

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'enseignement supérieur et de la
recherche scientifique

UNIVERSITE DE JIJEL



Faculté des sciences
Département de biochimie et de microbiologie

MB.09.04

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme d'études
supérieures en biologie

Option : MICROBIOLOGIE.

THEME



Evaluation de l'activité antifongique de certaines
Huiles essentielles sur certaines moisissures
de blé

Le membre de jury :

Présenté par :

** M. BOUHOUS *Président.

** ACHOUR Messaoud

** T. IDOUI *Examinateur.

** BOUDERBALA Nadira

** M. BOULJEDRI *Encadreur.

** BOURAS Ibtissem

Promotion **2004**



REMERCIEMENTS



*Au terme ce travail, il nous est agréable de remercier
Tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à son
Elaboration et nous tenons à exprimer nos plus
Sincères remerciements et notre profonde gratitude
A Mr BOULGEDRI MOUHAMED qui n'a
Jamais cessé de nous témoigner et de nous
Prodiger ses précieux conseil.*

Nous remercions les professeurs :

Mr: M. BOUHOUS

Mr: T. IDOUI

Pour avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et le juger.

Nous tenons aussi à passer nos vifs remerciement à

Les personnels du laboratoire de biologie et

Les personnels de la bibliothèque centrale et

Mr: M. SEBTI

En fin, que soient remerciés bien vivement tout ceux qui chacun

A sa manière, nous ont aidé dans ce travail.

BOUDERBALA NADIRA

ACHOUR MESSAOUD

BOURAS IBTISSEM

MERCI



Sommaire

SOMMAIRE :

Introduction

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE/ I. Les Huiles Essentielles :

1. Généralités :	1
1.1. Définition des Huiles Essentielles	1
1.2. Définition de l'Aromathérapie	1
1.3. Les plantes aromatiques	1
1.4. Composition chimique des Huiles Essentielles	4
2. Classification des Huiles Essentielles	7
2.1. Les Huiles Essentielles Majeurs	7
2.2. Les Huiles Essentielles Médioms	7
2.3. Les Huiles Essentielles de Terrain	7
3. L'extraction des Huiles Essentielles	8
3.1. Extraction au CO ₂	8
3.2. Extraction aux solvants	8
3.3. Extraction par expression	8
3.4. Extraction par effleurage	8
3.5. Extraction par macération	8
3.6. Extraction par la vapeur d'eau	8
4. L'Aromatogramme	10
5. Emplois des Huiles Essentielles	11
5.1. Usages traditionnels	11
5.2. En industrie pharmaceutique	11
5.3. Industrie agro-alimentaire	11
5.4. En cosmétique	11
5.5. Dans la lutte biologique	11
6. Le mode d'action des Huiles Essentielles	12
6.1. Action au niveau des voies respiratoires	12
6.2. Action par voie cutanée	12
7. Les fongicides	12

CHAPITRE/II. Les Moisissures :

1. Généralités sur les moisissures.....	14
1.1. Caractères.....	14
1.2. Structure de l'appareil végétatif	16
1.3. Classification.....	16
1.4. Reproduction.....	17
2. Les conditions de développement des moisissures.....	17
2.1. Les éléments nutritifs.....	17
2.2. Les conditions physico-chimiques	18
2.2.1. L'humidité.....	18
2.2.2. La température.....	19
2.2.3. Le pH.....	21
2.2.4. L'influence de la nature des produits stockés.....	21
2.2.5. La teneur en oxygène.....	21
3. les mycotoxines.....	22
3.1. Définition des mycotoxines.....	22
3.2. Les différentes mycotoxines.....	22
4. Modifications chimiques au niveau des céréales infectées.....	24
4.1. Modifications au niveau des carbohydrates.....	24
4.2. Modifications au niveau des protéines.....	24
4.3. Modifications au niveau des corps gras.....	24

DEUXIEME PARTIE / ETUDE EXPERIMENTALE

1.*Matériel et méthodes :

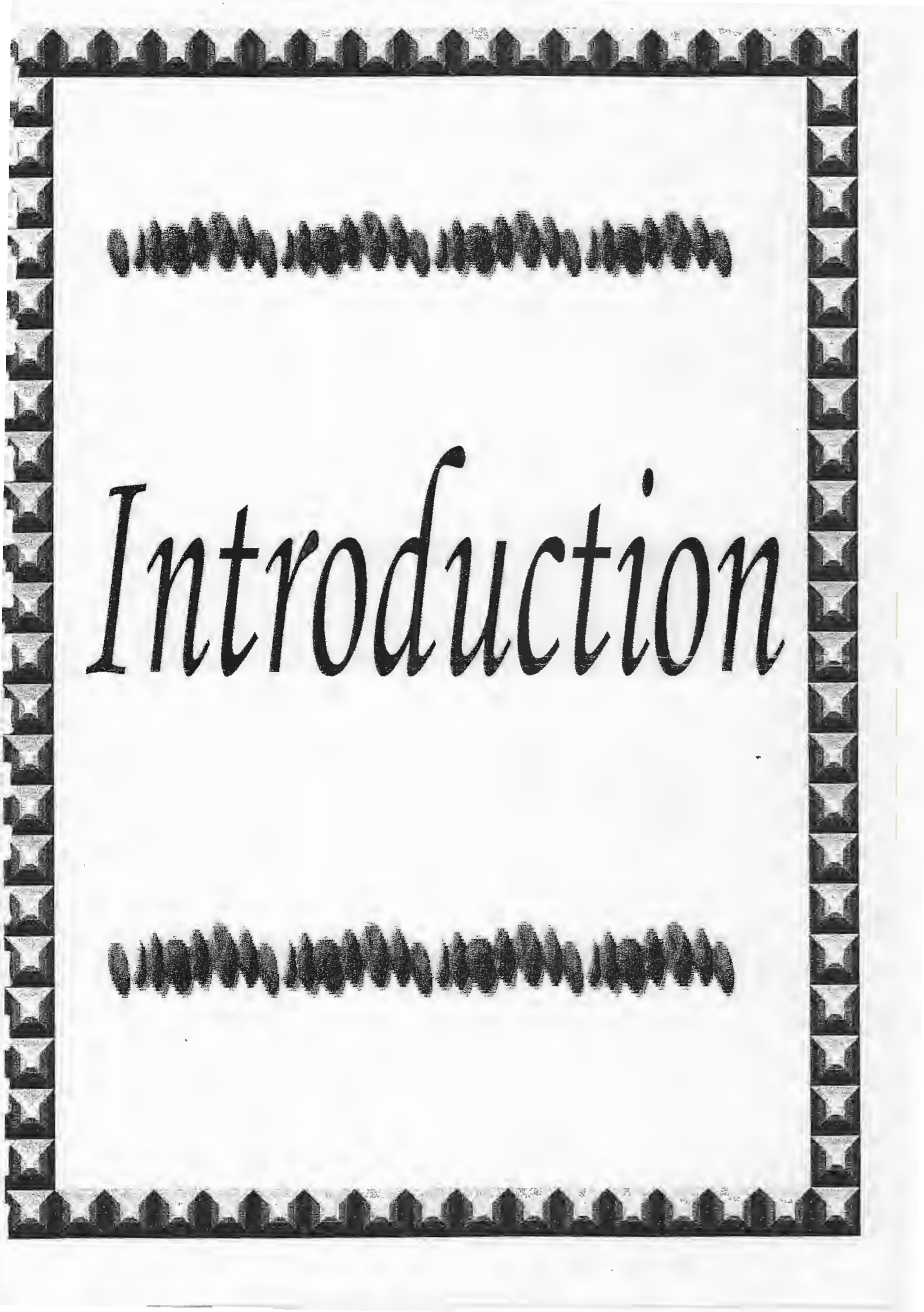
1.1. Matériel.....	26
1.2. Méthodes.....	26
1.2.1. L'isolement.....	27
1.2.2. Purification.....	27
1.2.3. L'aromatogramme.....	28
1.2.4. La mesure du pH.....	28

2.*Résultats et discussion :

2.1.Résultats	29
2.1.1. Résultats de l'observation.....	29
2.1.2. Résultats de l'aromatogramme.....	30
2.2.Discussion :.....	36

Conclusion

Références bibliographiques



Introduction



// LISTE DES TABLEAUX //

Tableau I : Composition chimique de quelques plantes et leurs propriétés.....	2
Tableau II : La composition chimique des huiles essentielles.....	5
Tableau III : Les différentes familles des fongicides et leurs modes d'action.....	13
Tableau IV : Les caractères des principaux moisissures qui affectent les céréales stockées.....	14
Tableau V : Teneur en eau optimale pour la croissance de certaines moisissures.....	19
Tableau VI : L'exigence thermique pour le développement des moisissures.....	20
Tableau VII : Les mycotoxines élaborés par les principales espèces des moisissures qui affectent les céréales stockées.....	23
Tableau VIII : L'identification morphologique des moisissures.....	27
Tableau IX : Le traitement des moisissures par les 5 types d'huiles essentielles.....	28
Tableau X: Les 3 observations microscopiques.....	29
Tableau XI: Les résultats de la 7 ^{ème} journées d'incubation.....	30
Tableau XII : Les résultats de la 13 ^{ème} journées d'incubation.....	30
Tableau XIII : Les résultats de la 2 ^{ème} aromatoگرامme.....	31
Tableau XIV : Les résultats de la 3 ^{ème} aromatoگرامme.....	31
Tableau XV : Le pH des 5 huiles essentielles utilisées et de fongicide...32	



// LISTE DES FIGURES //

- Figure 1** : Un mode de dispositif pour extraction des H.E par entraînement à la vapeur d'eau.....9
- Figure 2** : Représentation schématique d'un aromatoigramme.....10
- Figure 3** : Photographie de l'aromatoigramme.....33
- Figure 4** : Photographie de l'aromatoigramme.....34
- Figure 5** : Photographie de l'aromatoigramme.....35



INTRODUCTION

Les huiles essentielles (H.E) sont des substances odoriférantes, volatiles, complexes, produits par les plantes aromatiques, renfermant des principes actifs utilisées en aromathérapie depuis l'antiquité.[43].

En effet, tous les H.E. naturelles ont des vertus antiseptiques, bactéricides, et cicatrisantes, voire des propriétés fongicides. [21], Ces composés font l'objet actuellement d'un intérêt croissant pour une large gamme d'activités industrielles surtout dans la discipline agro-alimentaire, pharmacologique, et cosmétique[39]. Dans les pratiques traditionnelles, il y a la protection contre les insectes ravageurs des grains de légumineuses par des plantes odorantes ; ces dernières recèlent donc en leur sein un véritable arsenal moléculaire de substance bioactives et l'utilisation de ces molécules dans des formulations pourrait constituer une approche alternative complémentaire aux traitements classiques, car la multiplication des types de traitement entraîne une diminution des phénomènes de résistance et par conséquent une réduction des doses efficaces.

L'objectif de notre travail est de faire une évaluation de l'activité antifongique de certaines H.E. issues de plantes aromatiques sur les moisissures qui contaminent les céréales stockées et particulièrement le blé. Notre étude se divise en deux volets ;

* Dans le premier volet on a fait une analyse bibliographique sur les H.E et leurs activités, ainsi que les moisissures des grains stockés.

