



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بو عريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

**Evaluation de l'activité de l'huile essentielle
de *Thymus vulgaris* vis-à-vis
d'*Alternaria alternata*, moisissure de blé de stockage
non traité**

Présenté par : CHELBAB Besma

MIHOUB Nawal

Soutenu le: 2018/2019;

Devant le jury :

Président :	M ^{me} BOUGUERRA Asma	MAA	(Université de BBA)
Encadrant :	M ^{me} BENSGHIR Hadjira	MAA	(Université de BBA)
Examineur :	M ^{me} FATMI Widad	MCB	(Université de BBA)
Co encadrant :	M ^r SADRATI Nouari	MAA	(Université de BBA)

Année universitaire : 2018/2019

Liste des abréviations

UFC: unités formatrices de colonies

EMA: Ether Monométhyle d'Alternariol

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

AOH: Alternariol

TeA: Acide Ténuazonique

ALT: Altenuene

iso-ALT: iso-Altenuene

T. vulgaris: *Thymus vulgaris*

Liste des figures

Figure 01: Distribution géographique du thym dans le monde	10
Figure 02 : Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i>	12
Figure 03 : Les différents chémotypes de <i>Thymus vulgaris</i>	14
Figure 04: Les feuilles sèches de <i>Thymus vulgaris</i>	17
Figure 05: Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger.....	18
Figure 06: Activité antifongique d'huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> par la méthode de contact direct.....	21
Figure 07: L'extraction des huiles essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	24
Figure 08: L'isolement <i>Alternaria</i> à partir des grains de blé stockés non traité.....	25
Figure 9: L'obtention des souches pures après plusieurs repiquages.....	25
Figure 10: L'observation macroscopique d' <i>Alternaria altrenata</i>	26
Figure 11: L'observation microscopique d' <i>Alternaria altrenata</i> au grossissement 640.....	27
Figure 12: L'observation microscopique d' <i>Alternaria altrenata</i> au grossissement 1600.....	27
Figure 13: Effet d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> à différentes concentration (μ l/20 ml de PDA) sur <i>Alternaria</i>	28

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION 1

Synthèses bibliographique

I. LE BLE STOCKE NON TRAITE..... 3

I.1. LES MOISSURES CONTAMINEES LE BLE 3

I.2. TAXONOMIE DU BLE 3

I.3. PARAMETRES D'ALTERATION DES GRAINS 3

I.3.1. Facteur abiotique 3

I.3.1.1. La température 3

I.3.1.2. Humidité relative 3

I.3.1.3. La teneur en oxygène 3

I.3.1.4. Altérations physiques 3

I.3.2. Facteur biotique 3

I.3.2.1. Altérations d'origine enzymatique 3

I.3.2.2. Altérations d'origine biologique 4

I.4. STOCKAGE ET CONSERVATION DU BLE 4

I.4.1 Différentes méthodes de stockage du blé 4

II. Les *Alternaria* 7

II.1. *Alternaria alternata* 7

II. 1.1. Définition 7

II.1.2. Classification taxonomique 7

II.1.3. Biologie 7

II.1.4. Le pouvoir pathogène 7

II.1.4.1 Taches alternariennes 7

II.1.4.1.2 L'alternariose 7

II.1.5. Les *Alternaria* producteurs de mycotoxines 7

III. LA PLANTE *Thymus vulgaris*.10

III.1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE10

III.1.1- Dans le monde10

III.1.2. En Algérie10

III.2. TAXONOMIE10

III.3 DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE10

III.4. HABITAT12

III.5. LES HUILES ESSENTIELLES13

III.5.1. Localisation et lieu de synthèse13

III.5.2. Composition chimique13

III.5.2.1. Notion de chémotype 14

III.6. METHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES15

IV. LES EFFETS DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *Thymus vulgaris* SUR LES MOISSURES15

Materiel et méthodes

I. MATERIEL.....17

I.1. MATERIEL VEGETAL.....	17
I.2. MATERIEL DE LABORATOIRE	17
I.3. MILIEU DE CULTURE	17
I.3.1. Milieu de potato dextrose agar (PDA)	17
II. METHODE	18
II.1. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES PAR HYDRODISTILLATION	18
II.2. ETUDE MYCOLOGIQUE DES GRAINS DE BLE STOCKE NON TRAITES	20
II.2.1. Isolement de la flore fongique	2
II.2.2. Purification des isolats	Erreur ! Signet non défini.
II.2.3. Identification des isolats.....	20
II.2.3.1. Etude des caractères culturaux macroscopique	20
II.2.3.2. Etude des caractères morphologiques microscopiques	21
III. ESSAIS D'ACTIVITES ANTIFONGIQUE	21

Résultat et discussion

I. LES RESULTATS:.....	24
I.1. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	24
I.2. ETUDE MYCOLOGIQUE DES GRAINS DE BLE STOCKE NON TRAITES	24
I.2.1. Identification macroscopique	26
I.2.2. Identification microscopique.....	26
I.3. L'EFFET ANTIFONGIQUE D'HUILE ESSENTIELLE <i>Thymus vulgaris</i>	27
II. DISCUSSION	29
CONCLUSION.....	30

Résumé

Le thym (*Thymus vulgaris*) est un des labiées les plus utilisés depuis l'antiquité en médecine traditionnelle reconnus par ses vertus thérapeutiques. Dans ce contexte, le présent travail sur l'étude de l'évaluation l'activité antifongique de se huile essentielle.

Les extraits naturels issus des végétaux contiennent une variété de composés phénoliques ainsi que des huiles essentielles auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes.

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* extrait par hydrodistillation a été étudiée sur *Alternaria alternata* qui a isolé et purifié à partir de blé stocké non traité sur milieu de culture PDA.

Les résultats microbiologiques montrent qu'*Alternaria alternata* est plus sensible avec une concentration d'inhibition de 10 µl/ml des huiles essentielles de thym.

Ces données montrent que les huiles essentielles constitueraient une solution alternative aux conservateurs synthétiques dans le domaine agroalimentaire.

Mots clé: *Thymus vulgaris*, les huiles essentielles, blé, activité antifongique, *Alternaria alternata*.

Abstract

The thyme (*Thymus vulgaris*) is one of the most used labis since ancient times in traditional medicine recognized by its therapeutic virtues. In the contexte, the present work on the evaluation study the antifungal activity of essential oil

Natural extracts from plants contain a variety of phenolic compounds as essential oils that assigns to inhibit microorganisms

The antifungal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* extract by hydrodistillation was studies on *Alternaria alternata* which isolated and purified from untreated stored wheat on PDA culture medium.

The microbiological results show that *Alternaria alternata* is more sensitive with an inhibition concentration of 10 µl/ml essential oils constitute an alternative solution to synthetic preservatives in the agri-food sector.

Key words: *Thymus vulgaris*, essential oil, wheat, antifungal activity, *Alternaria alternata*.

ملخص

الزعر (*Thymus vulgaris*) هو واحد من اكثر النباتات المستخدمة من العصور القديمة في الطب التقليدي المعروف بفضائله العلاجية. في هذا السياق يتعلق العمل الحالي بدراسة النشاط المضاد للفطريات لزيتوه الاساسية. المستخلصات الطبيعية للنباتات تحتوي على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية وكذلك الزيوت الاساسية التي يعتقد انها تمنع تكاثر الكائنات الحية الدقيقة.

تمت دراسة النشاط المضاد للفطريات للزيت الاساسي للزعر والذي تم استخراجه عن طريق التحلل المائي على *Alternaria alternata* و الذي تم عزله و تنقيته من القمح المخزن غير المعالج في وسط زراعي. PDA اظهرت النتائج الميكروبيولوجية ان *Alternaria alternata* اكثر حساسية بتركيز تثبيط 10ميكرو لترامل من الزيوت الاساسية للزعر.

تبين هذه المعطيات ان الزيوت الاساسية هي الحل البديل للمواد الحافظة الاصطناعية في قطاع الاغذية الزراعية **الكلمات المفتاحية:** *Thymus vulgaris* , الزيوت الاساسية, القمح, النشاط المضاد للفطريات, *Alternaria alternate*

Remerciement

*Avant tout nous remercions ALLAH qui nous a
donné la santé la volonté et la passion de réaliser ce
travail.*

Hommage respectueux aux membres jury:

Mme. BOUGUERRA Asma

Mme. BENSGHIR Hadjira

Mme. FATMI Widad

Sincères remerciements,

*A Mr. SADRATI et M^{me}. Wahiba nous avoir soutenu
durant la période de réalisation de ce travail,*

*A tous ceux qui nous ont apporté leur support moral
et intellectuel tout au long de notre démarche.*

Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur
Mohamed le messager de Dieu*

*Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui me
sont chères:*

MES TRÈS CHÈRE PARENTS:

*Mon père adoré et ma mère chérie qui ont été toujours à mes
côtés.*

A mes sœurs bien aimées: Aya, Rim, Amina

A mon chère frère: Imad-eldin

*A mes chère amies: Nawal, Asma, Samia, Yousra, Kenza,
Loubna et Salma.*

*Tous mes collègues de la promotion Mastre 2 Microbiologie
appliquée 2018/2019.*

Besma

Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur
Mohamed le messenger de Dieu Je dédie ce modeste travail à
toutes les personnes qui me sont chères:*

MES TRÈS CHÈRE PARENTS:

*Mon père adoré et ma mère chérie qui ont été toujours à mes
côtés.*

A mon mari: Lotfi.

Mon petit-fils: Mouaïz-eldîn.

A mes sœurs bien aimées: Manel, Basma.

A mes chères frères: Imad-eldîn, Youcef et Iyad

*A mes chère amies: Besma, Samia, Yousra, Kenza, et
Loubna.*

*Tous mes collègues de la promotion Mastre 2 Microbiologie
appliquée 2018/2019.*

Nawal

Introduction

Introduction

Le blé est l'une des principales céréales cultivées dans le monde, avec le riz, le maïs, l'orge et le sorgho. Elles fournissent plus de 60% des calories et des apports en protéines de l'alimentation humaine. Une des particularités du blé réside dans la forte teneur en amidon (70%) et en gluten (15%) de ses grains. Le blé est au centre de l'alimentation humaine en tant qu'ingrédient principal pour la fabrication du pain, de la semoule, des biscuits et des pâtes (Zia-Ur-Rahman, 2006).

