission.

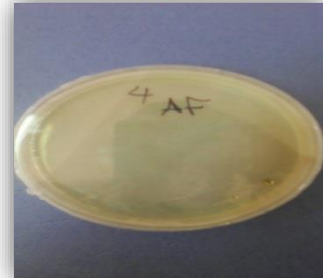
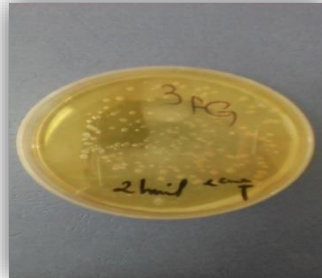
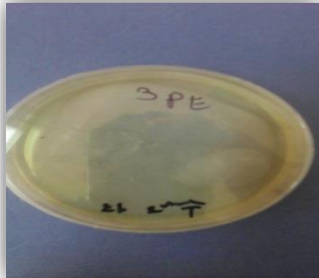
**Annexe 03 : Les CMF d'huile essentielle d'*A. valentinus* contre les champignons testés (exp : *Aspergillus ochraceus*)**



**Annexe 04 : Les CMF d'huile essentielle d'*J. phoenicea* contre les champignons testés (exp : *Aspergillus ochraceus* (AO), *Penicillium citrinum* (PC), *Aspergillus flavus* (AF))**



**Annexe 05 : Les CMF de deux huiles essentielles combiné contre les sept champignons testés : *Penicillium expansum*(PE), *Fusarium graminearum* (FG), *Aspergillus flavus*(AF), *Penicillium citrinum* (PC), *Aspergillus ochraceus* (AO), *Aspergillus parasiticus*(AP), *Fusarium moniliforme* (FM).**



**Thème :** Etude in vitro de l'effet combiné des deux huiles essentielles de deux plantes : *Anacyclus valentinus* L et *Juniperus phoenicea* sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes

La présente étude a pour objectif d'étudier la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques *Anacyclus valentinus* et *Juniperus phoenicea* de la région de Laghouat **qui sont excrétées par la méthode d'hydrodistillation**. Les rendements en huiles essentielles d'*A. valentinus* et de *J. phoenicea* sont de 0.13% et 0.83%, respectivement. L'huile essentielle d'*A. valentinus* est caractérisée par la présence de  $\delta$ -3-Carène (31%), Spathulenol (14.2%), acide decanoïque (5.5%),  $\delta$ -Cadinène (4.4%) et Aromadendrene (3.3%), tandis que l'huile essentielle de *J. phoenicea* est constituée principalement de  $\alpha$ -pinène (58%),  $\delta$ -Cadinène (5.6%), t-Cadinol (3.8%), Limonène (3.5%) et  $\delta$ -3-Carène (3.1%). De plus, l'huile essentielle d'*A. valentinus* a exercé une forte activité antifongique sur toutes les souches fongiques testées où *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus sensibles à l'activité de cette huile. L'huile essentielle de *J. phoenicea* est également active sur toutes les moisissures testées où *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* et *Penicillium expansum* sont les souches les plus sensibles à l'activité de cette huile. Cependant, la combinaison des deux huiles essentielles *A. valentinus*/*J. phoenicea* pour une concentration de 2/8 (v/v) est moins active comparée aux effets de deux huiles séparées. L'étude présente également un grand intérêt pour l'industrie agroalimentaire car elle propose l'utilisation des huiles essentielles des plantes aromatiques *A. valentinus* et *J. phoenicea* dans ce secteur comme un biofongicide afin de réduire la dépendance des fongicides synthétiques et de garantir des meilleures productions agricole.

**Mots clés :** *Anacyclus valentinus*, *Juniperus phoenicea*, huile essentielle, composition chimique, activité antifongique, Laghouat.