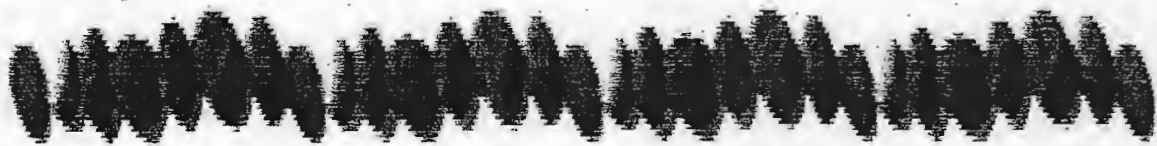
* Le deuxième volet sera consacré à des tests de sensibilité des différents moisissures aux H.E utilisées.

On termine par l'interprétation des résultats et une conclusion.



PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE





CHAPITRE - I -

LES HUILES ESSENTIELLES



CHAPITRE / I. LES HUILES ESSENTIELLES.

1. Généralités:

1.1. Définition des huiles essentielles (H.E.) :

Les H.E. sont des substances liquides, volatiles, aromatiques, de couleur, de densité et d'odeurs variables, extraites généralement par distillation à la vapeur d'eau de certaines plantes. [25].

Elles se retrouvent dans les poches de sécrétions, situées sur les feuilles, ou bien dans des tiges, les fruits ou les fleurs, par fois on les extrait des racines, ou des rhizomes, par fois on les obtient à partir des gommés qui coulent de tronc des arbres. [27].

Les H.E. sont des concentrés des principes actifs contenus dans les plantes, ce sont des produits naturels qui participent à la revitalisation de l'organisme. [43]. Ainsi que les H.E. ne contiennent pas des corps gras comme les huiles végétales [26], elles peuvent être utilisées pures, uniquement sur le conseil d'un médecin aromathérapie, mais toujours en très petite quantité. [15].

Du fait de la concentration de leurs principes actifs, elles entrent également dans la composition de très nombreux produits médicaux (gelules, crèmes, suppositoires, gouttes,...) et cosmétiques. [42].

1.2. Définition de l'aromathérapie :

C'est une branche de la phytothérapie qui traite les maladies par les arômes végétaux, c'est-à-dire les essences aromatiques appelées : H.E. dans le langage médical. [35,25].

Au jour d'hui les H.E. sont utilisées dans plusieurs domaines : la santé, cosmétiques, [21].

1.3. Les plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques représentent une grande importance dans le règne végétal, puisqu'elles sont capables de produire des substances aromatiques naturelles et complexes qui sont des H.E, utilisées en plusieurs domaines : thérapeutiques, cosmétiques, alimentaires,.....ainsi que ces essences végétales possèdent des propriétés bactéricides. [26]. Dans le tableau N° I nous faisons ressortir les principaux constituants et les propriétés thérapeutiques de certains H.E. produit par des espèces appartenant à des familles différentes.



Tableau N° 1 / Composition chimique de quelques plantes et leurs propriétés. [14, 25, 27,32].

Les plantes	Principaux constituants connus	Propriétés
<p><i>Artemisia herba alba</i></p> <p>Famille : <i>Asteraceae</i></p>	<p>*H.E (0,003 à 0,3 %) avec plus de 100 constituants identifiés et dont la composition varie qualitativement 1,8- cinéole, camphre, linalol, thuyone, 4-terpinéol, α-cardinol, spathulenol, (au moins 21 monoterpènes de structures variés), et 8-monolactone.</p> <p>*les constituants majeurs sont : le β-caryophyllène (24%) et le β-cubébéne (12%).</p>	<p>*stimuler les sécrétions gastriques.</p> <p>*traditionnellement employé comme cholérémétique.</p> <p>*antibactérienne.</p> <p>*antifongique.</p>
<p><i>Origanum vulgare</i></p> <p>Famille : <i>Labiataceae</i></p>	<p>*carvacrol (jusqu'à 70%).</p> <p>*thymol (jusqu'à 25%).</p> <p>*alcools libres et estérifiés (2,5% en acétate de géranyle).</p> <p>*carbures : -pcymène. -α-terpinène. -origanène. -un glucoside. -un saponoside.</p>	<p>*antiseptique.</p> <p>*contre les rhumes (infusion).</p> <p>*calme la nervosité.</p> <p>*antiviral.</p> <p>*antibactérien.</p> <p>*stimulant.</p>
<p><i>Myrtus communis</i></p> <p>Famille : <i>myrtaceae</i></p>	<p>*α et β-pinènes.</p> <p>*β-caryophyllène, α-humulène et dihydroxyènes.</p> <p>*linalol, myrtenol, α-terpinéol, terpinène.</p> <p>*acétates de linalyle, myrtenyl de terpényle, myrténate de myrthyle, 1,8-cinéole, caryophyllène oxyde α-méthyllurane.</p> <p>*trans 2-lexanal, n-décanal, farfural, 2-méthyl butanal, myrtenol.</p> <p>*myrtuconulones A et B.</p>	<p>*antibactérien et antiseptique atmosphérique.</p> <p>*possède un pouvoir de tonifier et de contracter les tissus.</p> <p>*il agit contre les peaux grasses et les hémorroïdes.</p>



<p><i>Mentha Pulegium</i></p> <p><u>Famille :</u> <i>Labiataceae</i></p>	<ul style="list-style-type: none">* les flavonoïdes en particulier des flavones polys substituées.* trétépenes, caroténoïdes.* l'H.E représente : 1 à 3% de masse sèche.* pas de stéroïdes.* monotérpenes (pulégone, menton et pépéritone.	<ul style="list-style-type: none">* grande tonique de système nerveuse.* stimulation générale.* stomatique.* antiseptique.* parasiticide.* antalgique.* antispasmodique.* carminatif.* analgésique.
<p><i>Pinus halpensis</i></p> <p><u>Famille :</u> <i>pinaceae</i></p>	<p>*H.E. (0,08-0,13%), monotérpenes : α(60,6%), β-pinènes (17,4%), limonène, sesquiterpenols : borneol, sesquiterpenols : α-adinol, esters terp : acétate de bormyle, sesterpenes : longifotene.</p>	<ul style="list-style-type: none">*toutes les parties de cet arbre contiennent une H.E. Leurs action bien faisant surtout envers l'appareil respiratoire.*tonique de système nerveux (fatigue et angoisse)*joue un rôle anti-inflammatoire, antivirale et antiseptique.



1.4. Composition chimique des huiles essentielles :

Les H.E. sont des substances complexes qui contiennent plusieurs centaines de composants, ces composants peuvent être séparés en groupes chimiques distincts, chacun ayant ses caractéristiques propres. Les H.E. s'inscrivent surtout dans un cadre isoprénique, les différences entre elles résultant des types d'arômes qui les lient à ce cadre. [9].

On peut regrouper ces composants chimiques en 11 familles : [41,9].

- 1* Les esters.
- 2* Les aldéhydes aliphatiques.
- 3* Les cétones.
- 4* Les sesquiterpènes.
- 5* Les lactones et coumarines.
- 6* Les oxydes.
- 7* Les acides.
- 8* Les aldéhydes aromatiques.
- 9* Les monoterpènes.
- 10* Les alcools.
- 11* Les phénols.

On peut regrouper ces 11 familles en 3 classes selon leurs actions : [41].

- 1* Stimulante.
- 2* Sédatrice.
- 3* Rééquilibrante.

La composition chimique d'un mélange d'essences peut aussi fournir des renseignements sur ces propriétés ou son action biologique. [9].

Le tableau N° II, nous donne les propriétés biochimiques de quelques familles de substances chimiques dans lesquelles sont regroupés les H.E.

**Tableau N° II / La composition chimique des H.E. [5, 9, 11, 27].**

les composants chimiques des huiles essentielles	La structure	Propriétés biochimiques
Les monoterpènes	*composés de deux unités d'isoprènes	*antiseptiques, bactéricides, stimulants, expectorants et légèrement analgésiques. *certains sont antiviraux.
Les sesquiterpènes	*composés de trois unités d'isoprènes	*hypotenseurs, anti-septiques et bactéricides. *calmants et anti-inflammatoires. *certaines peuvent être analgésiques ou antispasmodiques.
Les alcools	*composé d'un atome d'hydrogène et un atome d'oxygène se rattachent à des atomes de carbone	*ont des propriétés antiseptiques, et antivirales. Ainsi que des qualités dynamisantes. Généralement ils ne sont pas toxiques.
Les lactones	***	*agissent en hypothermisantes. *elles ont une action mucolytique plus puissante que les cétones.
Les phénols	*une unité d'hydroxyle se rattache à un anneau d'atomes de carbone	*sont plus forts que les alcools. *antiseptiques puissants. Ils sont souvent capables de stimuler les systèmes nerveux et immunitaire. *antibactériennes. *antifongiques.
Les aldéhydes	*formés par l'oxydation des alcools	*anti-inflammatoire. Ils agissent en hypo calmants du système nerveux, hypothermisantes, hypotenseurs, toniques et anti-infectieux. *ils peuvent irriter les muqueuses et la peau.



<p>Les cétones</p>	<p>*un seul atome d'oxygène se lié à un atome de carbone pour former une unité qui se rattache en suite à un composé hydrocarboné</p>	<p>*la majorité sont des neurotoxiques, utilisé avec modération. Ils ont un effet calmant et sédatif. *peuvent faire fondre les graisses, fluidifier les sécrétions, favoriser la cicatrisation et aussi être digestifs, analgésiques, stimulants ou expectorantes.</p>
<p>Les acides, et les esters</p>	<p>*des combinaisons complexes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène</p>	<p>*anti-inflammatoires, fongicides. *sont également efficaces pour les affections cutanées. Ont un effet équilibrant sur le système nerveux, calmant.</p>



2. Classification des huiles essentielles :

Outre la classification selon la composition chimique, il y'a d'autres méthodes de classification des H.E. : selon leurs utilisation et leurs indice aromatique (est le rapport entre le diamètre du halo d'inhibition obtenu par l'aromatogramme et celui d'une H.E. idéale dont l'action germicide serait maximale dans 100% des cas). Grâce à l'indice aromatique on a peu classé les H.E. en 3 groupes. On distingue : [15].

- ** Les huiles majeures.
- **Les huiles médiums.
- **Les huiles terrains.

2.1 Les huiles majeures :

Elles agissent aussi bien sur les bacilles à gramme (+) ou à gramme (-). Ce sont des huiles dont l'action bactéricide est constante et forte. Elles sont toujours efficaces, elles servent en début de traitement et seront remplacées par les essences dites de terrain dont l'action est durable et définitive, leurs indice aromatique varie entre 0,45 et 0,88. [15].

2.2 Les huiles médiums :

Elles sont moyennement antiseptiques, elles assurent la transition entre les majeures et les essences spécifiques nécessaires à chaque malade, elles ont une contribution efficace en cas de thérapie de relais, leurs indice aromatique varie entre 0,10 et 0,45. [15].