Dans la plupart des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la période de consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage.

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Ils sont omniprésents dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats. Les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales: Mycotoxines), réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques due aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés. (Gacem ,2012)

Actuellement, la consommation des produits traités par les fongicides et les insecticides comme la phosphine, le malathox et le digran, etc...présente des effets néfaste sur la santé. (Belyagoobi 2005)

De nombreux travaux indiquent l'apparition des résistances des moisissures vis-à-vis de ces substances chimiques. Ces substances causent à la fois des problèmes toxicologiques et écologiques. (Belyagoobi 2005)

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

Le principal objectif de notre travail est l'évaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les moisissures du blé stocké.

Notre travail été réparti en deux parties:

- une partie relative à l'étude bibliographique comprend trois chapitres le premier chapitre consacré à l'étude du blé stocké non traité. Le second chapitre sur l'étude d'*Alternaria alternata* et enfin le dernier porte sur la plante aromatique.
- Une autre partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres: l'un présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Chapitre I
Généralité sur le blé
stocké non traité

I. Le blé stocké non traité

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

I.1. Les moisissures contaminées le blé

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

I.2. Taxonomie du blé

Le blé est une plante annuelle appartenant à la famille des graminées qui s'adapte à des sols et des climats variés (Fredot, 2012).

La classification botanique de cette plante est donnée selon Feillet (2000) comme suit :

Famille: Gramineae

Sous-famille: Festucoideae

Tribu: Triticeae

Aveneae

Sous-tribu: Triticineae

Genre: Triticum

Espèce: Triticum aestivum L.

Triticum durum Desf

Nom commun: Blé tendre

Blé dur

I.3. Paramètres d'altération des grains

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

I.3.1. Facteur abiotique

I.3.1.1. La température

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

I.3.1.2. Humidité relative

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

I.3.1.3. La teneur en oxygène

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

I.3.1.4. Altérations physiques

Elles sont dues à des chocs lors des opérations de manutention répétées et/ou brutales entraînant la fissure, voire la cassure des grains. Lorsque la structure granulaire est détruite, les constituants peuvent entrer plus facilement en contact avec les microorganismes et les enzymes (Berhaut *et al.*, 2003).

I.3.2. Facteur biotique

I.3.2.1. Altérations d'origine enzymatique

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

l'ensemble des équipements enzymatiques complexes qui régissent les phénomènes de respiration et de fermentation (Multon, 1982).

I.3.2.2. Altérations d'origine biologique

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

I.4. Stockage et conservation du blé

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

I.4.1 Différentes méthodes de stockage du blé

Stockage traditionnel

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

Stockage en silos

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

Stockage en gerbe

Ce type de stockage est mieux encore que celui en épis car le grain est protégé contre l'échauffement et les insectes notamment les charançons, mais les gerbes exigent davantage de travail à la récolte et au transport. Il a deux principaux avantages, le premier c'est qu'il

permet de répartir le battage sur tout l'hiver, le second est de permettre une bonne conservation sans séchage artificiel des grains relativement humides (Multon, 1982).

Stockage en épis

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

Chapitre II
Alternaria alternata

II. Les *Alternaria*

Les *Alternaria* sont des champignons fréquents dans notre environnement. Ils appartiennent aux moisissures atmosphériques. Ils peuvent être isolés de végétaux très divers. *Alternaria* comprend près de 275 espèces (Simmons, 2007) avec des modes de vie saprophytes et phytopathogènes qui peuvent affecter les cultures sur champ ou les produits végétaux pendant la récolte et post-récolte (Logrieco et al., 2009). Autant que parasites de faiblesse, les *Alternaria* sont capables de mener une existence saprophytique pendant des périodes plus ou moins longues. Certains, tels qu'*A. chartarum*, *A. consortiale*, *A. tenuis*, etc., ont un habitat le plus souvent saprophytique et se rencontrent couramment sur des débris organiques ou les végétaux morts. Quelques espèces, comme *A. solani*, *A. dauci* et ses formes, *A. linicola*, *A. zinniae*, etc., vivent au contraire à l'état de parasites sur des plantes encore apparemment vigoureuses (Messiaen et al., 1991). Ce sont des champignons mésophiles, leurs activités prédominantes disparaissent lorsque la température s'élève (Botton et al., 1990).

II.1. *Alternaria alternata*

II. 1.1. Définition

Alternaria alternata est un champignon filamenteux cosmopolite ubiquiste. Communément isolé à partir de plantes, de sols, de nourriture corrompue ainsi que de l'air ambiant des habitations. *Alternaria* est un Pathogène de végétaux ; se comporte surtout comme un parasite de faiblesse et se développe sur des plantes sénescents, sur des légumes, sur des débris organiques divers, sur le sol, sur des produits alimentaires, sur le papier etc. (Anonyme 4 ; 2006)

II.1.2. Classification taxonomique

selon (Kustrzeba-Wójcicka et al., 2014)

Règne: Champignons

Division: Ascomycota

Classe: Euascomycetes

Ordre: Pleosporales

Famille: Pleosporaceae

Genre: *Alternaria*

Espèce: *Alternaria alternata*

II.1.3. Biologie

- ✓ *Alternaria alternata* est une espèce saprophyte (Requiert des conditions moyennes d'humidité)= Aw 0,85-0,88
- ✓ Croissance optimale obtenue à la température de 25°C et à pH 4-5,4. Mais ce champignon peut se développer dans une gamme de pH assez large allant de 2,7 à 8 et pour température maximal entre 30-32°C.
- ✓ Contenu en eau des spores : 86% ; sous des conditions très sèches, elles restent viables pendant plusieurs années.
- ✓ *Alternaria alternata* est une espèce cellulolytique; elle utilise les éléments suivants comme source de carbone: D-galactose; maltose; raffinose; saccharose. Et comme source d'azote: acétamine; acétate et oxalate d'ammonium ; acide L-aspartique ; acide L-glutamique ; Ca(NO₃)₂ ; Glycine ; peptone ; urée. (Andersen 1et *al.*,2000)

II.1.4. Le pouvoir pathogène

II.1.4.1 Taches alternariennes

Dommmages: Les taches brunes tirant vers le brun jaunâtre, circulaires, de petites à grandes, dispersées sur la feuille peuvent être causées par des champignons des genres *Alternaria*. Ce sont généralement des agents pathogènes faibles, qui peuvent également vivre en saprophytes sur les tissus morts. Les taches foliaires causent rarement d'importants dégâts dans les cultures. (Halonen *et al.*, 1997)

II.1.4.1.2 L'alternariose

Provoquée par *Alternaria alternata* ; La maladie provoque surtout des dégâts en climat continental, chaud et sec, mais est accentuée en culture irriguée. L'alternariose est favorisée par la sénescence des plantes et des conditions climatiques bien précises :

- température élevée (20-25°C) et rosée pendant la nuit pour permettre l'infection,
- alternance de périodes humides et ensoleillées pour la formation des conidies et la sporulation.

La dispersion des spores est assurée par le vent et les éclaboussures de pluie (Kwon-Chung et Bennett. 1992).

Le stockage des graines contaminées peut favoriser l'accumulation de toxines surtout étudiées pour l'espèce *A. alternata*. Les *Alternaria* sont donc des champignons très communs et cosmopolites (Linas *et al.*, 1999). L'air joue un rôle important dans la dispersion des spores. Les spores d'*Alternaria* sont des allergènes. Les spores sont également infectieuses déterminant le plus souvent des formes cliniques cutanéopidermiques favorisées par certains facteurs: diabète mal équilibré, corticothérapie (Badillet, 1991).

Les spores fongiques produisent aussi des protéines allergènes qui peuvent causer des maladies immunotoxiques, tels que l'asthme (Bush et Portnoy, 2001). Les chercheurs rapportent un nombre croissant de patients présentant une allergie respiratoire, en particulier les enfants (Emeryk et *al.*, 2004).

II.1.5. Les *Alternaria* producteurs de mycotoxines

Les champignons du genre *Alternaria* appartiennent à la catégorie des nécrotrophes, ils tuent les cellules végétales, notamment par l'action de toxines (Agrios, 2005), leur pouvoir pathogène et leur virulence tient en compte la nature des deux organismes, hôte- parasite, implique à la fois la notion d'aptitude parasitaire et celle de réceptivité (Joly, 1964). Bien que *A. alternata* a été considéré comme l'espèce principal productrice de mycotoxines, les autres membres du genre, tels que *A. citri*, *A. solani*, *A. longipes* et *A. tenuissima* et *A. arborescens* espèces infecterai groupes, sont également capables de produire ces contaminants toxiques dans leurs hôtes (Barkai-Golan, 2008). Ces champignons, considérés comme polluants biologiques, par leur productions d'allergènes, antigènes dans l'organisme, capables de déclencher une réponse immune circulant de type immunoglobuline (E ou IgE), qui se manifeste par une réponse allergique avec libération de médiateurs, tel que l'histamine chez le sujet sensibilisé (Botta et al., 2005). Plusieurs travaux sur les toxines *Alternaria* ont été publiées au cours des dernières décennies (Scott, 2001 et 2004). *A. alternata* produit un certain nombre de mycotoxines à savoir l'alternariol (AOH), alternariol monométhyle éther (AME), altertoxine (ATX-I,-II,-III) et l'acide tenuazonique (TeA), altenuene (ALT) et iso-altenuene (iso-ALT), c'est donc une espèce d'intérêt particulier pour les mycotoxicologistes (Ostry, 2008). Le pathotype *A. alternata f. sp. lycopersici* produit les toxines AAL. Ces toxines AAL sont structurellement liées aux fumonisines. Il n'y a eu qu'un seul rapport sur leur présence naturelle dans l'ensilage de foin (Yu et al., 1999). La toxicité de l'AAL-toxine vis-à-vis des bovins laitiers n'est pas connue, mais devrait être examinée compte tenu de l'apparente abondance de ces toxines.