**Theme:** In vitro study on the combined effect of two essential oils of two plants : *Anacyclus valentinus* L and *Juniperus phoenicea* on the growth of phytopathogenic fungi

The present study aims to study the chemical composition and the antifungal activity of the essential oils of the aromatic plants *Anacyclus valentinus* and *Juniperus phoenicea* from the Laghouat region **when they was extracted with hydrodistillation processur**. The yields of essential oils of *A. valentinus* and *J. phoenicea* are 0.13% and 0.83%, respectively. The essential oil of *A. valentinus* is characterized by the presence of  $\delta$ -3-Carene (31%), Spathulenol (14.2%), decanoic acid (5.5%),  $\delta$ -Cadinene (4.4%) and Aromadendrene (3.3%), while the essential oil *J. phoenicea* consists mainly of  $\alpha$ -pinene (58%),  $\delta$ -Cadinene (5.6%), t-Cadinol (3.8%), Limonene (3.5%) and  $\delta$ -3-Carene (3.1%). **In addition**, the essential oil of *A. valentinus* had a strong antifungal activity on all fungal strains tested where *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum* are the strains most sensitive to the activity of this oil. The essential oil of *J. phoenicea* is also active on all the fungals tested where *Aspergillus ochraceus*, *A. parasiticus* and *Penicillium expansum* are the strains most sensitive to the activity of this oil. However, the combination of the two essential oils *A. valentinus* / *J. phoenicea* at a concentration of 2/8 (v/v) is less active compared to the effects of two separate oils. The study is also of great interest to the agri-food industry because it proposes the use of the essential oils of aromatic plants *A. valentinus* and *J. phoenicea* in this sector as a biofongicide to reduce the dependence of synthetic fungicides and to ensure better agricultural production

**Key words:** *Anacyclus valentinus*, *Juniperus phoenicea*, essential oil, chemical composition, antifungal activity, Laghouat.

**الموضوع:** دراسة في المختبر على التأثير المشترك لاثنتين من الزيوت الأساسية لنبتي القرطوفة والعرعار على نمو الفطريات الممرضة

تهدف الدراسة الحالية إلى دراسة التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية للنباتات العطرية *A. valentinus* و *J. phoenicea* من منطقة الأغواط **المستخلصة بطريقة التقطير**. مردود الزيوت الأساسية لكل من *A. valentinus* و *J. phoenicea* هي 0.13% و 0.83% ، على التوالي. يتميز الزيت العطري للقرطوفة عن وجود كما-3-كارين (31%)، سباثيلنول (14.2%)، حمض الديكانويك (5.5%)، كما-كادينين (4.4%)، و ارومادندرن (3.3%) في حين أن الزيت العطري للعرعار يتكون أساسا من (الفا-بينين 58%)، (كما-كادينين 5.6%)، ت-كادينول (3.8%)، الليمونين (3.5%) و  $\delta$ -3-كما-3-كارين (3.1%) بالإضافة إلى ذلك، فإن زيت القرطوفة يطبق نشاط قوي ضد الفطريات على جميع السلالات الفطرية المجربة حيث ان الفيوزاريوم *Fusarium graminearum*، *Aspergillus parasiticus* و *Penicillium expansum* اسبارجيلوس باراستيكوس و *Aspergillus ochraceus* هي سلالات أكثر عرضة للنشاط من هذا الزيت. الزيت العطري للعرعار لديه أيضا فعالية ضد جميع السلالات المجربة ف بحيث ان الاسبارجيلوس اكراسوس، اسبارجيلوس باراستيكوس و بينيسليوم اوسبانزوم هي السلالات الأكثر حساسية لنشاط هذا الزيت. ومع ذلك، فإن الجمع بين اثنتين من الزيوت الأساسية العرعار/القرطوفة بتركيز 2/8 (v/v) أقل نشاطاً مقارنة بآثار الزيتين منفصلين. كما تعرض الدراسة أيضا اهتماما كبيرا للصناعة الغذائية الزراعية لأنها توفر استخدام الزيوت العطرية من نباتي القرطوفة والعرعار في هذا القطاع باعتبارهما مضادات فطرية طبيعية للحد من الاعتماد على مضادات الفطريات الاصطناعية وضمان إنتاج زراعي أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** القرطوفة، العرعار، الزيت العطري، التركيب الكيميائي، النشاط المضاد للفطريات، الأغواط.