2.3 Les huiles de terrain :

Seul l'aromatogramme pourra nous renseigner sur leur pouvoir bactéricide ou bactériostatique, elles sont donc différentes d'un individu à l'autre. Il n'est pas du tout exclu que les huiles majeures agissent également comme les huiles terrains, leurs indice aromatique inférieur à 0,10. [15].

Certaines huiles agissent sur certaines germes par exemple : contre le staphylocoque blanc : (comme l'huile d'origan, huile de Thymus, huile de sarriette...) et contre les *Candida albicans* : (comme l'huile d'origan, huile de Thymus, huile de girofle). [15].



3. L'extraction des huiles essentielles :

Les H.E. se trouvent en générale dans les fleurs et les feuilles, mais on peut aussi les trouver dans les bois, écorces, racines et grains,..... [29]. Il existe plusieurs méthodes d'extraction de ces H.E. Parmi ces méthodes on peut cité :

3.1 Extraction au CO₂ :

Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essences et entraîne les H.E. que l'on récupère en l'état. [34].

3.2 Extraction aux solvants : [28].

Elle consiste à dissoudre l'H.E. dans un solvant non miscible avec l'eau et à séparer la phase organique contenant le composé à extraire de la phase aqueuse.

3.3 Extraction par expression :

C'est une technique physique surtout réservée aux agrumes et qui consiste a récupéré les zestes pour en extraire les essences. [28].

3.4 Extraction par effleurage :

Les fleurs sont mélangées à des graisses, puis les huiles sont récupérées par dissolution dans l'alcool. [33].

3.5 Extraction par macération :

Les plantes macérant dans des huiles et l'on récupère les composées liposolubles. [34].

3.6 Extraction par la vapeur d'eau :

Cette méthode est le procédé le plus courant qui donne les meilleures garanties de qualité. [21], un mode de dispositif proposé se compose de 3 cuves reliées entre elles par des minces tubes. [42].

La 1^{ère} : contient l'eau chauffée doucement et la vapeur passe dans la 2^{ème} cuve qui contient les plantes. Cette vapeur fait éclaté les cellules de ces plantes et libérant les H.E. qui s'évaporent avec elle. Ce mélange gazeux passe dans un long tuyau sous forme de serpentín refroidie dans une cuve d'eau froid, puis elle se condensé en gouttelettes et arrive dans la 3^{ème} cuve. [34]. Voir figure № 1.



Les H.E. etants plus légers que l'eau, donc il suffit de les récupérer en surface, tandis que l'eau qui se trouve en dessous sera utilisée pour crier des eaux florales et des hydrolats. [29,33].

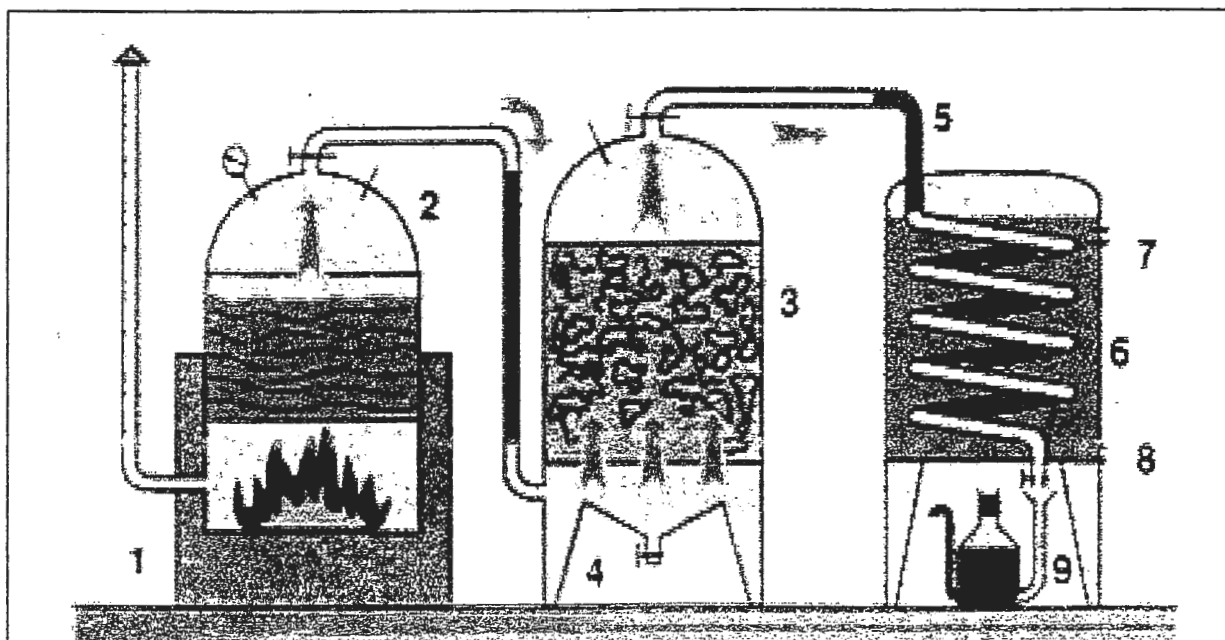


Fig. : N° 1.

Un model de dispositif pour extraction des H.E. par entraînement à la vapeur d'eau. [42].

1-Foyer.

2-Chaudière.

3-Vase à fleurs.

4-Vidande de condensation.

5-Col de cygne.

6-Réfrigérant avec serpentín.

7-Sortie d'eau chaude.

8-Arrivée d'eau froide.

9-Essencier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat.



4. L'aromatogramme :

C'est une technique microbiologique très récente et simple, permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes à différentes H.E, c'est-à-dire, leurs pouvoir antibactérienne et antifongique. [15, 45].

La technique la plus utilisée dans l'aromatogramme est la technique des disques, elle consiste à tester un certain nombre d'H.E. sur un ou des germes isolés par culture d'un prélèvement effectué sur un milieu septique d'un patient (prélèvement de pus sur la peau ou sur une plaie, à partir d'une otite...). [16].

On met dans une boîte de Pétri une gélose nutritive adaptée au germe et sur la quelle on va déposer de manière suffisamment espacée des papier buvard stérilisé de couleur différentes, imprégnés chacun de 6 microlitres d' H.E. précise dont il porte leur nom. [36].

Les boîtes sont placées dans un incubateur, après le développement du germe à la surface du milieu de culture, on constate autour de certaines disques des halos circulaires décolorés, de tailles variables qui caractérisent l'activité germicide de chaque H.E. tester. [15,36].

* Si la zone claire mesure de 2 à 3 millimètre, l' H.E. possède une bonne action sur le germe testé, on lui attribue deux croix (**).

* Si l'halo d'inhibition mesuré plus de 3 millimètre, l'efficacité d' H.E. est excellente et lui sera donné trois croix (***) ,pour son spectre antimicrobien.

* S'il n'y a pas de zone claire, l' H.E ne développe aucune activité sur le germe analysé et elle ne sera pas retenue dans l'établissement de traitement. Voir figure N° 2.

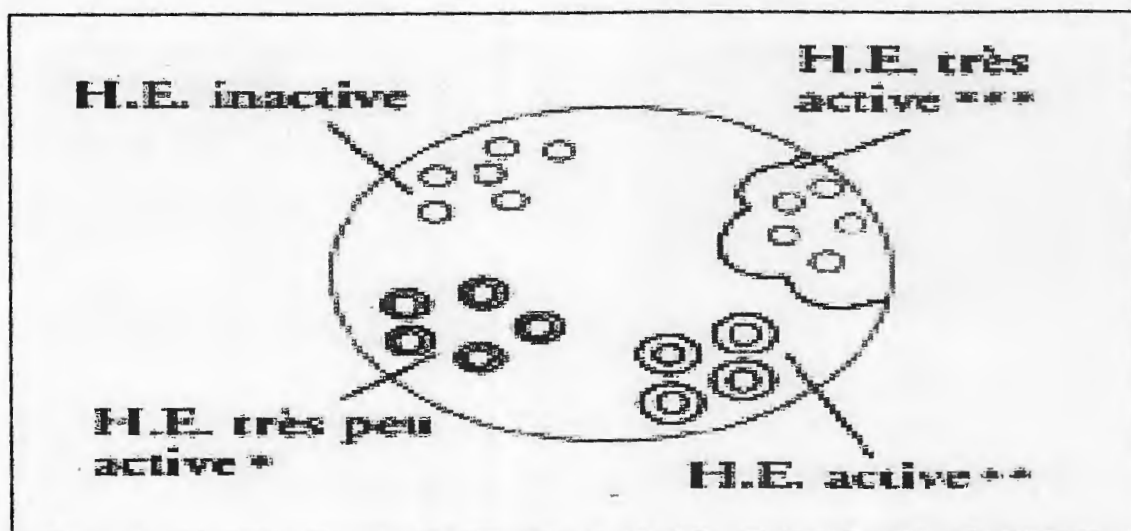


Fig. : N° 2. Représentation schématique d'un aromatoگرامme. [36].



5. Emplois des huiles essentielles :

5.1 Usages traditionnels :

Par voie orale : traditionnellement, les H.E. utilisées dans le traitement des troubles digestifs et de la toux. [5].

Par voie locale : l'efficacité de l'action d' H.E. vient de leur pouvoir de pénétration dans les tissus (peau, muqueuse.). [43]. Par exemple elles utilisent pour le traitement des petites plaies, en cas de rhume, comme antalgique dans l'affection de la cavité buccale,... [5].

5.2 En industrie pharmaceutique :

Les H.E. entrent dans la formation des diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires. [5].

5.3 En industrie agro-alimentaire :

Les H.E et leurs composants actuellement employées comme arômes alimentaires sont également connus par leurs activités antimicrobiennes et pourraient donc servir comme conservateurs alimentaires, de plus elles sont pour la plupart classées généralement comme saines et approuvées comme additifs alimentaires par : « food and drug administration (FDA,USA) ». - [43].

5.4 En cosmétique :

La plupart des grands cosmétiques contiennent des H.E,... pour leurs parfums naturels, bien sûr, mais aussi pour leurs effets bénéfiques sur l'épiderme ou le cuir chevelu, chacun peut, chez soi, fabriquer des huiles de beautés dignes des plus grands cosmétiques en ajoutant quelques gouttes d' H.E. à une huile végétale.[43].

5.5 Dans la lutte biologique :

Il y a certaines H.E. possèdent une activité insecticide, parmi elles : l' H.E. de *thymus vulgaris*. Cette activité est due à la présence de monoterpène phénolique (thymol, carvacrol.). [12].



6. Le mode d'action des huiles essentielles :

Quelque soit la façon d'utilisation des H.E, elles sera transportées par le système sanguin. La finesse des molécules lui permettra aussi de traverser l'épiderme que les alvéoles pulmonaires, elles peuvent aussi provoquer la transmission de signaux directement dans les lobes du cerveau par l'intermédiaire de système nerveux. [9].

6.1 L'action au niveau des voies respiratoires : par inhalation :

Les molécules des H.E. se dissolvent dans le mucus de l'épithélium olfactif couverte des millions de récepteurs qui captent les molécules des H.E. et fait transmettre des signaux a travers des fibres nerveuses directement au lobes du cerveau. [46].