Chapitre III
Thymus vulgaris

III. La plante *Thymus vulgaris*.

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris*. Localement connu *zaatar*. En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005).

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariante, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

III.1. Répartition géographique

III.1.1- Dans le monde

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (Mabberley, 1997) (Figure 01). Il est très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. Il se trouve également en région Macaronésienne (îles Canaries, Madère et les Açores) et en Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon.

Dans le nord, il pousse en Sibérie, en Europe nordique jusqu'aux bords du Groenland (Morales,1997) (Figure 01).

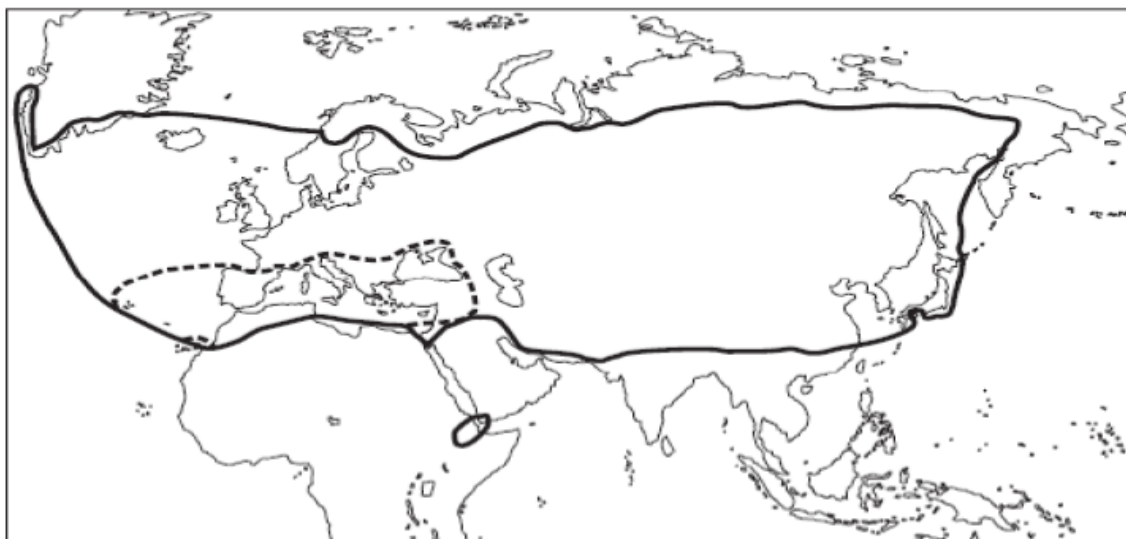


Figure 01: Distribution géographique du thym dans le monde (Morales, 1997).

La région de l'ouest méditerranéen est considérée comme étant le centre de l'origine du genre *Thymus* ; l'espèce *T. vulgaris* provient particulièrement du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie (Peter, 2004). Le thym est maintenant très cultivé au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Angleterre et les Etats-Unis d'Amérique (Raghavan, 2006).

III.1.2. En Algérie

Le genre *Thymus* a colonisé le territoire de l'Algérie avec 12 espèces (Dob *et al.* , 2006). Ces espèces sont réparties le long du territoire national, du Nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Kabouche *et al.*, 2005)

III.2. Taxonomie

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* est donnée ci-dessous (Goetz et Ghédira, 2012).

Règne: Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Embranchement: Magnoliophyta

Sous embranchement: Magnoliophytina

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Thymus*

Espèce: *Thymus vulgaris*

III.3 Description morphologique

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (figure n°02). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes (Bruneton, 2009).

Ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues; Bruneton, 2009), portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille (Teuscher *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

Les fleurs sont de petite taille (4 à 6 mm de long), de couleur blanche à rose, bilabiées, zygomorphes, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles et rassemblées en glomérules ovoïdes (Bruneton, 2009). Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long. Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée (Teuscher *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009). La corolle est bilabiée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable (Bruneton, 2009). Le fruit est un tétrakène brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm) (Bruneton, 2009). La période de floraison de l'espèce a lieu de mai à août (Hoffman, 2003) (Figure 02).



Figure 02: Aspect morphologique de *Thymus vulgaris*. (Fayad *et al.*, 2013).

III.4. Habitat

Thymus vulgaris est une plante typique des garrigues, qui s'accommode particulièrement des zones calcaires et rocailleuses, ne dépassant pas 2500 m d'altitude (Polese, 2006). Elle préfère les sols légers, perméables, secs ou bien drainés, légèrement alcalins, constamment ensoleillés et quelque peu riches en matières organiques et en éléments minéraux fertilisants (Peter, 2004). Elle ne survit pas longtemps dans un sol lourd et détrempé. Sa croissance tolère un pH allant de 4.5 à 8.0 et est possible dans n'importe quel climat ayant une température annuelle moyenne de 7 à 20°C (Peter, 2004).

III.5. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba *et al.*, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres (Burt, 2004), et séparées ensuite de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 2000).

III.5.1. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré. Puis, elles s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, à savoir, des cellules à huiles essentielles, des poils glandulaires épidermiques qui produisent les essences dites superficielles (*Labiaceae*, *Geraniaceae* et *Rutaceae*), des poches sécrétrices (*Myrtaceae*, *Aurantiaceae*, *Rutaceae*) ou encore des canaux sécréteurs (*Apiaceae*, *Ombelliferaeae* et *Asteraceae*), les huiles essentielles peuvent être extraites de divers organes de la plante. (Boz *et al.*, 2009).

III.5.2. Composition chimique

Thymus vulgaris renferme une huile volatile de couleur pâle, jaune ou rouge, avec une odeur riche, douce, herbacée et aromatique et un goût persistant, corsé et épicé (Farrell, 1998). L'huile est composée d'une quantité très variable en phénols (20 – 80%) (Díaz-Maroto *et al.*, 2005) ; thymol (30 – 70%) et carvacrol (3 – 15%) en sont les majeurs constituants (Kuhn et Winston, 2008). Elle contient également des alcools tels que linalool (4 – 6.5%) et α -terpinéol (7.8 – 8.9%) (Goetz et Ghédira, 2012), des monoterpènes hydrocarbonés tels que *p*-cymène (15 – 20%) et γ -terpinène (5 – 10%). Ces deux derniers sont les précurseurs biogénétiques du thymol et du carvacrol. D'autres monoterpènes sont également présents mais en faible quantité (0.5 – 1.5%) comme bornéol, camphre, limonène, myrcène, β -pinène, *trans*-sabinène hydrate et terpinène-4-ol (Peter, 2004). Les sesquiterpènes hydrocarbonés ne sont pas très importants dans l'huile, seul β -caryophyllène est quantitativement significatif (1 – 3%) (Peter, 2004). Certains constituants comme le thymol, le carvacrol et le *p*-cymène apparaissent en partie sous forme de glucosides ou de galactosides (Kitajima *et al.*, 2004).

L'espèce comprend également des tanins, saponines, flavonoïdes (lutéoline, apigénine et leurs glycosides, quercitine, naringénine, eriodictyol, cirsilinéol, salvigénine, cirsimaritrine,

thymonine, thymusine, taxifoline, genkwanine, sakuranétine et vicénine-2), des acides phénoliques (acide caféique, rosmarinique, labiatique et chlorogénique), des acides terpéniques (acide ursolique et oléanolique) (Goetz et Ghédira, 2012) mais aussi, de l'hydroxyjasmonone glucoside, des acétophénone glycosides et des polysaccharides (Kitajima *et al.*, 2004)

III.5.2.1. Notion de chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'huile essentielle. Cet élément permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces: *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*.

Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

T. vulgaris est une espèce très connue pour son polymorphisme chimique. Elle est représentée par au moins sept chémotypes différents, définis en fonction du constituant principal de son huile essentielle (Figure 04) (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013). Deux ont une structure phénolique : thymol et carvacrol et cinq ont une structure non phénolique: géranol, α -terpinéol, thuyanol-4, linalool et 1,8-cinéole (Stahl-Biskup et Sáez, 2002). Cette variabilité chimique dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais qui peuvent aussi être d'ordres génétiques et saisonniers (stade végétale) (Loziene *et al.*, 2007) (Figure 03).

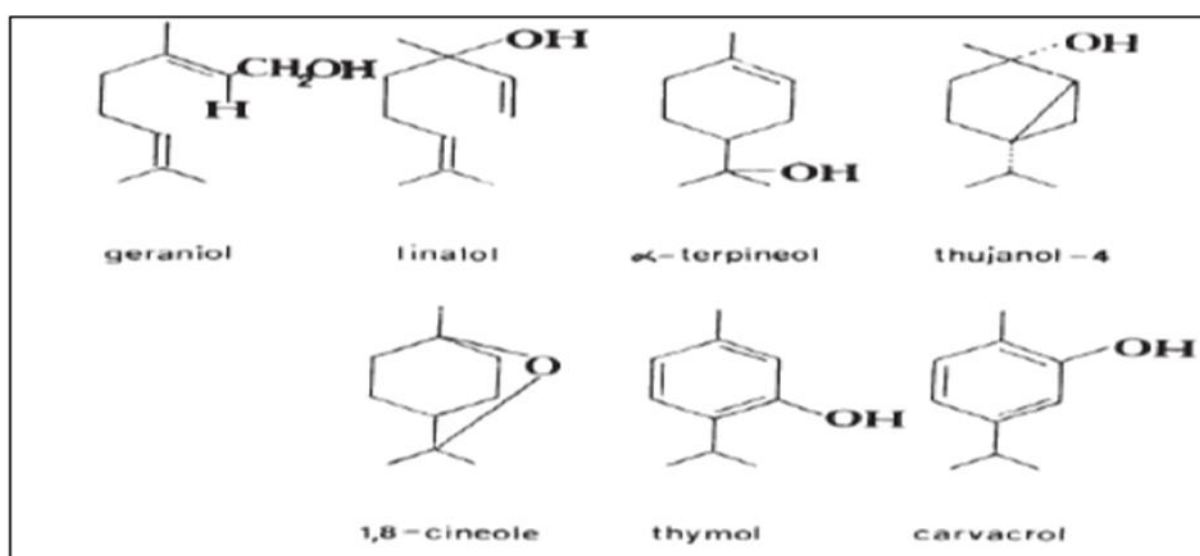


Figure 03: Les différents chémotypes de *Thymus vulgaris*. (Furmanowa et Olszowska, 1992).

III.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (Sallé, 2004). En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2011).

IV. Les effets de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les moisissures

Le pouvoir des huiles essentielles exercé contre les moisissures allergisantes, les dermaphytes et les champignons pathogènes et opportunistes, a été mis en évidence par de nombreux travaux (Duarte *et al.*, 2005). Les huiles essentielles des plantes aromatiques les plus étudiées appartiennent à la famille des Lamiacées. Les champignons sont généralement plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries (Cox *et al.*, 2000). Concernant les espèces choisies pour notre étude, il a été démontré que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pouvait inhiber la croissance d'un certain nombre de souches fongiques dont *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Saprolegnia* et *Zygorhynchus*. Cette même huile pouvait potentialiser l'effet antifongique de l'amphotéricine B vis-à-vis de *C. albicans* (Giordani *et al.*, 2004).

L'activité fongistatique des composés aromatiques est liée à la présence de phénols qui sont les plus actifs, suivi des alcools, des aldéhydes (cinnamique et hydrocinnamique), des lactones sesquiterpéniques, des cétones, des éthers et des hydrocarbures. (Ultee *et al.*, 2002)

Matériel et Méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Une espèce végétale a fait l'objet de cette étude. Il s'agit de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*. La plante a été récoltée du mois de juin 2018, de la région Ain-abassa, wilaya de Sétif. La plante utilisée sous forme sèche (Figure 04).



Figure 04: Les feuilles sèches de *T. vulgaris*

Les analyses effectuées ont porté sur les grains stockés non traités de la wilaya de Bordj Bou Arreridj, en 2018. Les échantillons ont été transportés au laboratoire dans un sac en papier stériles.

I.2. Matériel de laboratoire

- ✓ Pince
- ✓ Pipette Pasteur
- ✓ Flacon

I.3. Milieu de culture

Un milieu synthétique PDA (composition en annexe) a été utilisé pour l'isolement et la purification des moisissures à partir des grains de blé.

I.3.1. Milieu de potato dextrose agar (PDA)

Ce milieu est recommandé pour l'isolement et le dénombrement des moisissures et des levures des produits alimentaires (Botton *et al.*, 1990) Il est à noter que la stérilisation, destinée à détruire tous les germes présents au départ dans le milieu, est réalisée dans un

autoclave par de la vapeur d'eau sous pression, à haute température. La stérilisation a été pratiquée à 121°C pendant 20min (Botton *et al.*, 1990)

II. Méthode

II.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Principe :

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée (Abdelli, 2017). Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon, un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (Bruneton., 1999) (Figure 05).

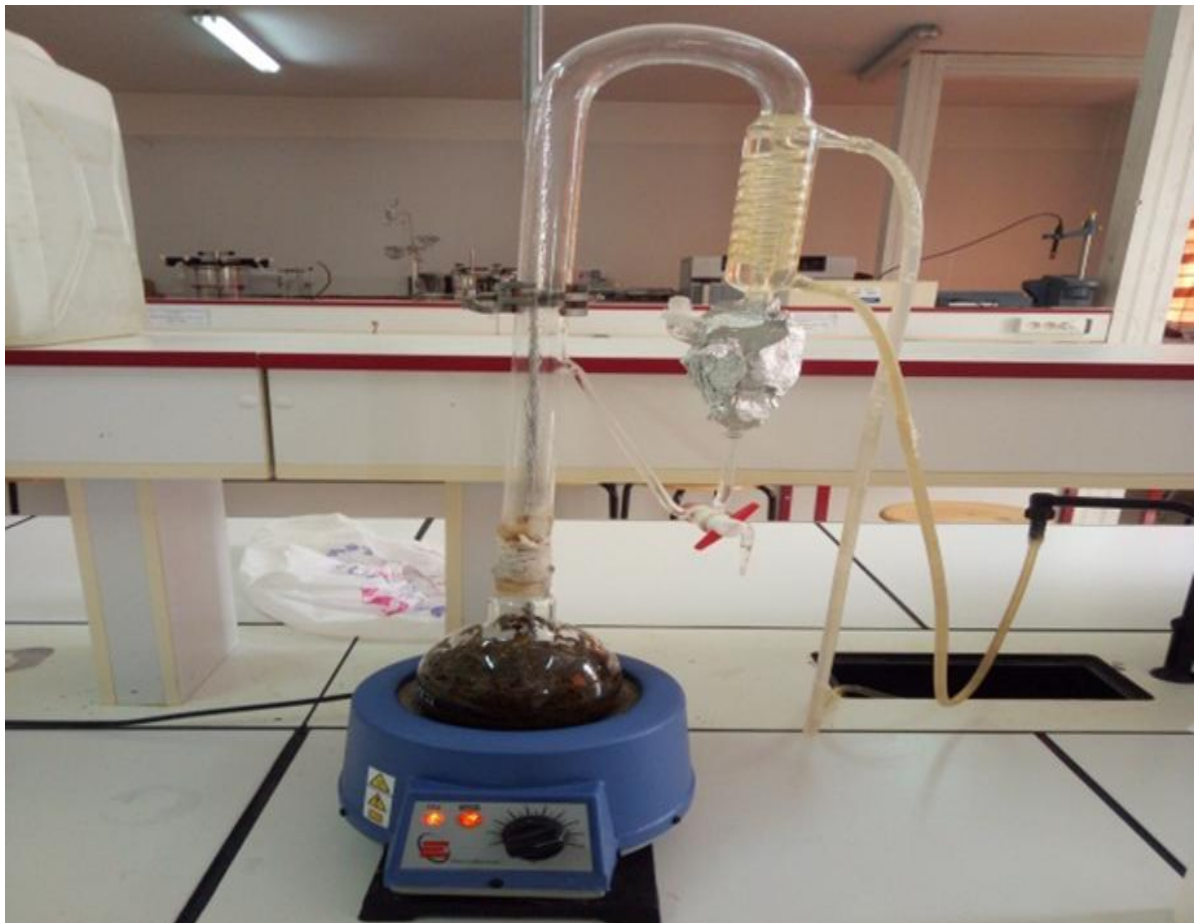


Figure 05 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger.

Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été conservé dans un tube stérile. Le tube a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour les tests biologiques.

II.2. Etude mycologique des grains de blé stocké non traités

II.2.1. Isolement de la flore fongique

Pour isoler la mycoflore des échantillons de blé considérés, nous avons utilisé une seule méthode:

Méthode directe

Désinfection de la surface des grains

Les grains de chaque échantillon de blé ont été désinfectés en surface dans l'eau de javel puis dans l'éthanol, pendant une minute. Après deux rinçages à l'eau distillée stérile, les grains ont été séchés avec du papier filtre stérile pour être, ensuite,ensemencés (Pacin *et al.*, 2002).

Sous des conditions aseptiques, Nous avons placés directement à l'aide d'une pince stérile cinq grains désinfectés dans chaque boîte de Pétri contenant le milieu PDA (Figure dans l'annexe).

L'ensemble est incubé à $28\pm 4^{\circ}\text{C}$ pendant 4 à 6 jours. (Pacin *et al.*, 2002).

II.2.2. Purification des isolats

Des observations quotidiennes ont été effectuées dès la germination des grains et l'apparition de mycélium. Chaque mycélium développé a été repiqué, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, au centre de boîte de Pétri contenant un milieu PDA, puis incubé à $28\pm 4^{\circ}\text{C}$ pendant 6 jours.

La purification des souches a été effectuée par le repiquage Dans des boîtes contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures qui va faciliter après l'identification macroscopique et microscopique (Guiraud, 2003).

II.2.3. Identification des isolats

L'identification des champignons contaminant les grains de blé repose sur:

II.2.3.1. Etude des caractères culturels macroscopiques

- ✓ Au niveau du mycélium: la couleur et la texture du thalle, la couleur du revers de la colonie, le contour de la colonie et la vitesse de croissance apicale (Chabasse *et al.*, 2002).
- ✓ Au niveau des spores: la densité sur le thalle, l'aspect des spores (granuleux, poudreux), l'uniformité de la couleur des spores, la présence de pigment diffusible et les exsudats (Chabasse *et al.*, 2002).

II.2.3.2. Etude des caractères morphologiques microscopiques

Technique du drapeau

La technique du drapeau consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène. Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour du scotch avec une feuille de papier absorbant. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x40(Chabasse *et al.*,2002).

III. Essais d'activités antifongique

Afin de tester le pouvoir antifongique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* on utilise une seule méthode:

Méthode de contact direct:

La méthode utilisée est celle de Fandohan (2004) où les huiles essentielles *Thymus vulgaris* sont testées avec des concentrations: 0, 5, 1, 2 et 4 µl/ml de milieu PDA. Ces concentrations sont obtenues par l'addition de 10, 20, 40 et 80 µl d'huile essentielle à 20 ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai. Après agitation des tubes, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétrie

L'inoculation se fait par l'ensemencement des spores par des stries d'une culture de 7 à 10 jours.

Une boîte de Pétrie contenant 20 ml de milieu PDA sans huile essentielle est inoculée pour servir de témoin. Les essais sont faits en triple pour chaque concentration d'huile essentielle sur la même moisissure.

Après incubation à 28°C pendant 7 jours en tenant compte de la croissance de témoin (Figure 06).