Le système limbique enregistre l'existence de molécule d'une H.E. donnée et en repousse, le cerveau libère des substances chimiques qui communiquent avec le système nerveux pour l'apaiser ou le stimuler, elles peuvent affecter l'organisme physiquement (cas des douleurs) et une très faible quantité d' H.E. participe aux échanges gazeux dans le cas des inhalations (dans les alvéoles pulmonaires). [9].

6.2 L'action par voie cutanée :

Les molécules d' H.E. peuvent traverser l'épiderme pour atteindre le derme qui est bien alimenté par les capillaires, ensuite elles passent du derme dans le système sanguin qui permet de les véhiculer jusqu'aux zones où elles pourront agir le plus efficacement. [9]. On note que les H.E. ne restent pas dans l'organisme, elles sont expulsées de nombreuses manières (exp. l'urine.). [44].

7. Les fongicides :

L'objectif de notre travail c'est la recherche de l'activité antifongique de certaines H.E, pour ce la il est indispensable de parler des fongicides et de leur mode d'action ; qui sont des produits chimiques, utilisés pour inhiber le développement des champignons; il existe plusieurs familles chimiques[38] qui peuvent être résumés dans le tableau suivant N° III.



Tableau N° III/ Quelques différentes familles des fongicides, et leurs modes d'action.[1, 38].

La famille chimique	Site ou mode d'action	Matière actif
Benz imidazole	*Inhibition de formation de tubuline	*Benomyl, carbendazime, thiabendazole, thiophanate, methyl
Dicarboximide	*Effet sur les divisions cellulaires, la synthèse d'ADN, d'ARN et le métabolisme	*Iprodiome, procymidone et vinclozoline
Imidazoles	*Inhibition de la déméthylation à l'état de la biosynthèse de stérols	*Imazolil, prochloraze et manganèse
Pyridine		*****
Pyrimidine		*Fénarinol et nuarimol
Triazoles (notamment les conazole)		*Myclobutanil, difénoconazole, propiconazole et triadiménol
Morpholine	*Inhibition d'une isomérase participant à la biosynthèse de stérols	*Diméthomorphe. *Dodémorphe.
Pipéridine		*Fenpropidine
Organophosphorés	*Inhibition de la chitine et synthèse de phospholipides au moyen du phosphothiolate	*Talclofos et méthyle
Anilide (oxatiinne)	*Effet sur la chaîne de transport mitochondrienne	*Carbathiinne (carbonine), oxycarbonine et flutolanile
Anilinopyrimidine	*Inhibition de la synthèse d'acides aminés	*Cyprodinil, mepanipyryne et pyrimethanil
Strobilurine	*Inhibition de la respiration mitochondriale	*Azonystrobine, krésoxim, méthyle, pyraclostrobine, picoxystrobine et trifloxystrobine

CHAPITRE - II -

LES MOISSISSURES





CHAPITRE : II/ LES MOISSURES.

1. Généralités sur les moisissures :

Le terme de moisissures n'a pas réellement de signification systématique. Il désigne tous les champignons microscopiques qui intéressent l'économie et l'environnement humains de façon bénéfique ou néfaste. [2]. Ce sont des organismes eucaryotes, hétérotrophes, elles doivent donc puiser dans le milieu ambiant : l'eau, les substances nutritives et les éléments minéraux nécessaires à la synthèse de leurs propres matières. [7]. Elles possèdent des structures végétatives connus sous le nom de mycélium (thalle filamenteux) et la propagation s'effectue par des spores. [3].

Le développement normal d'une moisissure comprend une phase végétative de croissance et de nutrition et presque simultanément d'autre est la phase reproductive au cours de laquelle se forme des spores qui assurent la dispersion. La germination des spores est à l'origine de la forme végétative. [37].

1.1. Caractères :

Les moisissures sont des organismes ubiquitaires, qui ont la faculté de coloniser tous les milieux naturels. Le tableau N° IV, nous donne les moisissures inféodées aux grains de céréales.

Tableau : N° IV/ Caractères des principales moisissures qui affectent les céréales stockées. [3, 6, 22, 19].

Les moisissures	Les caractères morphologiques	La matière infectée
<i>Rhizopus</i>	<ul style="list-style-type: none">*sporocystophores non ramifiés.*sporocystes et sporocystophores fortement pigmentés.*spores souvent striés.*columelles brunes.*mycélium non cloisonné.*présence des rhizoïdes.	<ul style="list-style-type: none">*Riz. *Blé.
<i>Mucor circinelloides</i>	<ul style="list-style-type: none">*thalle brun jaunâtre clair, portant sur deux étages des sporocystophores longs et courts.*conidiospore ramifié et columelles globuleuses, grisâtres et atteignant.*spores elliptiques, lisses, clamydospores peu abondantes.	<ul style="list-style-type: none">*Céréales en générale



<i>Fusarium graminarum</i>	*thalle rose, grisâtre, rouge à pourpre, devenant brun vineux, blanc anneaux, pas des micro conidies, phialides, peuvent s'agréger en sporodochies, macroconides fusiforme. Les cellules terminales longues, pointées, clamydospores intercalaires, globuleuses.	* Maïs
<i>Aspergillus Flavus</i>	*appareil végétatif présente sous forme de filament, ramifier, cloisonné, constitué d'un mycélium filamenteux limité par une paroi rigide. *dépourvu de tige, des racines et des feuilles. *coiffée d'une tête conidien subglobuleuse sur la quelle inséré les phialides.	*Riz. *Les céréales stockées.
<i>Penicillium islandicum</i>	*l'extrémité de conidiophore se forme en verticille de 3 à 5 metulae, qui portent chacun 2 à 3 phialides. Souvent assez allongées, qui donnent naissance à longues files des spores. *conidies globuleuses, lisses, à paroi épaisse.	*Riz en stockage.
<i>Penicillium Citréomigrum</i>	*thalle à croissance très réduite, ridé ou sillonné, radialement, velouté à légèrement floconneux, devenant vert gris pale lors de la sporulation et mycélium jaune à brun plus au moins foncé . conidiophores formés sur le mycélium aérien, lisses non renflés en vésicules et ne portant au sommet que 8 à 12 phialides ampulliformes. conidiglobuleuses lisses ou très filament regureuse en courtes chaînes.	*Maïs. *Riz.



1.2. Structure de l'appareil végétative :

L'appareil végétative des moisissures est dépourvu des tiges, des racines et des feuilles, est appelé : "thalle". Ce thalle quelque soit sa complication est formé uniquement de filament mycélien ou hyphes dont l'ensemble constitue le mycélium. On distingue les moisissures à thalle septé et d'autre à thalle siphonné (non cloisonné). [23].

*Les moisissures à thalle septé :

Chez de nombreuses espèces les hyphes laissent apparaître des cloisons transversales. [3, 19].

*Les moisissures à thalle siphonné (non cloisonné) :

Le mycélium est formé d'une série des siphons plurinucléés. [3].

1.3. Classification :

Du point de vu systématique, les moisissures sont réparties entre 3 classes regroupées en sous la division des *Amastigomycota*

***Division / Amastigomycota** : pas de cellules mobiles.

Cette dernière division englobe des sous divisions regroupant la majorité des moisissures.

***S/Division/ 1** : *Zygomycotina* :

Mycélium sans cloisons, reproduction asexuée; le plus souvent par sporocystospores ou par fois par conidies exogènes, reproduction sexuée de gamétocystes.

Cette sous division renferme : **Classe/1** : *Zygomycètes*.
: **Classe/2** : *Trichomycetes*.

***S/Division/ 2** : *Ascomycotina* :

Thalle à mycélium septé ou unicellulaire (levure).
Reproduction sexuée par formation des spores méiotique (ascospores) dans des asques, reproduction asexuée par conidies.



En atmosphère d'azote; certaines moisissures se développent fort ; bien d'autres voient leurs croissances réduites. De faibles quantités de gaz carbonique (CO₂) sont nécessaires à la germination des spores de *Aspergillus niger*, de trop fortes concentrations inhibent leurs développements. La composition chimique du substrat a une influence sur la production des toxines [4], à titre indicatif, la production des aflatoxines est activée par un substrat riche en amidon, par contre la production de zearalénone est activées par un substrat cellulosique. [10].

2.2 Les conditions physico-chimiques :

Il y a plusieurs facteurs physico-chimiques qui influencent le développement des moisissures qui sont : l'humidité, la température, l'oxygène, le pH et la nature du substrat. [4].

2.2.1 L'humidité :

Tout le monde sait que les moisissures apparaissent après un accroissement accidentel de l'humidité. En effet, la quantité d'eau disponible dans le substrat et l'ambiance environnent est très importante pour limiter leur développement. Il y a échange permanent entre l'environnement et le support jusqu'à atteindre un point d'équilibre à la surface de ce dernier ou pourra se développer les moisissures. [31].

Pour les aliments, cette valeur est définie comme l'activité de l'eau ou "aw". Elle est approximativement inverse de l'humidité relative. [23].

L'humidité relative minimum pour que commencent à se développer certaines moisissures dites : xérophiles est de 65 à 70 % (*Eurotium, Aspergillus*). [37]. Au fur et à mesure que l'humidité augmente, s'installent ensuite des moisissures différentes de plus en plus nombreuses 80 à 90%. Ainsi, selon l'espèce identifiée sur un substrat on peut approximativement définir l'évolution de l'humidité relative de celui-ci, la seule façon d'éviter le développement des contaminants fongiques est donc bien de maintenir une hygrométrie faible dans l'environnement. [40]. Voir tableau № V.

Tableau : N° V/ teneur en eau optimale pour la croissance de certaines moisissures. [4, 31].

Moisissures	Humidité du milieu (%)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	14,5 à 16,5
<i>Aspergillus flavus</i>	18 à 19,5
<i>Fusarium graminearum</i>	22,2
<i>Fusarium sp.</i>	21,2 à 33

2.2.2 La température :

Si la température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores.[7].

La plupart des moisissures se développent entre 15 et 30°C avec une croissance optimale aux environs de 20 et 25°C. Certaines moisissures sont aptes à se développer à la fois à des températures basses et élevées. Pour d'autres, les températures minimales et maximales de croissance sont assez rapprochées.[40]. Cependant, il peut y avoir des particularités pour certaines espèces ainsi que l'on définit des températures cardinales qui sont les températures minimales, optimales et maximales de croissance. [37, 4]. Voir le tableau N° VI.



Tableau : N° VI/ L'exigence thermique pour le développement des moisissures. [8, 4, 17].

Les types	Températures	Exp. : des moisissures
<u>Mésophiles :</u> Maximum : Minimum : Optimum :	< 50 °C > 0 °C 15 – 30 °C	La plupart des moisissures
<u>Thermophiles :</u> Maximum : Minimum : Optimum :	50 °C 20 °C 35-40 °C	*****
<u>Thermotolerants :</u> Maximum : Minimum : Optimum :	50°C > 0 °C 15-40 °C	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus niger</i>
<u>Psychrophiles :</u> Maximum : Minimum : Optimum :	20 °C < 0 °C 0-17 °C	<i>Fusarium nivale</i> <i>Cladosporium erbarum</i> <i>Thamnidium elegans</i>
<u>Cryophiles :</u>	Se développent surtout à des températures plus basses que celles des psychrophiles	*****



2.2.3 Le pH :

Les moisissures sont peu sensible au pH; mais préfèrent les pH légèrement acides (pH=5), ce qui les différencie des bactéries et permet de les séparer. [7].