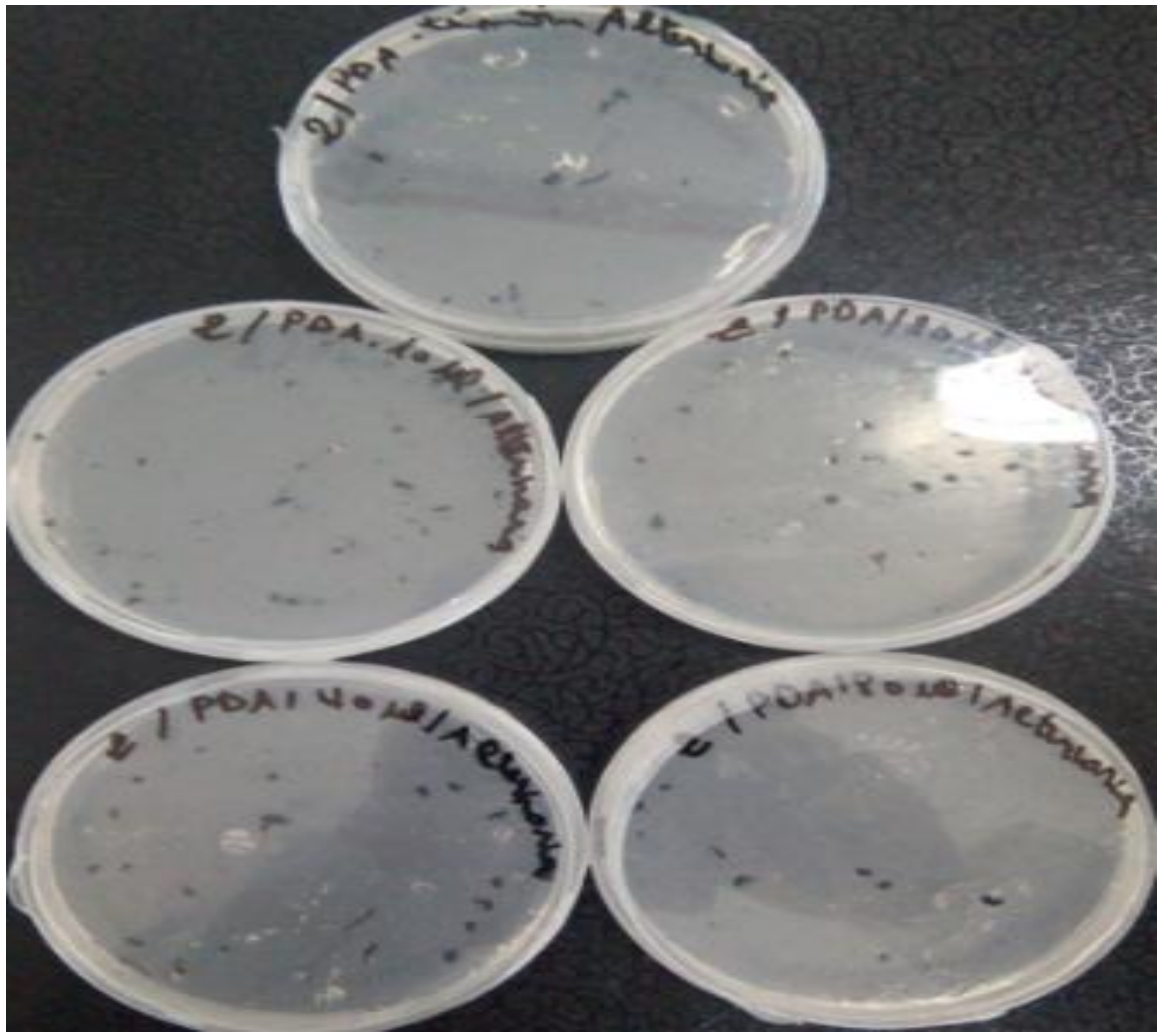


Figure 06: Activité antifongique d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* par la méthode de contact direct.

Résultats et discussion

I. Les résultats:

I.1. Extraction des huiles essentielles

Après l'extraction par l'hydrodistillation on obtient deux phases:

La première phase est l'hydrodistillat

La deuxième phase est l'huile essentielle (Figure 07).

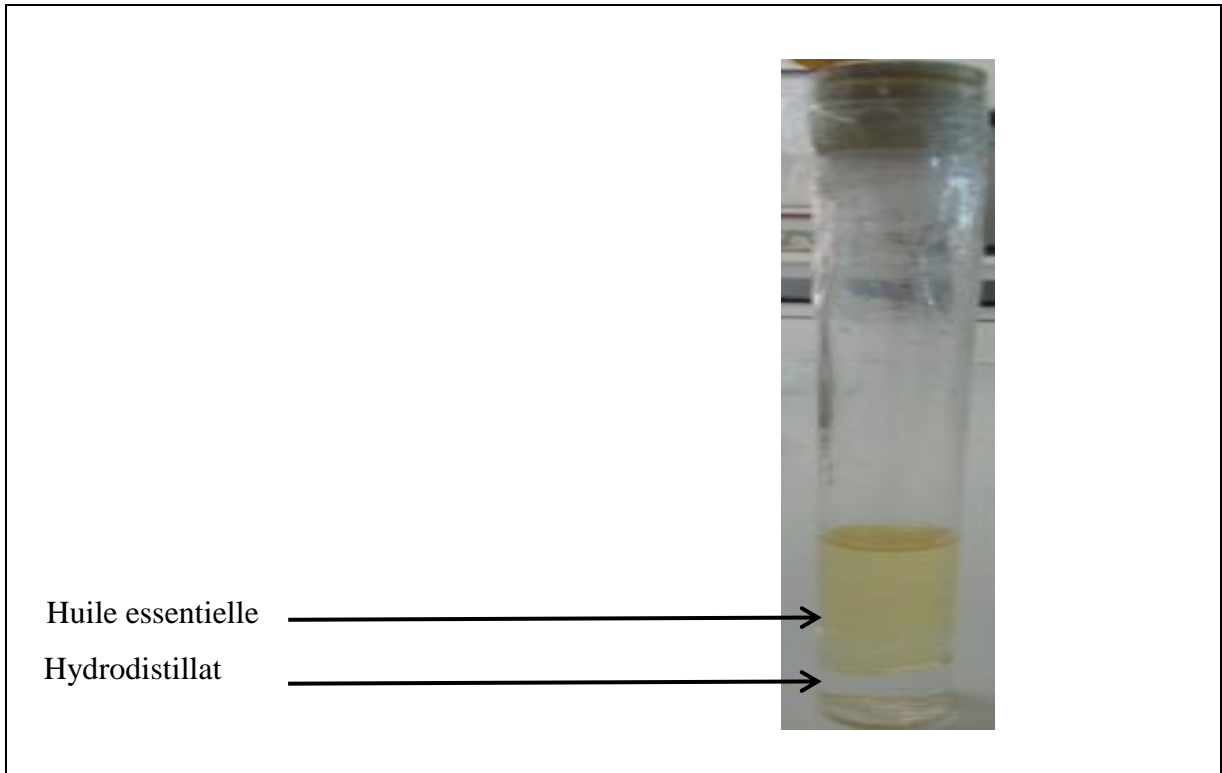


Figure 07: L'extraction des huiles essentielle de *Thymus vulgaris*.

I.2. Etude mycologique des grains de blé stocké non traités

Après l'incubation des grains de blé stockés non traitéensemencés sur le milieu PDA à $28\pm 4^{\circ}\text{C}$ pendant 6 jours, on obtient le résultat suivant:

L'apparition des zones fongiques ont des couleurs différentes autour des grains de blé, ce qui montre que l'échantillon de blé analysé est contaminé par les moisissures (Figure 08).



Figure 08: L'isolement *Alternaria* à partir de grains de blé stockés non traité.

Après le repiquage (dans des boîtes contenant le même milieu et les mêmes conditions d'incubation pour l'obtention des souches pures) les colonies apparaissent vertes et duveteuses et présentent un aspect cotonneux.(Figure 09)

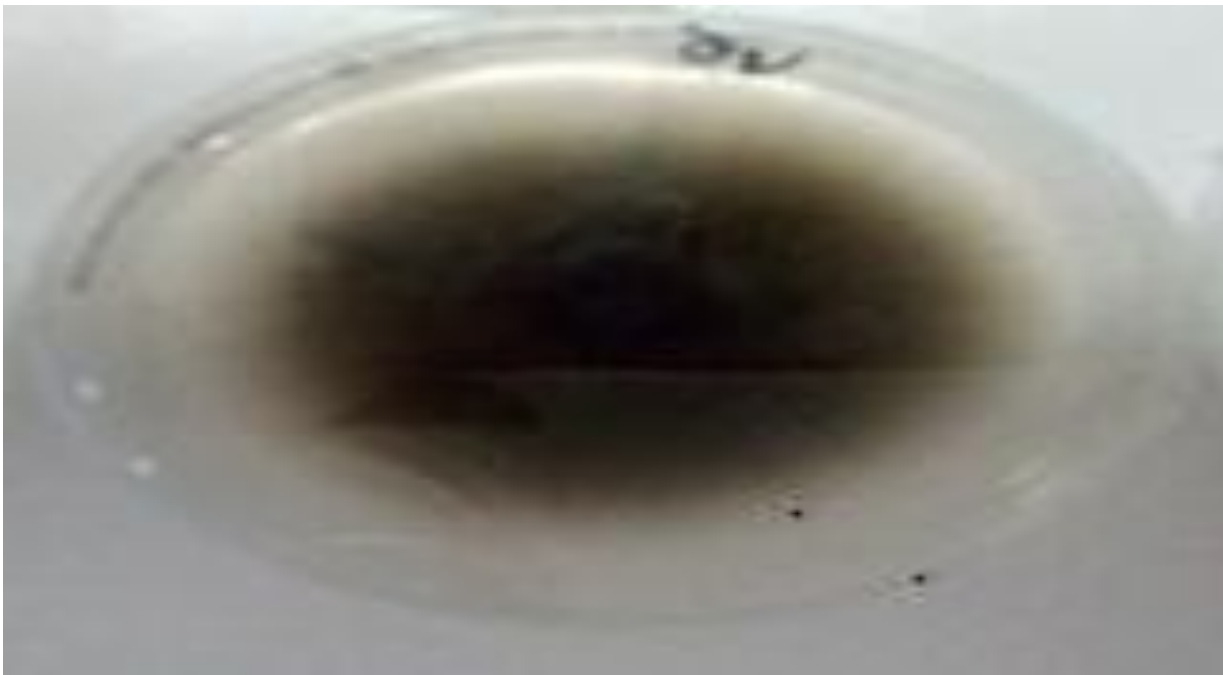


Figure 09: L'obtention d'une souche pure après plusieurs repiquages.

I.2.1. Identification macroscopique

Les colonies d'*Alternaria* ont une croissance rapide et aspect cotonneux. La surface des colonies est souvent hétérogène, présentant des zones blanches constituées exclusivement d'hyphes aériennes et des zones sombres rasantes renfermant les spores asexuées mélanisées. (Figure 11).

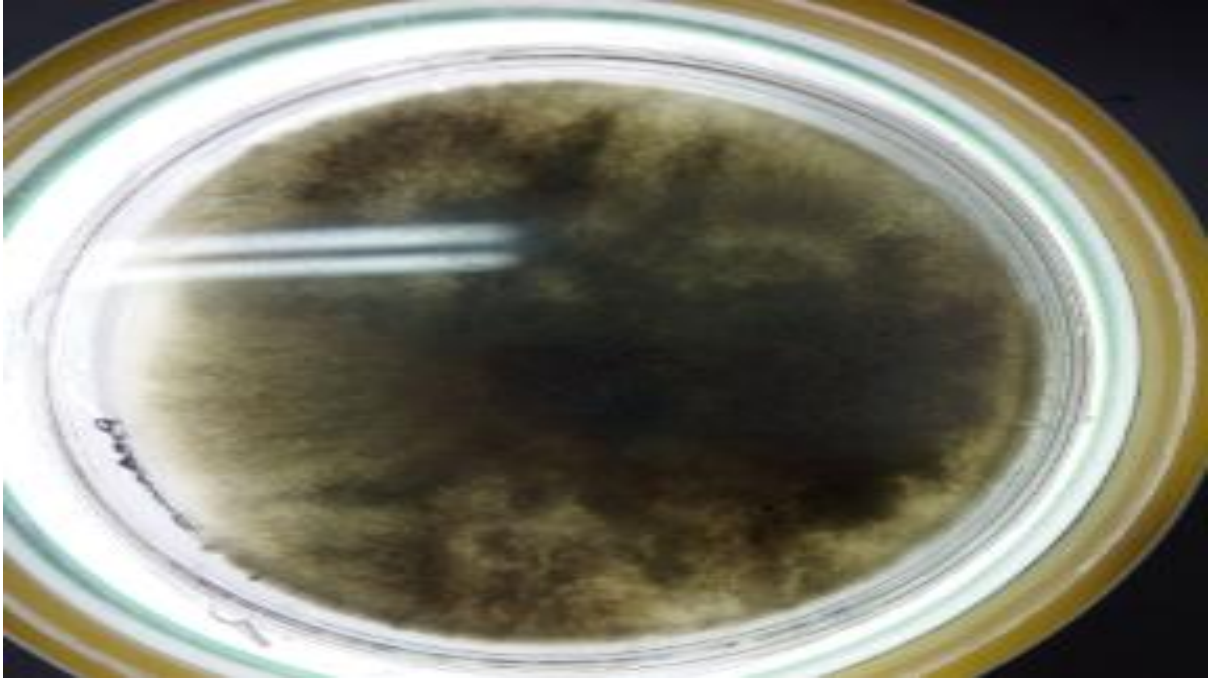


Figure 10: Observation macroscopique d'*Alternaria*.

I.2.2. Identification microscopique

Les hyphes sont septées. Les conidiophores sont bruns, septés et ont souvent l'aspect de « zigzags ». Ils portent des conidies simples ou ramifiées. Les conidies présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux et sont caractéristiques du genre *Alternaria*. (Figure 12).

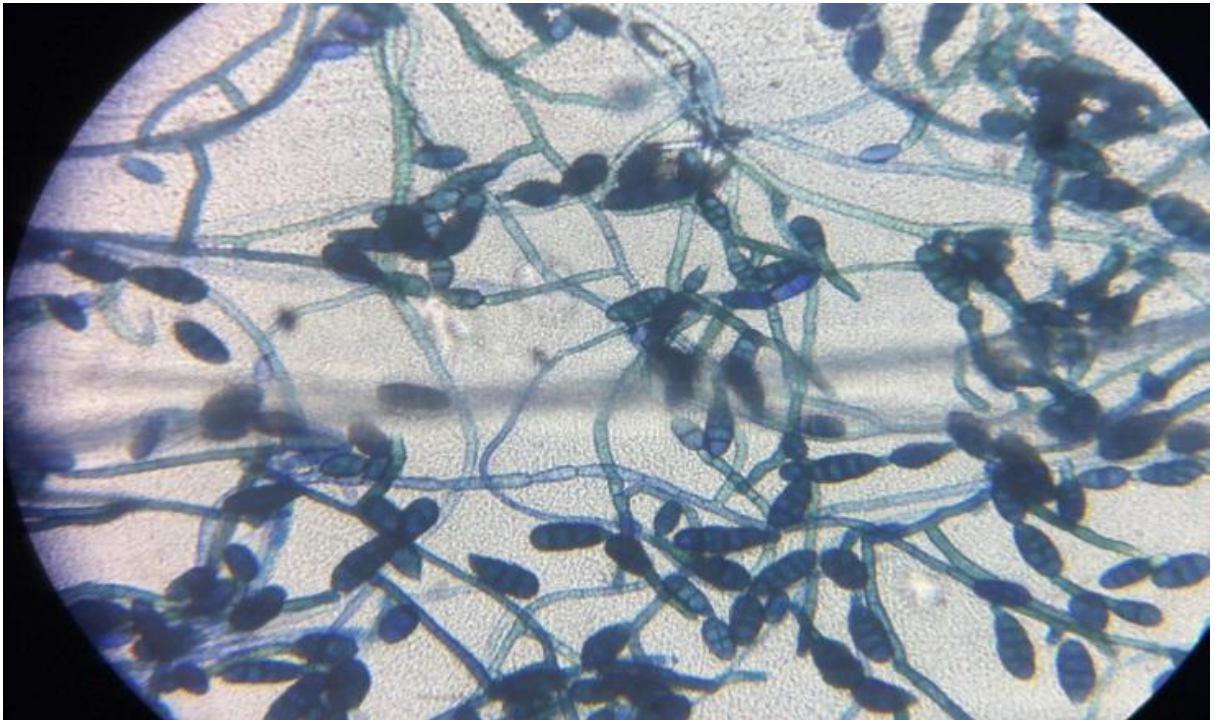


Figure 11: L'observation microscopique d'*Alternaria alternata* au grossissement 640.

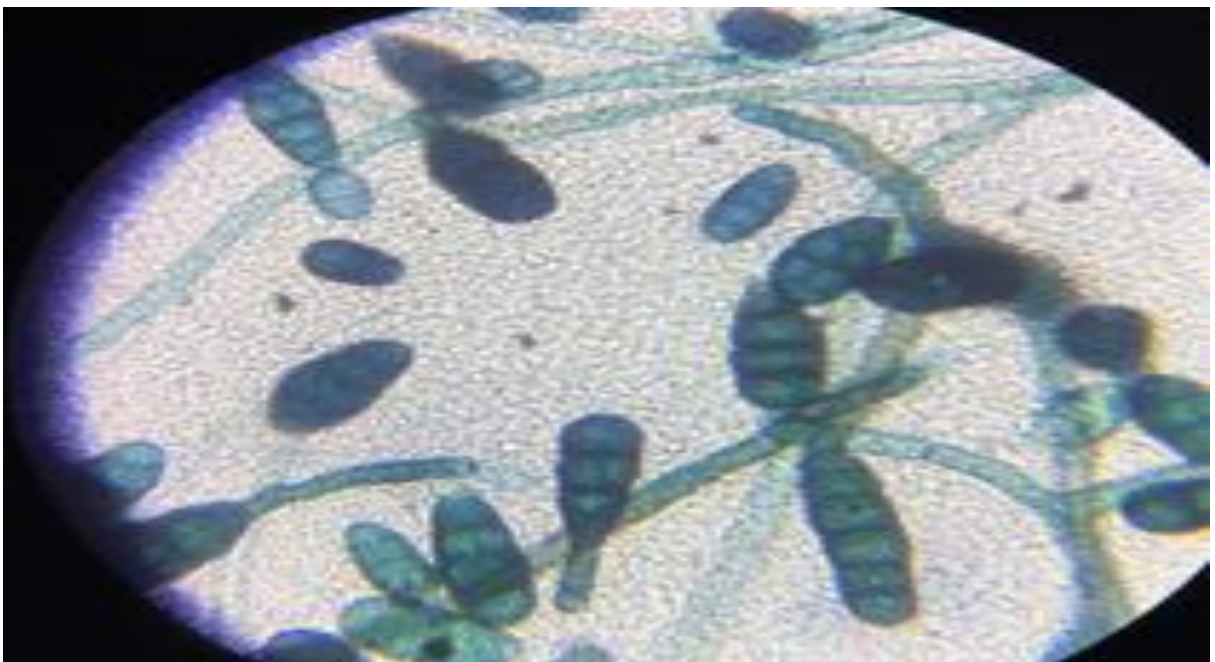


Figure 12: L'observation microscopique d'*Alternaria alternata* au grossissement 1600.