Ils peuvent même descendre jusqu'à (pH=2) (exp : *Aspergillus niger* et *Aspergillus oryzae*). [37]. Leurs développements entraîne une alcalinisation progressive du milieu. La croissance d'une moisissure et la production des toxines sont liées l'une à l'autre mais la production des mycotoxines s'effectue dans des conditions légèrement différentes de celles de la croissance. [17].

2.2.4. Influence de la nature du substrat :

Au cours du stockage, en plus de la nature chimique; c'est l'état physique de la denrée qui intervient le plus pour favoriser la croissance des micromycètes. [4].

Un produit comme des grains, s'il est broyé, même grossièrement pourra être envahi plus rapidement par les moisissures. Les téguments de la graine assurant un effet protecteur. [17].

La composition chimique du substrat favorise la croissance des moisissures, comme aussi, elle favorise la production des mycotoxines. Par exemple : les produits riches en amidon favorisent la production des aflatoxines, alors que les produits riches en cellulose favorisent la production des zéaralenones. [7].

2.2.5 La teneur en oxygène :

Les moisissures exigent de l'oxygène pour se développer. Elles sont aérobies; mais certaines peuvent s'adapter à une atmosphère plus riche en gaz carbonique que l'air. [4]. Certaines supportent une forte baisse de pression d'oxygène. Elles sont dites micro aérophiles. Par exemple : *Penicillium roqueforti*, *Penicillium expansum* et l'*Aspergillus niger* ; qui supportent jusqu'à 4,2% d'oxygène. [7].



3. Les mycotoxines :

3.1 Définition :

Le terme mycotoxine vient du grec " mycose ", qui signifie champignon et du latin " toxicum ", qui signifie poison. Il désigne les substances chimiques toxiques produites par certaines moisissures qui se développent sur certaines denrées alimentaires ; en particulier sur les céréales. [13].

Les mycotoxines sont des contaminants des céréales. Il est donc normal d'en trouver en faible quantité dans les récoltes. Elles peuvent apparaître sur les grains des céréales au champ ou lors du stockage et en raison de leurs stabilités, se retrouver dans les produits alimentaires plus élaborés. [7].

3.2 Les différentes mycotoxines :

On peut résumés les mycotoxines rencontrées dans les céréales :

*Les aflatoxines :

Aflatoxines : B₁, B₂, G₁ et G₂.

Produites par le genre d'*Aspergillus*. [13].

*L'ochratoxine A : (O.T.A)

Produite par le *Penicillium verrucosum* et les moisissures qui développent fréquemment au cour du stockage des céréales. [13].

*Les fumonisines :

Il s'agit d'un groupe d'une quinzaine de mycotoxines qui apparaissent fréquemment sur le Maïs. [7].

*La zéaralenone : (ZEA)

Produite par certains espèces de *fusarium*. [13].

Le tableau № VII rassemble les différentes mycotoxines produits par les moisissures des céréales stockés.

Tableau : N° VII/ Les mycotoxines élaborés par les principaux espèces des moisissures qui affectent les céréales stockés. [10, 7, 13, 24].

Les moisissures	Produits contaminants	Substances élaborés	Propriétés des substrats élaborés
<i>Aspergillus Flavus</i>	*arachides *les céréales	Les aflatoxines Acide aspergillique ou acide kojique.	*les aflatoxines rencontrés sur les produits végétaux (céréales), sont généralement : B ₁ , B ₂ , G ₁ et G ₂ . *la B ₁ est la plus important, c'est la plus toxique, la plus fréquemment et abondamment, elle dérive de la comarine. Il existe très grandes différences de sensibilité à la B ₁ d'une espèce animale à une autre. l'intoxication aigue se traduit par la mort. *les syndromes d'intoxication chronique consistent à une inappétence et un ralentissement de croissance. Il y à congestion, hémorragés rénales et hépatiques. *l'aflatoxine est un des plus puissants hépatocarcinagées actifs par buccale connus. *les aflatoxines se présentent sous forme de cristaux à point de fusion élevée.
<i>Penicillium islandicum</i>	*Riz	islandicine iridoskyrine agluconique isranditonine lutéoskyrine cyclochrotine	* la premier substrat qu'elle est isolée. *ils sont des pigments
<i>Fusarium graminearum</i>	*Maïs	Une toxine : zéaralenone	*Est de nature polysacharidique à l'origine des troubles nemovegetatifes *une molécule à l'effet œstrogène provoquant chez les animaux sensible des anomalies au niveau de l'appareil générale.



4. Modifications chimiques au niveau des céréales infectées :

4.1. Modifications au niveau des carbohydrates :

Les carbohydrates dont le poids moléculaire est élevé comme l'amidon, la cellulose et la pectine sont soumis à une action enzymatique de nature fongique, en les transformant en composés simples. Ces moisissures sont principalement : *Aspergillus*, *Penicillium* qui excrètent des enzymes (cellulase), qui dégradent la cellulose, l'amylase et qui dégrade l'amidon, en le transformant en sucres : glucose, maltose. [24].

4.2. Modifications au niveau des protéines :

Les protéines sont attaquées par les moisissures protéolytiques (Protéase) qui hydrolysent et dégradent les substances protéiques. [24]. Le développement des moisissures dans les aliments riches en protéines provoque l'émission d'odeur nauséabonde et une profonde modification de la consistance et du goût des aliments. [4].

Ces odeurs résultantes de la dégradation des acides aminés et les peptides de faible poids moléculaires. Parmi les substances produites nous avons : H_2S , mercaptan, indole, des amines telles que : cadaverines et putrescines, l'ammoniac et d'autres composés gazeux (H_2 , CO_2). [24].

4.3. Modifications au niveau des corps gras :

Les corps gras subissent une hydrolyse par l'action des lipases en donnant des acides gras. [4]. Le degré de la réaction d'hydrolyse est proportionnel au nombre des moisissures. [10].

Le degré d'acidité est le critère le plus simple dans la détermination de la qualité des grains. [4].

Le maïs jaune à une humidité de 15,5 à 16,5% et une température de 25 à 30°C, subit une augmentation du degré d'acidité qui est proportionnelle à la durée de conservation et au degré de détérioration des grains par les moisissures. Le degré d'acidité augmente plus dans les grains fracturés par *Aspergillus glaucus* et *Aspergillus parasiticus* que dans les grains non fracturés. [4].



L'altération des corps gras et la présence des acides gras libres sont à l'origine d'acidification des grains, en particulier la présence d'acide butyrique, l'acide caprique, acide caproïque et les cétones méthyle, résultent de l'action des lipases qui hydrolysent les triglycérides. Parmi ces moisissures nous avons : *Penicillium roquefortii*, *Rhizopus oligospatus* et *Aspergillus flavus*. [24].



DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE



1.* Matériel et méthodes :

L'objectif principal de notre étude est l'évaluation de l'activité antifongique des H.E de quelques espèces végétales ; cela nécessite des tests par la méthode de l'aromatogramme in vitro de quelques genres fongiques inféodés aux céréales stockées. Les essais sont réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences université de jijel.

1.1. Matériel :

Pour la réalisation de nos essais on'a d'une part utilisé un matériel végétal, représenté par des grains de blé moisés récupérés au niveau du port – DJENDJEN et des espèces de plantes récoltées dans la région d'ELMILIA apartir des quelles l'équipe des étudiants de biochimie a fait l'extraction des H.E.par hydrodistillation. Ces espèces sont :

- * *Artemisia herba alba* (famille : *Composées*).
- * *Origanum vulgare* (famille : *Labiées*).
- * *Pinus sylvestris* (famille : *Pinacées*).
- * *Mentha pulegium* (famille : *Labiées*).
- * *Myrtus communis* (famille : *Myrtacées*).

L'identification des 5 espèces des plantes à été fait au niveau de laboratoire de sciences. Université de jijel.

D'autre part, on a utilisé un matériel de laboratoire à savoir :

Un microscope optique de marque « **MOTIC** » pour l'examen microscopique, des lames et lamelles, des pinces pointues pour le prélèvement des sporanges et mycélium, les anses de platine, des disques de papier buvard imprégnés d'H.E. pour réalises l'aromatogramme, une étuve de marque « **MEMMERT** » pour l'incubation à 25°C, un pH metre pour mesurer le pH des 5 H.E, un bec bunsen, un bain marie de marque « **MEMMERT** » pour préparer le milieu de culture, des boites de pétri, l'eau distillée et le fongicide « **Difénoconazole** »pour les essais témoins. La dilution est 300‰.

Le milieu de culture utilisé est le milieu **Sabouraud**.

Les H.E sont extrémés apartire des parties sous terrain de la plante.

1.2. Méthodes :

Dans notre travail nous avons d'abord procéder à l'isolement des moisissures apartir de blé moisie sur milieu de culture sabouraud, après l'isolement on passe à la purification des genres fongiques présents, puis on passe au test de sensibilité vis-à-vis des différentes H.E. basé sur le diamètre du halo claire.



1.2.1. Isolement :

Il consiste à faire séparer l'ensemble des moisissures présente dans les échantillons de blé moisie (les moisissures de surface) et les moisissures de sous grains, il faut fracturer et casser ces grains, puis on a fait un ensemencement de tout le mélange (les grains et la casse) dans des boîtes de Pétri contenant le milieu sabouraud près du bec bunsen, puis on fait l'incubation à 25°C pendant 15 jours.[3]

1.2.2. Purification :

Après 15 jours d'incubation des boîtes d'isolement on a fait un ensemble de repiquage successifs des colonies à partir de ces boîtes. Le repiquage se fait dans des boîtes de Pétri contenant le milieu sabouraud. La première observation nous a permis de purifier les genres fongiques : *Mucor* et *Rhizopus* puis lors de la deuxième observation (quelques jours après) on a purifié le genre *Aspergillus*. [3]

L'identification de ces genres est basée sur le guide de détermination de RIEUF 1993. [22]. Voir tableau N° VIII.

Tableau N° VIII : L'identification morphologique des moisissures [3,22].

Moisissures	Caractères
<i>Mucor</i>	<ul style="list-style-type: none">*spores globuleuses, blanches ou un peu colorées*pourvu d'une columelle*dépourvu de rhizoïdes*mycélium non cloisonné*sporocystophores ramifié
<i>Rhizopus</i>	<ul style="list-style-type: none">*sporocystes et sporocystophores fortement pigmentés*sporocystophores non ramifiés*présence des rhizoïdes*mycélium non cloisonné*pourvu de columelle, brunes et globuleuse
<i>Aspergillus</i>	<ul style="list-style-type: none">*mycélium cloisonné*conidiophores renflés en vésicules, non ramifié*présence des phialides sur les vésicules*les conidies en chaînette, globuleuses



1.2.3. L'aromatogramme :

C'est une technique microbiologique qui permet d'étudier comme un antibiogramme le pouvoir antibactérien et antifongique des H.E. [16], pour cela a proximité du bec bunsen on a coulé dans des boîtes de Pétri le milieu sabouraud. Après refroidissement, on ensemence les spores et les fragments de mycélium de chaque genre de moisissures isolé, puis on dépose les disques de papier buvard de diamètre 4 à 6 mm, préalablement préparés et imprégnés d'une H.E et d'autre imprégné de fongicide chimique « difenoconazole » dilué selon la notice d'utilisation. Trois répétitions pour chaque essais et chaque moisissure a été traité séparément par une H.E. voir tableau N° IX.

Tableau N° IX : Le traitement des moisissures avec les 5 types d'huiles essentielles.

	La 1 ^{ère} boîte	La 2 ^{ème} boîte	La 3 ^{ème} boîte	La 4 ^{ème} boîte	La 5 ^{ème} boîte
<i>Aspergillus</i>	Disque d'H.E d' <i>origan</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E d' <i>artemisia</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>pinus</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>myrthe</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>menthe</i> + Disque de fongicide
<i>Rhizopus</i>	Disque d'H.E d' <i>origan</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E d' <i>artemisia</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>pinus</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>myrthe</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>menthe</i> + Disque de fongicide
<i>Mucor</i>	Disque d'H.E d' <i>origan</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E d' <i>artemisia</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>pinus</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>myrthe</i> + Disque de fongicide	Disque d'H.E de <i>menthe</i> + Disque de fongicide

1.2.4. La mesure du pH :

On a mesuré le pH des 5 types d' H.E et de fongicide qu'on a utilisées. voir tableau N° XV.



RESULTATS
ET
DISCUSSION



2.* Résultats et discussion :

2.1. Résultats :

2.1.1. Résultats de l'observation :

Après isolement et purification des champignons sur le milieu sabouraud, on a fait 3 observations, après le 5^{ème}, 10^{ème} et le 15^{ème} jour, résumées dans le tableau N° X.

Tableau N° X: Les 3 observations microscopiques.

Les boîtes	L'observation		
	Le 5 ^{ème} jour	Le 10 ^{ème} jour	Le 15 ^{ème} jour
La 1 ^{ère} boîte	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> <i>Aspergillus</i>
La 2 ^{ème} boîte	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> <i>Aspergillus</i>
La 3 ^{ème} boîte	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>
La 4 ^{ème} boîte	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>
La 5 ^{ème} boîte	<i>Mucor</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> <i>Aspergillus</i>
La 6 ^{ème} boîte	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>
La 7 ^{ème} boîte	<i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>
La 8 ^{ème} boîte	<i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i>



2.1.2. Les résultats de l'aromatogramme :

Les résultats de la 1^{ère} observation se fait après le 7^{ème} jour de l'aromatogramme et sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° XI : Résultats après 7 jours d'incubation.

	H.E de <i>Pinus</i>	H.E d' <i>Origan</i>	H.E de <i>Myrthe</i>	H.E de <i>Menthe</i>	H.E d' <i>Artemisia</i>	Fongicide
<i>Rhizopus</i>	Négatif	Positif
<i>Mucor</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Aspergillus</i>	Négatif	Négatif	Positif

La 2^{ème} observation après la 13^{ème} journées de l'aromatogramme. On a résumée les résultats dans le tableau N° XII.

Tableau N° XII : Résultats après 13 jours d'incubation.

	H.E de <i>Pinus</i>	H.E d' <i>Origan</i>	H.E de <i>Myrthe</i>	H.E de <i>Menthe</i>	H.E d' <i>Artemisia</i>	Fongicide
<i>Rhizopus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Mucor</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Aspergillus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif



Comme on a dit précédemment, l'aromatogramme a été répété 3 fois.

Les résultats de la 2^{ème} aromatoigramme après 10 jours d'incubation on a les résumées dans le tableau N° XIII.

Tableau N° XIII : Les résultats de la 2^{ème} aromatoigramme.

	H.E de <i>Pinus</i>	H.E d' <i>Origan</i>	H.E de <i>Menthe</i>	H.E de <i>Myrthe</i>	H.E d' <i>Artemisia</i>	Fongicide
<i>Rhizopus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Mucor</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Aspergillus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif

Les résultats de la 3^{ème} aromatoigramme après 10 jours d'incubation on a les résumées dans le tableau N° XIV.

Tableau N° XIV: Les résultats de la 3^{ème} aromatoigramme.

	H.E de <i>Pinus</i>	H.E d' <i>Origan</i>	H.E de <i>Menthe</i>	H.E de <i>Myrthe</i>	H.E d' <i>Artemisia</i>	Fongicide
<i>Rhizopus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Mucor</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
<i>Aspergillus</i>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif



Tableau N° XV: Le pH des 5 huiles essentielles utilisées et du fongicide.

	Le fongicide	H.E de <i>Myrtus</i>	H.E d' <i>Artemisia</i>	H.E de <i>Pinus</i>	H.E de <i>Menthe</i>	H.E d' <i>Origan</i>
Le pH	5.30	3.51	4.11	3.91	2.23	3.84

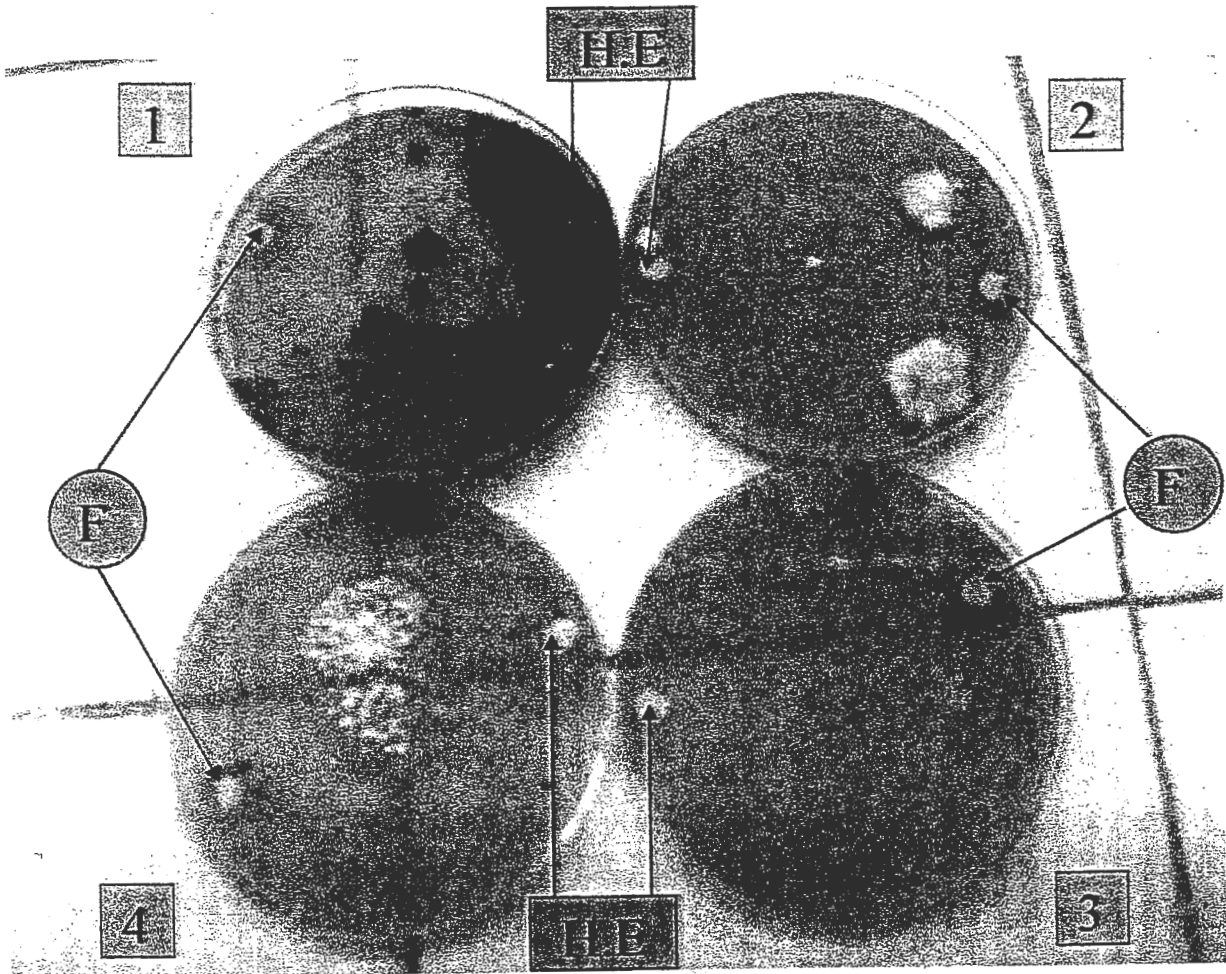


Fig. № 3/ Photographie de l'aromatogramme.

F / Disque imprégné de fongicide.

H.E / Disque imprégné d' H.E.

Boite 1 / *Rhizopus* + H.E de *Mentha pulegium*.

Boite 2 / *Aspergillus* + H.E de *Myrtus communis*.

Boite 3 / *Aspergillus* + H.E d' *Origanum vulgare*.

Boite 4 / *Aspergillus* + H.E de *Pinus halepensis*.

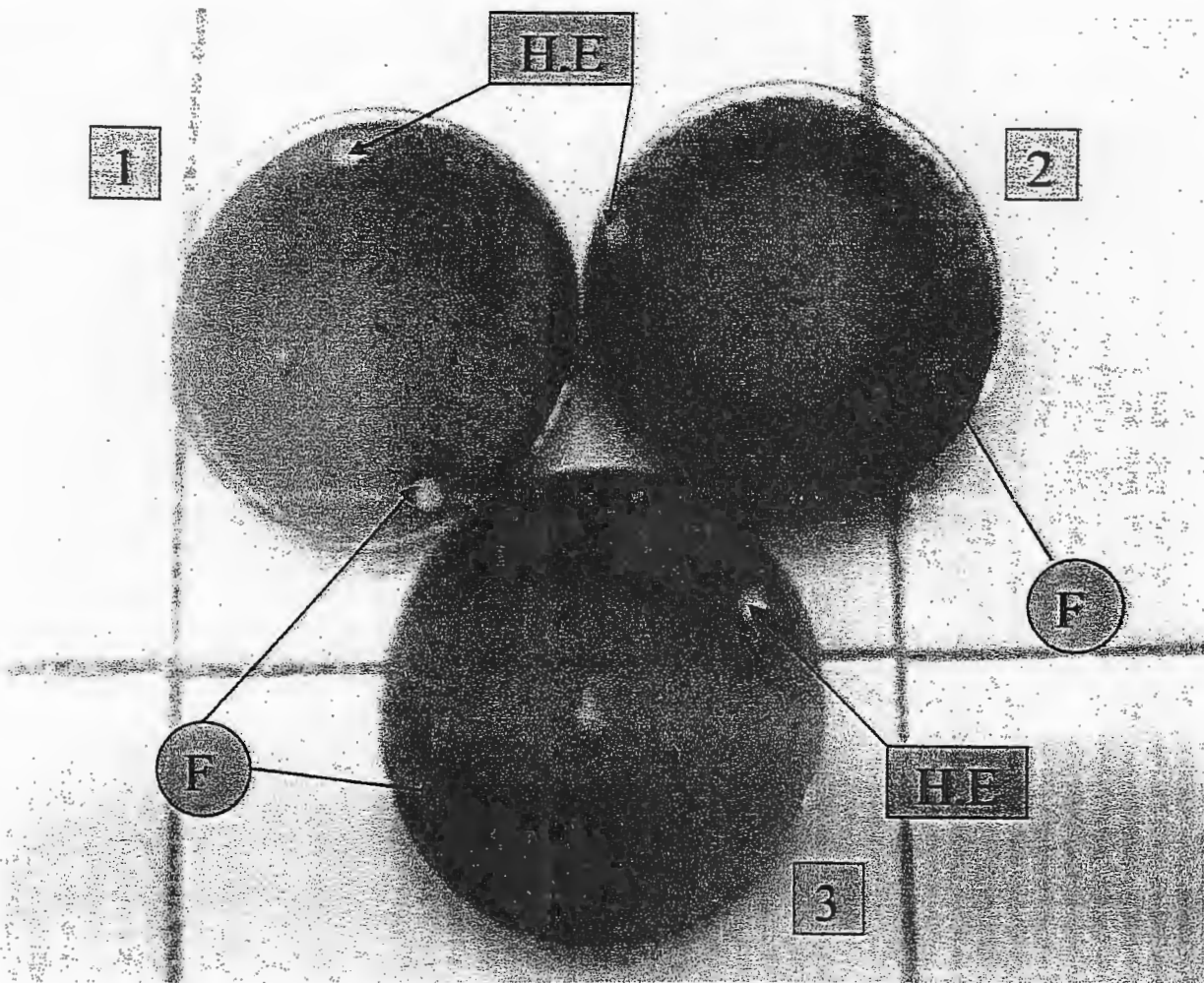


Fig. : N° 4/ Photographie de l'aromatogramme

F / Disque imprégné de fongicide.

H.E / Disque imprégné d' H.E.

Boite 1 / *Mucor* + H.E de *Mentha pulegium*.

Boite 2 / *Rhizopus* + H.E de *Pinus halepensis*.

Boite 3 / *Rhizopus* + H.E d' *Origanum vulgare* .

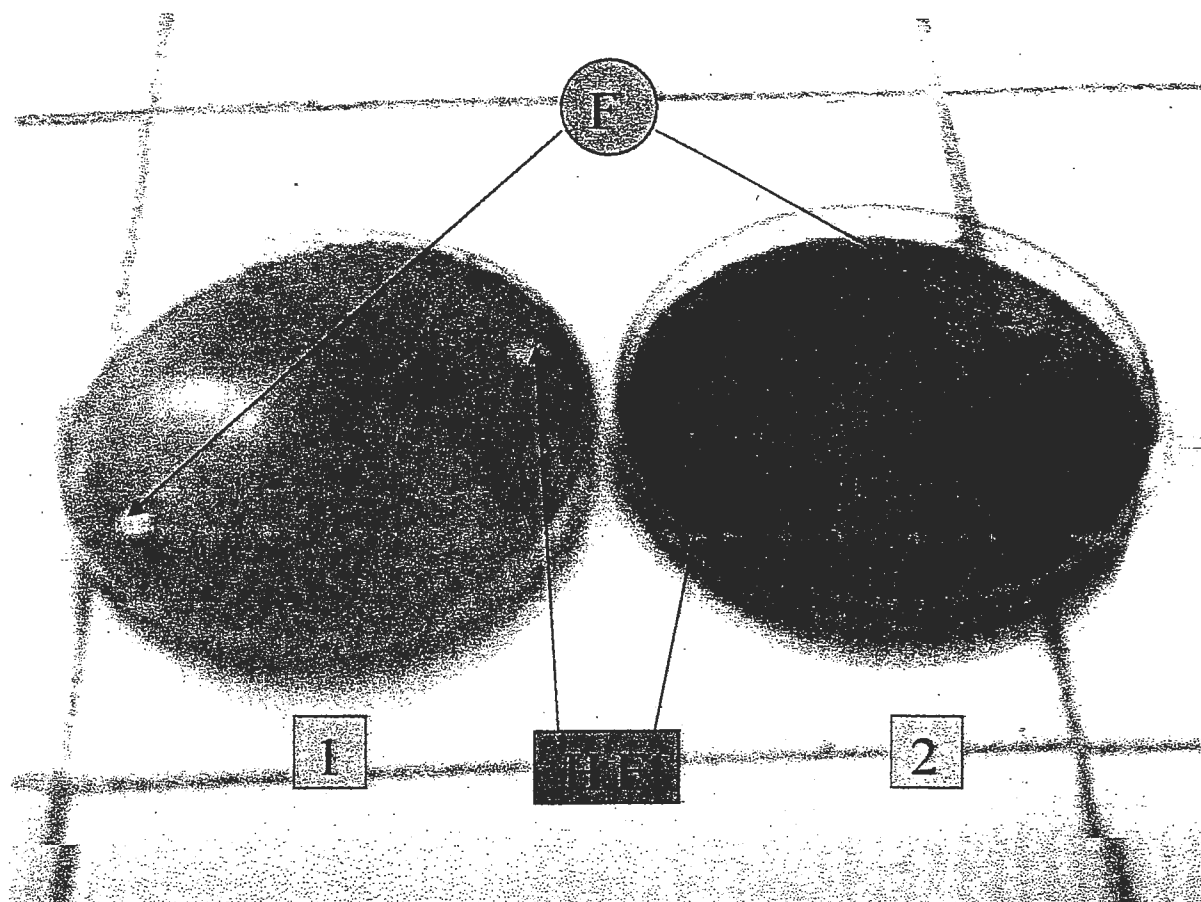


Fig. № 5/ Photographie de l'aromatogramme

F / Disque imprégné de fongicide.

H.E / Disque imprégné d' H.E.

Boite 1 / *Mucor* + H.E de *Artemisia herba alba*.

Boite 2 / *Rhizopus* + H.E de *Myrtus communis*.



Discussion générale

2.2.* Discussion :

Dans le but d'une estimation des effets antifongique de 5 types différents d'H.E des plantes d'*Artimisia*, *Origan*, *Pinus*, *Menthe* et *Myrthe*, obtenus par hydrodistillation, nous avons procédé dans une première étape l'isolement et la purification des moisissures qui altèrent le blé stocké.

Dans une deuxième étape, nous avons fait le traitement des moisissures purifier qui sont: *Aspergillus*, *Mucor* et *Rhyzopus* par des différents types des H.E précédents.

Les trois moisissures ne montre aucune sensibilité vis a vis des 5 extrais. Les moisissures tolèrent une forte acidité (pH=2 à 5) et la composition des H.E possèdent des acides se qui lui donne une forte acidité, donc le pH des moisissures voisin au pH de ces H.E. [3].

Les mesures de pH indiqués dans les résultats montre que le pH de fongicide est encore voisin au pH qui tolères les moisissures, ce qui montre que l'effet du fongicide sur la croissance des moisissures est due certainement a sont effet toxique et non pas a sont pH.

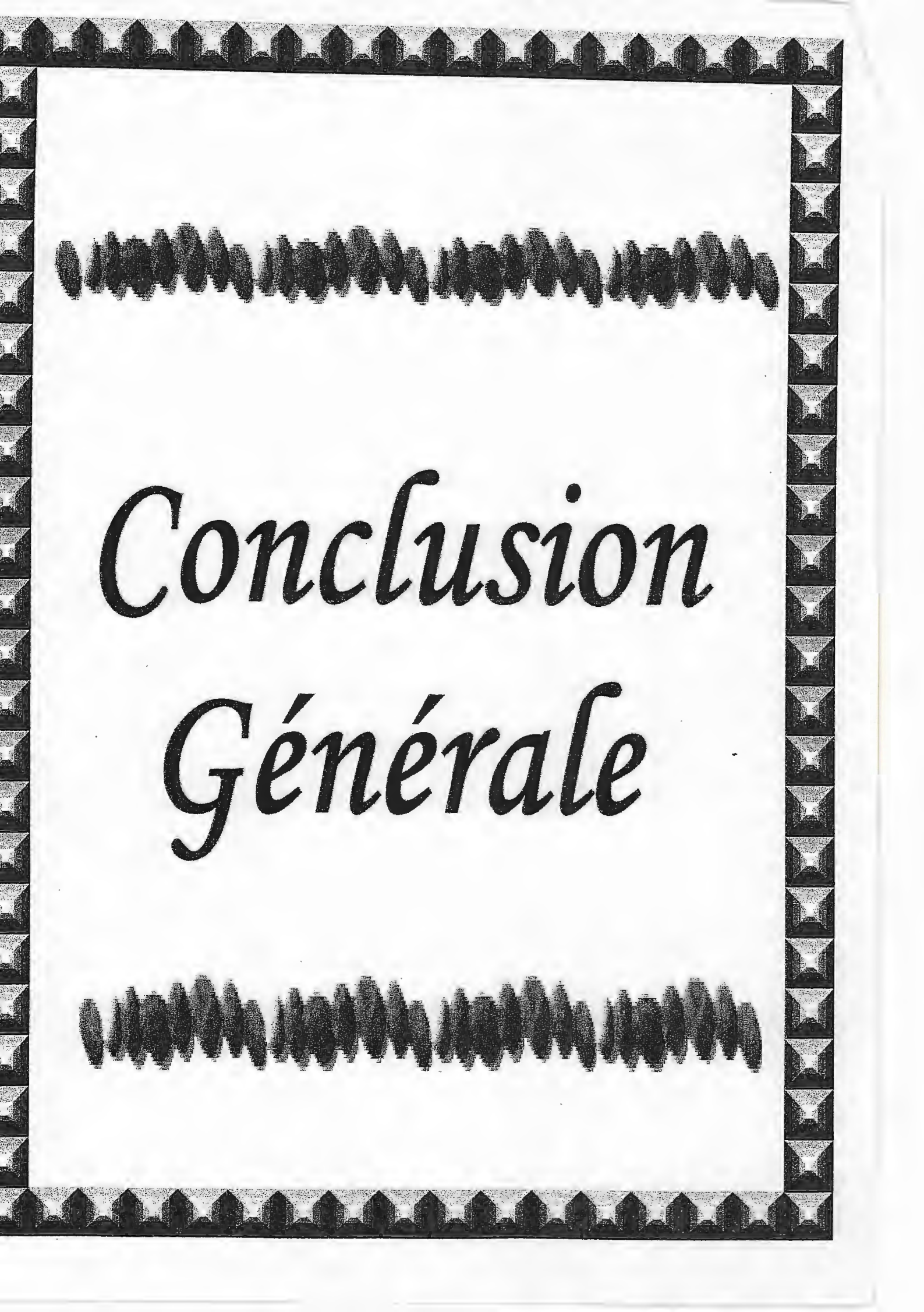
Les résultats lus sur l'aromatogramme s'avèrent tous négatifs (pas d'action antifongique des H.E utilisées).

D'après l'analyse bibliographique, ces résultats peuvent être expliqué par les hypothèses suivantes :

* La méthode d'extraction des H.E peut affecter leur composition chimique, car certaines molécules sont très volatiles.

* L'écologie, le stade de maturité et la période de récolte de la plante peuvent aussi en avoir une influence sur le métabolisme secondaire de la plante et par conséquent la composition chimique des H.E élaborées diffère chez la même espèce de plante.

Alors, pour valider cette approche, il serait indispensable d'effectuer des études complémentaires concernant la méthode d'extraction, les différentes espèces de plantes selon leur écologie et leur stade de maturité et de faire des testes sur les différents étapes de développement des moisissures (spores, tube germinatif, mycélium), car chacun de ces stades étant doté d'une structure et d'un métabolisme distincts.



*Conclusion
Générale*



Conclusion

Conclusion :

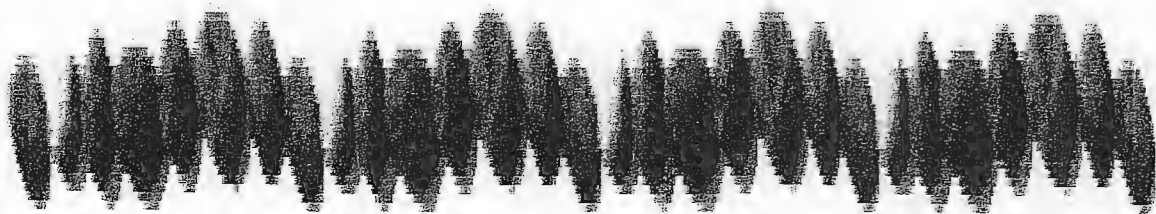
Les plantes aromatiques sont connues des l'antiquité pour leurs propriétés médicinales condimentaires et alimentaires. Elles sont également utilisées dans de nombreux domaines industriels (parfumerie, cosmétique,etc.). A ces secteurs pourrait s'ajouter un nouveau domaine celui du phytosanitaire, outre des propriétés antiseptique et insecticide, les plants aromatiques présentent des propriétés antifongiques. [42].

En effet, les résultats des essais réalisés pour l'évaluation de l'activité antifongique des différentes H.E testées sur les moisissures des genres *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* isolées à partir du blé stocké, sont tous négatif, malgré que certains auteurs signale la présence d'une activité antifongique de certains H.E particulièrement celle de l'*Origon* d'Espagne ; il est donc indispensable de signaler que chez les végétaux plusieurs facteurs peuvent affectés la composition chimique des H.E produit, à savoir les conditions climatiques, le degré de maturité de la plante ; voir la technique d'extraction.

En fin nos résultats ne sont plus exhaustifs, car il s'agit bien d'un essai de recherche, une réflexion complémentaire associée à des moyens pourrait être envisager en vue de définir avec précision les chémotypes efficaces des H.E de chaque plante lie à son biotope.



*Références
Bibliographiques.*





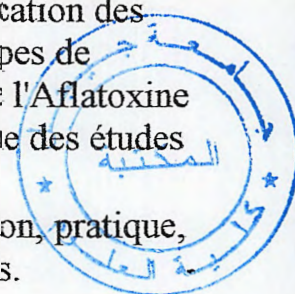
// Références bibliographiques //

- [1] **Alice C. Violaine L. 2004.** Index phytosanitaire, Acta 2004, association de coordination. Technique agricole, 40^{ème} édition, Paris.
- [2] **Botton B. Breton A. Fever M. Guy PH. Larent JP. Veau P, 1985.** Moisissures utiles et nuisibles, importances industrielles, édition MASSON, Paris.
- [3] **Botton B. Breton A. Fever M. Ganthier S. Guy PH. Larpent JP. Reymond P. Sanghier JJ. Kayssier Y. Veau P. 1990.** Biotechnologie, Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition, MASSON, Paris, Milan, Barcelone.
- [4] **Bounama F. Kahala O. Medjrab N. 1999.** Moisissures pathogènes, mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme des études supérieures, Université de Constantine.
- [5] **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, ed. Tech et doc, Lavoisier, Paris.
- [6] **Cahagnier B. 1998.** Moisissures des aliments peu hydratés, Technique et documentation on lavoissier, London, New York, Paris.
- [7] **Cahner. Milton. F L. 1984.** Les mycotoxines : connaissance actuelles et risque pour la santé publique dans la chine alimentaire.
- [8] **Ciegler. Amdilleho A. E E. 1968.** Mycotoxines advappl, Microbial.
- [9] **Clare w. Kone M. 1999.** Guide illustré du bien être, aromathérapie, . Hong kong.
- [10] **Derach. R P. 1986.** Toxicologie des grains et gramaines et produits derives, Vol : 12.
- [11] **Eberlin T. 1994.** Les antibiotiques, classification, mode d'action, utilisation thérapeutique, ed. Nathan, Paris.
- [12] **Isman M B. Andrew J. Wan. Passreit Ter C M. 2001.** Insecticidal activity of essential oils to the tabacco cutworm, Vol: 72, ISS.
- [13] **Jeau F Q. 2002.** Les mycotoxines, Institut national de la recherche agronomique, PME N° 3, France.
- [14] **Jean V. 1979.** Aromathérapie, Traitement des maladies par les essences des plantes, Librairie Maloine.
- [15] **Jean V. 1990.** Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes, 11^o édition : Maloine, Paris.



References bibliographiques

- [16] **Jean V. Durafford CH. Lapaz J CL. 1979.** Une médecine nouvelle, phytothérapie et aromathérapie, presses de la renaissance, Paris.
- [17] **Krim B. Bouchair L. 1992.** Recherche et essais d'identification des moisissures contaminants quelques céréales, mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures, Université de Constantine.
- [18] **Madelin M F. 1966.** The fungus spore, Butterworths, ed: London.
- [19] **Patrick B. 1996.** Organisation et biologie des champignons, ed : NATHAN.
- [20] **Pilet Ch. Bourden. J L. Toma B. Marchal N. Balbastre C. 1997.** Bactériologie médicale et vétérinaire, ed : Doin, Paris.
- [21] **Raymonde T. Marie. Françoise D. 1994.** Huiles douces et plantes à parfums, EdiSud, France.
- [22] **Rieuf P. 1993.** Clé d'identification des champignons rencontrés sur les plantes marichées, Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- [23] **Samson A. Hoekstra. E S. 1988.** Introduction to food-Borne fungi, C B S, ed: Bearn, Hollande.
- [24] **Seghirou M. 1995.** Contribution à l'isolement, et l'identification des moisissures contaminant la semoule dans ses différents étapes de fabrication dans la région de Constantine, et la recherche de l'Aflatoxine B₁, mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme des études supérieures, Université de Constantine.
- [25] **Wichth M. Anton R. 1999.** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique, ed : TEC et DOC, Paris.



- [26] **الشحات نصر أبو زيد; ديسمبر 1992.** النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية و الدوائية, الطبعة الثانية, الدار العربية للنشر و التوزيع. القاهرة.
- [27] **بينلوب أودي, 1999.** الكامل في الأعشاب و النباتات الطبية, أكاديمية انترناسيونال لبنان.
- [28] **دلهوم الوافي; إبراهيم رسلان, 2001.** استخلاص الزيوت الطيارة من نبات *Thymus algeriensis*. واستعماله ضد البكتيريا الممرضة وفطريات التعفن. مذكرة التخرج لنيل شهادة دبلوم دراسات عليا. جامعة الجزائر.



- [29] محمد السيد هيكل; عبد الله عبد الرزاق عمر, 1993.
النباتات الطبية والعطرية, كيمياؤها- إنتاجها- فوائدها, الطبعة الثانية. دار
المعارف بمصر.
- [30] محمد علي احمد, 1991.
عالم الفطريات, الطبعة الأولى, الدار العربية للنشر و التوزيع.
- [31] محمد علي احمد; محمد عبد الرزاق النواوي, 1999.
الفطريات الصناعية, الطبعة الأولى, الدار العربية للنشر و التوزيع- مدينة نصر.
- [32] مختار سالم.
أعشاب لكنها دواء, دار المريخ للنشر, الرياض.
- [33] سليمان العسكري, 2001.
مجلة العربي, العدد 510, شركة صخر- الكويت.

Sites d'Internet

- [34] www.aci-multimedia.net
- [35] www.aromalves.com
- [36] www.beauteetnature.com
- [37] www.culture.fr
- [38] Directive d'homologation, DIR 99-06.
www.he-sc.gc.ca
- [39] www.e-voyance.com
- [40] www.fao.org
- [41] fecta.unige.ch
- [42] www.feminin.ch/sante/aroma/aromatherapie
- [43] www.hela-vitalit.com
- [44] www.naturemania.com
- [45] www.naturo-veterinaire.com
- [46] penntybio-free.fr

الملخص /

في إطار دراسة فعالية الزيوت الأساسية (زيت: الشيح، النعناع، الريحان، الزعيترة و الصنوبر) من نباتات منطقة جيجل، و المستخلصة بطريقة التقطير البخاري على مستوى مخبر علم الأحياء الدقيقة بكلية العلوم – جامعة جيجل، على عفنيات الحبوب المخزنة بميناء جن جن بولاية جيجل؛ تمكنا من عزل الأجناس : *ASPERGILLUS, RHIZOPUS* , *MUCOR* حيث بينت التجارب التي قمنا بها والمتضمنة معالجة هذه العفنيات بمختلف الزيوت الأساسية السابقة الذكر بأن ليست لها فعالية ضدها.

RESUME/

Dans le cadre d'une estimation des effet des huiles essentielles obtenus par Hydro distillation au niveau de laboratoire de la faculté des Science de l'Université de JIJEL à partir des plantes des : *l'ARTEMISIA, MENTHE, MYRTHE, ORIGAN*, et *PINUS* de la région de JIJEL sui les Moisissures des Céréales stocké au niveau de port : JENJENE (JIJEL), nous avons isolé les genres : *ASPERGILLUS, MUCOR* et *RHIZOPUS*.

Les résultats obtenus après le traitement de chaque Moisissures par différents types d'huiles essentielles précédents, ont révélé que ces Moisissures, ne montre aucune sosisibilité.

SUMMARY/

Within the frame work to estimate the effect of essential oil of tained by hydrodistilation in the laboratory of science faculty of JIJEL UNIVERSITY frome plantes: *ARTEMISIA, MENTHE, MYRTHE, ORIGAN* and *PINUS* of JIJEL aeréa on moisissurs of cereal stored in the port of JENJENE, we isolated the gener: *ASPERGILLUS, MUCOR, RHIZOPUS* after the traitement of each moisissurs by different essential oil the results revealed that these moisissurs dont show no sensibility.

Mots-clés: Les H.E, Plantes aromatiques, Aromatogramme, Moisissures, Fongicides.

PROMOTION : * 2003 – 2004 *