I.3. L'effet antifongique d'huile essentielle *Thymus vulgaris*

Les résultats de l'effet antifongique par contact direct sur *Alternaria alternata* montre que les huiles possèdent un bon effet à des faibles concentrations (Figure 13)

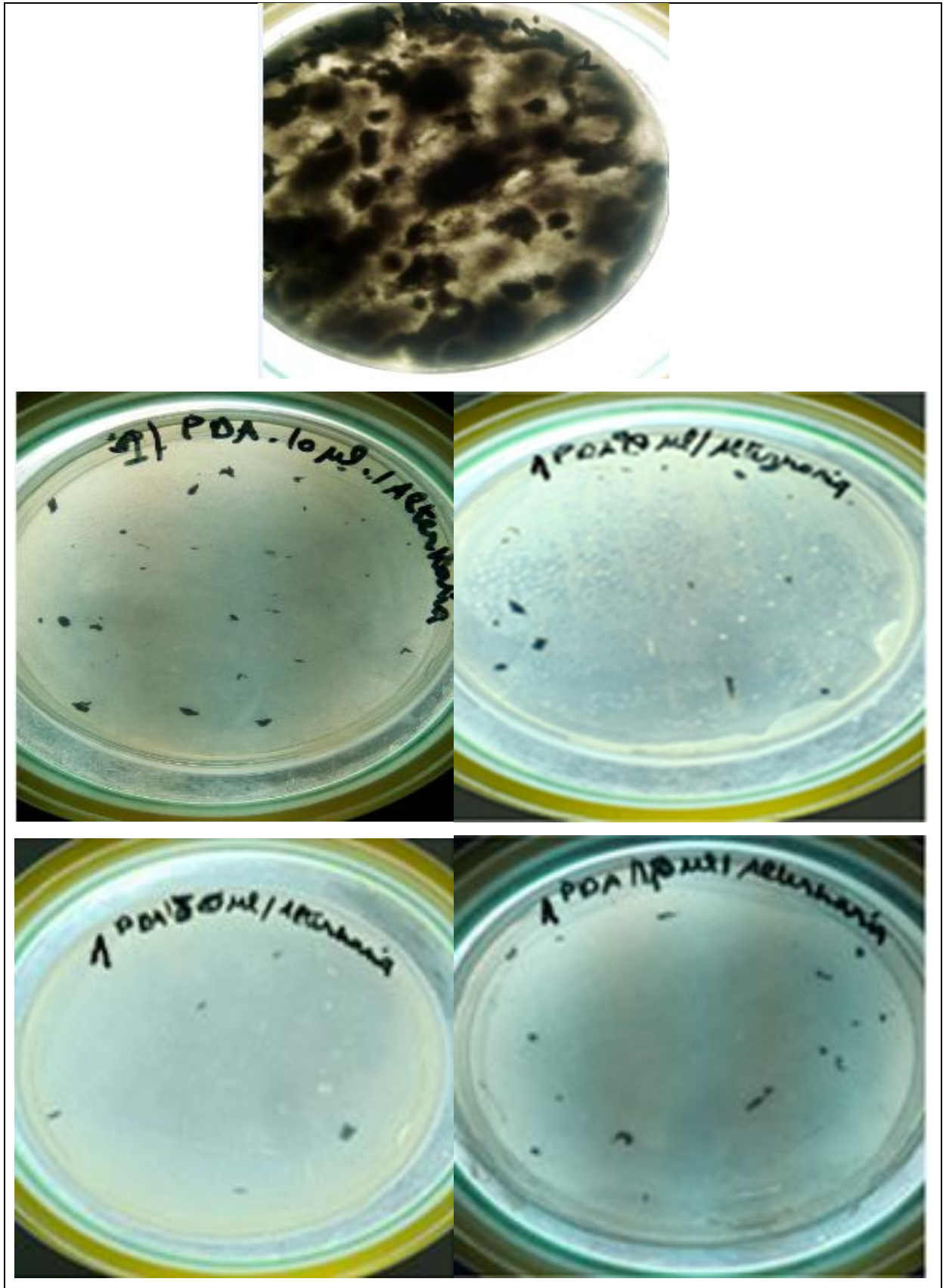


Figure 13: Effet d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à différentes concentration ($\mu\text{l}/20\text{ ml}$ de PDA) sur *Alternaria alternata*

II. Discussion

Lors de la contamination du blé, les paramètres régulant la croissance fongique et permettant la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en mycoflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité relative élevé, le pH et la température de stockage des grains (Zia-Ur-Rahman, 2006).

Dans notre étude, nous avons choisi d'isoler les souches fongiques contenus dans les grains de blé non traité, sur le milieu PDA qui est un milieu organique à base de jus de pomme de terre et d'agar, ce qui favorise la sporulation des moisissures, un milieu à pH acide ce qui inhibe le développement des bactéries.

Nos résultats d'isolement démontrent une charge fongique élevée sur le blé non traité. Cette flore fongique appartenant à la flore du champ (*Alternaria*).

L'espèce qui domine sur le blé stocké non traité est *Alternaria alternata* qui est naturellement présente sur les cultures au niveau des champs et dans le sol. La présence du genre *Alternaria* dans le blé non traité semble être due à l'humidité élevée de cet échantillon. Ces mêmes résultats ont été constatés par. (Weindenborner 2000)

Concernant le pouvoir antifongique, l'analyse des résultats obtenus par la méthode de contact direct relatifs à la croissance des moisissures soumises à l'action de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Thymus vulgaris* testée pour sa forte activité inhibitrice vis-à-vis de la moisissure étudiée, permet de déterminer la CMI ou la concentration minimale inhibitrice à partir de laquelle, aucune croissance n'est observée à l'oeil nu (Photos 09). En effet, la concentration de 10µl/ml était suffisante pour inhiber la croissance de l'espèce d'*Alternaria alternata*.

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

Conclusion

Conclusion

Les plantes aromatiques restent toujours la source fiable des principes actifs connus par les propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antifongiques a concerné une plante appartient a la famille des labiées très fréquemment employées en Algérie.

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antifongique très intéressantes.

Dans ce travail nous avons étudié l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*. Les huiles essentielles utilisées ont été extraites par hydrodistillation.

Nous avons recherché leur activité sur le germe phytopathogène *Alrenaria alternata* qui a été isolé à partir des grains de blé stocké non traité, cette activité a été évaluée selon une méthode de contact direct qui permet de tester l'efficacité des huiles essentielles sur *Alternaria alternata*.

Les résultats de l'étude de l'activité des huiles essentielles sur *Alternaria alternata* montrent qu'elles possèdent un effet sur ce germe

L'inhibition totale d'*Alternaria alternata* ce fait par une concentration minimale de 10µl/20ml de PDA.

A partir de ces résultats on peut conclure que les huiles essentielles de *T.vulgaris* possèdent une très bonne activité antifongique par la méthode de contact direct sur *Alternaria alternata*.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par:

- ✓ L'étude de l'effet antifongique de chaque fraction d'huile essentielle
- ✓ La recherche d'une méthode adéquate telle que le traitement des grains et graines stockés.
- ✓ L'étude des effets insecticides de huiles essentielles car les insectes représentent avec les moisissures les agents les plus importants de la détérioration des céréales.

*Références
Bibliographiques*

- Abdelli Wafae.(2017).**Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de doctorat 3ème cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Abis S. (2012).** Le blé en Méditerranée : sociétés, commerce et stratégies. Économie et territoire, relations commerciales. CIHEAM. Paris. 241-247. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.
- Agrios, GN. (2005).** Plante pathology.5th.Ed. *Elsevier*, London 922: 455. Cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.
- Amiot J. (2005).** Thymus vulgaris, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier.
- Andersen1 birgitte, elisabeth kréger1 and rodney g. roberts2. (2000).** Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes*. *Mycol. Res.* 105 (3): 2918-299.
- Anonyme 4. (2006).** Principaux champignons allergisants cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.
- Anonyme. (2012).** *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 3p.
- Badillet, 1991** Les Alternariose cutanées. *Revue générale. J.Mycol. Méd.*118: 59-71 cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.
- Barkai-Golan.(2008).** Alternaria Mycotoxins. In fruits and vegetables. Eds Academic Press,San Diego,CA, USA. 185-203. cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. (2010).** Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. *CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York*, 994p cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- BEL YAGOUBI Larbi M.(2005).** Memoire en vue de l' obtention du diplôme de magistère en biologie. Option *Substances Naturelles: «Jctivités Biologiques et Syntfiseses»* thème effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. 2005-2006.
- Berhaut P., Le Bras A., Niquet G., Griaud P. (2003).** Stockage et conservation des grains à la ferme, ARVALIS, Institut du végétale, Ed. Tec et Doc, Paris, 108 P. cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.
- Botta A. Viala. (2005).**Toxicologie. Lavoisier 2ème édition. Paris. 261:1994pp cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène

Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

Botton, B. Bretton, A. Fevre, M. Gaithier, S. Guy, Ph. Larpent, JP. Reymond, P. Sanglier, JJ.Vayssier, Y.Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle 2^{ème} Ed. Paris.512-309. Cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

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

Boudreau A and Ménard G. (1992). Le blé : Eléments fondamentaux et transformation. Presses de l'Université Laval .Paris. p: 439. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p. Cité par ABDELLI Wafae THESE PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT 3^{ème} cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1292p Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du DIPLOME DE DOCTORAT 3^{ème} cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food and Microbiology*, 94: 223-253.

Bush et Portnoy. (2001). The role and abundance of fungal allergens in allergic diseases. *J.Allergy Clin.Immunol.*107:430-440.

Caid-Serghini H., Ecchemmakh T., Elamrani A., Khalid A., Boukroute A., Mihamou A., Demandre C (2008). Altérations accompagnant le vieillissement accéléré de blé tendre. *Cahiers Agricultures* vol. 17, n°1 : 39-44. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.

Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., & Penn P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, 157 pp.

Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175p

Degryse A.C., Delpla I and Voinier M.A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme

de Doctorat 3ème cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Díaz-Maroto M.C., Díaz-Maroto Hidalqo I.J., Sánchez-Palomo E., Pérez-Coello M.S. (2005). Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *J. Agric. Food. Chem*, **53**(13), 5385-5389p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Diguta C. F. (2010). Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisins. Thèse de Doctorat. Univ. De Bourgogne, Institut universitaire de la vigne et du vin, 154p. cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.

Djermoun A. (2009). La production céréalière n Algérie : les principaux caractéristiques, Revue Nature et Technologie, N°1, 45-53.

Dob, T., Dahmane, D., Benabelkader, T., & Chelghoum, C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *International Journal of Aromatherapy*, **16**(2), 95-100.

Doukani K., Tabak S., Gourchala F., Mihoub F., Ounes M., Benbaguara M. (2013). Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par stockage souterrain (Matmora), Revue Ecologie-Environnement (9). cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Doumandji A., Doumandji-mitiche B., Salaheddine D. (2003). Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, p: 1-22. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Duarte M.C., Figueira G.M., Sartoratto A., Rehder V.L., Delarmelina C. (2005), Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, **97**(2), 305-311p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Emeryk, A. Chojna, A. Bartkowiec, K. Emeryk, M. Postepski, J. (2004). Prevalance of asthma and some respiratory symptoms in the years 1995 and 2001 in schoolchildren from rural regions of Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* **11**: 63-66 Thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option: Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires Présenté par: Mlle BESSADAT Nabahat. Année universitaire 2013-2014.

Fandohan, P. ; Gbenou, J. D. and Gnonlofin, B. (2004). Effect of Essential Oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and Fumonisin Contamination in Corn. *J. Agric. Food Chem.* **52**, pp. 6824-6829. cité par M. BEL YAGOUBI Larbi. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en biologie. Option *Substances Naturelles*: «*Activités Biologiques et Synthétiques*» thème effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Année 2005-2006.

- Farrell K.T. (1998).** Spices, condiments and seasonings. 2ème édition, *Springer Science & Business Media*, 414p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Fayad N.K., Al-Obaidi O.H.S., Al-Noor T.H. (2013).** Water and alcohol extraction of thyme plant (*Thymus vulgaris*) and activity study against bacteria, tumors and used as anti-oxidant in margarine manufacture. *Innovative Systems Design and Engineering*, 4(1), 41-51p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Feillet P. (2000).** Le grain de blé : Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 1994pp cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Fredot E. (2012).** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. 3ème édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 613p. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.
- Furmanowa M., Olszowska O. (1992).** Micropropagation of thyme (*Thymus vulgaris* L.). In: High-Tech and micropropagation III (coordonné par Y.P.S Bajaj). pp 230-243. *Biotechnology in agriculture and forestry. Vol 19. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.* . Cité par ABDELLI Wafae these présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Gacem M.A., Ould El Hadj K.A and Gacemi B. (2012).** Étude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie). *Alg.J.Env. p :67-76.* Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Goetz P., Ghédira K. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. *Springer Science & Business Media*, 394p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Gueye M. T., Seck D., Wathelet J.-P. Lognay G. (2011).** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale: synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(1), 183-194 pp. cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.
- Guiraud J P., & Rosec J P. (2003).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, Ed. AFNOR, Saint-Denis-la-plaine, France, 300pp.
- Gwimer J., Harnisach R., Mück O. (1996).** Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte, Ed. Eschborn, 368p. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Halonen M., Stern DA. And Wright AL. (1997).** *Alternaria* as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de

l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*).Mémoire de magister. Université de Tizi-Ouzou, Algérie, 120p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Hoffman D. (2003). Medical herbalism: The science and practice of herbal medicine. *Healing Arts Press, Rochester, Vermont*, 666p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année2016-2017.

Iserin P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226. Cité par. YAKHLEF Ghania MEMOIRE Présenté à la Faculté des Sciences Département de Biologie Pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER En Biochimie Appliquée par : THEME ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE FEUILLES DE *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L. Année : 2009-2010.

Joly. (1964). Le genre *Alternaria*. Encyclopédie mycologique, Ed. J. P. Lechevalier. Paris. 250pp. cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabed K. (2005). Comparative antibacterial activity of five *Lamiaceae* essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 129-133p

Kalemba D., Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.

Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H. (2003). Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Therm. Ochimica. Acta*. 401: 7786.

Kaloustian J., Hadji-Minaglou F. (2013). La connaissance des huiles essentielles: Qualitologie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer Science & Business Media, 226p. . Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par theme Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Kheladi M. (2009). L'industrie agroalimentaire : Réalité, Enjeux et problèmes. Recherches économiques et managériales. N° 6 : 32-67 pp. cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.

Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004). Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. 65 : 3279-3287

Kuhn M.A., Winston D. (2008). Winston & Kuhn's herbal therapy & supplements: A scientific & traditional approach. 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, 560p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour

l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

Kustrzeba-Wójcicka Irena, Emilia Siwak, Grzegorz Terlecki and Anna Wolańczyk-Mędrala et Wojciech Mędrala. (2014). *Alternaria alternata* and Its Allergens: a Comprehensive Review. *Clinic Rev. Allerg. Immunol.*

Kwon-Chung, K.J. and . Bennett J.E. (1992). *Medical Mycology.* Lea & Febiger, Philadelphia and London.
Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015

Linás, MD. Morassin, P. Recco. (1999). Actualité sur *Alternaria*: écologie, *Revue Française d'allergologie.* 349-355. cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

Logrieco A. Moretti, A. Solfrizzo, M. (2009). *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal* 2(2): 129-140. cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires année universitaire 2013-2014

Loziene K., Venskutonis P.R., Sipailiene A., Labokas J. (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food chemistry*, **103**, 546-559p.

Messiaen, CM. Blancard, D. Rouxel, F. Lafon, R. (1991). Les maladies des plantes maraichères, INRA Paris 552pp. cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Année universitaire 2013-2014.

Molinie A., Faucet V., Castegnaro M and Pfohl-Leszkowicz A. (2005). Analysis of some breakfast cereals collected on the French market for their content in OTA, Citrinin and Fumonisin B1. Development of a new method for simultaneous extraction of OTA and Citrinin. *F. Chem.* p: 391-400. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Année 2014- 2015.

Molkhou P. (2007). Intolérance et allergie au blé, *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 20 : 228-232. cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.

Morales, R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus.* Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.

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

- MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Ndiaye D.S.B. (1999).** Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oils. *Current Medicinal Chemistry*. **10**: 813-829. origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal* 2(2): 129-140. Cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires année universitaire 2013-2014.
- Ostry, V. (2008).** Alternaria mycotoxins-An overview on chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*. **1**: 175-188. Cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires année universitaire 2013-2014
- Özcan M., J.-C. Chalchat. (2004).** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* **30** (4) : 68-73.
- Pacin A.M., González H.H.L., Etcheverry M., Resnik S.L., Vivas L., Espin S.(2002).** Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87–92.
- Pariente L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. *Académie nationale de pharmacie*. Paris 1643 p. Cité par YAKHLEF Ghania mémoire présenté à la Faculté des Sciences Département de Biologie pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER en Biochimie appliquée par: theme etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L.
- Peter K.V. (2004).** Handbook of herbs and spices. *Elsevier*, 376p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Pibiri M.-C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse DE DOCTORAT. Polytechniques Fédérale de Lausanne. France.
- Pitt J.I., Hocking A.D. (1991).** Significance of fungi in stored products, Proceedings of an international conference held at Bangkok, Thailand : Fungi and mycotoxins in stored product, 16-21.
- Polese J.-M. (2006).** La culture des plantes aromatiques. *Edition Artemis*, 93p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Poletti A. (1988).** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux & Niestlé S. A. Suisse*. Pp : 103 et 131.
- Quezel P. et Santa S. (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales *Ed C.N.R.S.* Tome I. 565 p. Cité par. YAKHLEF Ghania mémoire Présenté à la Faculté des Sciences Département de Biologie Pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER En Biochimie Appliquée par : theme etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. ET *Laurus nobilis* L. Année : 2009-2010.
- Proctor, D.L. (1995).** Techniques d'emmagasiner des grains : évolutions et tendances dans les pays en développement, Bulletin des services agricoles de la FAO n°109, FAO, Rome.
- Razzaghi-Abyaneh M., Rai M. (2013).** Antifungal metabolites from plants. *Springer Science & Business Media*, 469p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.

- Reboux G. (2006).** Mycotoxines : effet sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 46 (2006) 208 – 212.
- Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires
Présenté par: Mlle BESSADAT Nabahat année universitaire 2013-2014.
- Sallé J.-L. (2004).** Les huiles essentielles, Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. 2ème édition, Frison Roche, 168p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par THEME Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Scott. (2001 et 2004).** Thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires
Présenté par: Mlle BESSADAT Nabahat Année universitaire 2013-2014.
- Sharma N., Bhandari A S. (2014).** Management of Pathogens of Stored Cereal Grains. 87-107. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Simmons. (2007).** Thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires Présenté par: Mlle BESSADAT Nabahat. Année universitaire 2013-2014.
- Stahl-Biskup E., Sáez F. (2002).** Thyme: The genus *Thymus*. CRC. Press, 346p.
- Teuscher E., Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc. Lavoisier, Paris*, 521p. Cité par ABDELLI Wafae thèse présentée pour l'obtention du diplôme de DOCTORAT 3ème cycle LMD Par thème Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles. Année 2016-2017.
- Tia E.V., Lozano P., Menut C., Lozano Y.F., Martin T., Niamké S., Adima A.A., (2013).** Potentialités des huiles essentielles dans la lutte biologique contre la mouche blanche *Bemisia tabaci* Genn. Phytothérapie 31-38
Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R, 2002,** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, **68**(4), 1561-1568p
- Waongo A., Yamkoulga M., Dabir-Binso C.L., Ba M.N., Sanon A. (2013).** Conservation post-récolte des céréales en zone sud-saoudienne du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3) : 1157- 1167. Cité par: Melle. MEGHAZI Nassima Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques thème Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké Année 2014- 2015.
- Yu, W, Yu, FY. Undersander, DJ. Chu, FS. (1999).** Immunoassay of temperature and moisture a tenuazonic acide production by *Alternaria tenuissima*. Cité par Mlle BESSADAT Nabahat thèse de DOCTORAT LMD Spécialité: Microbiologie Option : Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires année universitaire 2013-2014.

Zia-Ur-Rahman. (2006). Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. *F.Chem.* p: 53-57

Annexe

Milieu de culture

PDA (Potato Dextrose Agar) :

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

Saccharose	10g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml