

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIES

Mémoire de Master

Pour l'obtention du Diplôme de master 2

Option : biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et des produits naturels.

Thème :

Etude du pouvoir antifongique des extraits à base de Mentha pulegium L sur Fusarium spp. de l'orge "Hordeum vulgare" issus d'une culture hydroponique au cours de la conservation

Présenté par : Merrouki Leila

Devant le jury composé de :

Mme Allal L.
Mme Moumene S.
Mme Chebata N.

Pr
M.C.B
M.A.A

USDB
USDB
USDB

Présidente du jury
Promotrice
Examinatrice

Année universitaire 2016/2017.

Je dédie ce modeste travail...

Aux lumières qui ont toujours éclairées mon chemin

Aux sources de mon énergie

A ceux que

J'ai le plus chers au monde :

Ma mère et mon père

De m'avoir si bien éduquer et enseigner pour arriver à ce jour et surtout pour le soutien moral, je tiens à leur dire aussi que je ne pourrais qu'être fière d'eux.

A Mes adorables Soeurs Yasmine et Chahinez.

A mes chers oncles, tantes, cousines et cousins.

A ma chère grand-mère.

A mon Mari et mes beaux parents.

A mes amis

A tous mes collègues d'étude.

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

Leïla.

Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.

*Mes premiers remerciements vont d'abord à ma promotrice Mme **MOUMENE SAIDA** pour ses conseils éclairés, son appui constant, sa compréhension et sa gentillesse, la confiance qu'elle m'avait accordé tout au long de ce travail. Travailler avec elle restera à jamais un grand honneur pour moi.*

Je tiens à remercier particulièrement Mme Basta Chef de groupe de l'INPV qui m'a facilité le travail au sein de l'institut, à qui je dois exprimer mon respect et ma reconnaissance.

*Mes profonds remerciements sont adressés à la présidente de jury, notre respectable professeur Mme **ALLAL LEILA** pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme **CHEBATA NADA** qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce modeste travail, une enseignante exceptionnelle, dont sa simplicité et son amour du travail ont fait d'elle l'exemple à suivre.*

*Je ne saurais oublier d'exprimer ma profonde sympathie à l'ensemble de l'équipe de l'INPV d'El Harrach et de Boufarik, du laboratoire de recherche des plantes aromatique et médicinales de Blida. Plus particulièrement, **KHADIDJA, DOUNIA, KHALIDA, YAMINA, FATIMA ZOHRA.***

*J'exprime ma gratitude et mon profond respect à tous les enseignants que je leur serai toujours reconnaissante, Mme **HOUMANI** et à tous les enseignants qui ont participé à ma formation.*

Ma gratitude à toute la promotion de Master 2 BPAM,PN de l'année 2016 - 2017.

Je finirais par remercier tous ceux que j'aurais omis de nommer et qui auraient contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Etude du pouvoir antifongique des extraits à base de *Mentha pulegium* L. sur *Fusarium spp.* de l'orge au cours de la conservation

Notre étude vise la valorisation des extraits à base de Menthe pouliot pour une meilleure conservation de l'orge au cours du stockage et en culture hydroponique contre les moisissures toxigènes. Elle a porté sur l'activité antifongique *in vitro* des extraits de *Mentha pulegium* L. vis-à-vis de trois isolats de *Fusarium spp.* issus des échantillons de semences locales de la variété "Saïda" d'orge d'Algérie. Les extraits ont été préparés de la partie aérienne de *Mentha pulegium* L. récoltée en stade de floraison dans la région de Berrouaghia wilaya de Medea, par hydrodistillation à l'aide de clevenger et par alambic. Les hydrolats et les huiles essentielles ont été retenus pour notre étude, Une huile essentielle de la même plante récoltée de la région de Bouira a été considérée à titre comparatif. Le pouvoir inhibiteur des extraits étudiés a porté sur la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie *in vitro* des isolats de *Fusarium spp.*, selon deux méthodes d'études : de contact direct pour l'ensemble des extraits testés dont une émulsion d'huile essentielle de Menthe pouliot de 4% a été préparés par une solution d'eau agar à 0,2 % (m/v) et de micro atmosphère pour les huiles essentielles considérées pour notre étude. Une variabilité dans leur pouvoir inhibiteur a été démontrée selon les isolats et les extraits, selon la méthode de contact direct. Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne étaient plus marqués pour les huiles essentielles extraites par Clevenger de la région de Médéa et celle de la région de Bouira(100%), et le pouvoir inhibiteur des mêmes huiles essentielles a été également confirmé sur la sporulation (100%) et sur la germination (98 et 99%). Cependant, ils ont prouvé un effet fongistatique.

Une inhibition complète a été confirmée pour les mêmes huiles selon la méthode de micro atmosphère sur la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et ainsi que la survie des isolats de *Fusarium spp.*

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. extraite par hydrodistillation a confirmé son haut pouvoir inhibiteur *in vitro* vis-à-vis des trois isolats de *Fusarium spp.*

Mots clés : *Fusarium spp.*, Huile essentielle, Hydrolats, *Mentha pulegium* L., Pouvoir Antifongique, Méthode d'extraction.

دراسة قدرة مستخلصات النعناع البولوتي أو الأوروبي *Mentha pulegium*L

المضادة لفطريات الشعير. *Fusarium spp* أثناء الحفظ و التخزين

تهدف دراستنا إلى إبراز أهمية مستخلصات النعناع البولوتي للانتفاع بها في حفظ الشعير في ظروف أحسن و ذلك أثناء التخزين أو الزراعة المائية و تقييم مدى قدرتها على محاربة التعفنات السامة.

و قد ركزت الدراسة المخبرية للنشاط المضاد للفطريات على مستخلصات النعناع الأوروبي بالاعتماد على ثلاث أنواع من فطريات *Fusarium spp*. و قد أُخِذَت عينة النبتة من المحاصيل المحلية الجزائرية من تشكيلة شعير " سعيدة " و تم تحضير المستخلصات من الأجزاء الورقية و القمم المزهرة لنبتة *Mentha pulegium* المقتطفة أثناء فترة الإزهار في منطقة البرواقية بولاية المدية عن طريق التقطير بواسطة آلة التقطير الإنبيق (alambic) و آلة ال (clevenger) .

و تم الاحتفاظ بالمياه و الزيوت الأساسية المتحصل عليها من عملية التقطير لاعتمادها في دراستنا .

اعتمدت إحدى الزيوت الأساسية لنفس النبتة من ولاية البويرة بغرض المقارنة.

القدرة المثبطة للزيوت الأساسية ركزت على نمو العزّل الفطري ، على التَّبَوُّغ و الإنبات و بقاء ال *Fusarium spp* على قيد الحياة داخل المخبر و ذلك حسب أساليب من أساليب الدراسة :

- عن طريق الإتصال المباشر لكل المستخلصات المختبرة حيث تم إعداد تركيبة الزيت العطري للنعناع ب 4 % تم تحضيره بمحلول مياه أجار (m/v) 0,2 % . - و عن طريق الجو المصغر للزيوت الأساسية المعتمدة في دراستنا.

و حسب طريقة الإتصال المباشر فإنه تم إثبات تقلبات القدرة التثبيطية بحسب الفطريات و المستخلصات.

و قد كانت نسب تثبيط النمو في العزّل الفطري أكثر وضوحا في الزيوت المقطرة و المستخلصة في منطقة المدية و كذا منطقة البويرة

(100 %) في حين لم تصل باقي المستخلصات إلى نسب ال 50 %.

و قد تأكدت قدرة التثبيط لنفس الزيوت على التَّبَوُّغ (100 %) و على الإنبات (98 إلى 99 %) و مع ذلك فقد أثبت التأثير الفطري .

تم تأكيد التثبيط بشكل كامل لنفس الزيوت حسب أسلوب الجو المصغر و ذلك على نمو العزّل الفطري ، التَّبَوُّغ ، الإنبات و كذا بقاء فطريات

Fusarium spp على قيد الحياة.

زيت *Mentha pulegium* L الأساسي المستخلص عن طريق التقطير البخاري أثبت قدرته و قوته التثبيطية المخبرية بالنسبة للفطريات الثلاثة *Fusarium spp* . إذن يمكن استخدام هذه الزيوت في الحفظ.

و على هذا الأساس فإنه من المهم جدا مواصلة دراستنا للتأكيد على مدى فاعليتها خارج المختبر.

الكلمات المفتاحية : *Fusarium spp* . ، زيت أساسية ، مياه الزهر المقطرة ، *Mentha pulegium* L ، الطاقة المضادة للفطريات ، طريقة التقطير

THE STUDY OF THE ANTI-FUNGAL ACTIVITY OF THE EXTRACTS OF *MENTHA PULEGIUM* L. AGAINST *FUSARIUM* SPP. OF BARLEY GRAINS IN STOCK.

Our study aims for the valorisation of the extracts of Menthe pouliot for the effective conservation of barley grains cultivated using the hydroponic system and against the toxic micro-organisms. It is based on the study of the *in vitro* anti-fungal activity of this plant against three species of the fungi *Fusarium* spp. isolated from infected locale grain samples of the variety « Saïda ». We used the hydrodistillation method to extract the essentielle oils and the hydrolat from the leaves and the flower buds of *Mentha pulegium* L. collected during the flowering stage from the region of Berrouaghia the city of Medea , Algeria. We used another extract from the same plant collected from the region of Bouira (100%) as a subject of comparison. The parameters of study of the anti-fungal activity of the extracts were the mycellial growth, the sporulation, the germination and the survival of the three isolated samples of *Fusarium* spp., and we used two methods which comprised of : the direct contact method where we used tested extracts of *Mentha pulegium* L. at 4% diluted with gelatinous water at 2% and the micro-atmosphere method for essentielle oils used in this study. We found different percentages of inhibition for the mycellial growth. A total inhibition was observed for the samples that were treated with the essentielle oils obtained by the clevenger method of the plant from Bouira and percentages inferior to 50% were obtained from the other extracts. The essentielle oils proved to be fongistatic with total inhibition of the sporulation and the germination of the isolated samples.

The essentielle oils of the *Mentha pulegium* L. obtained by the method of hydrodistilation showed a high inhibitory effect *in vitro* against the three isolated samples of the fungi *Fusarium* spp. It would be interesting and beneficial to conduct this study *in vivo* to validate this inhibitory effect .

Key words : essentielle oil, *Fusarium* spp. , hydrolats. , inhibitory effect , *Mentha pulegium* L. , Extraction ways.

LISTE DES ABREVIATIONS

M. pulegium : *Mentha pulegium*

M. rotundifolia: *Mentha rotundifolia*

E. coli : Escherichia coli

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

C. albicans : *Candida albicans*

UE : Union Européen

DA: dinar algérien

ONS: *Office National des Statistiques*

INRA: *Institut national de la recherche agronomique*

SAU : surface agricole utile

APS: *Algérie presse service*

INA : L'Institut national de l'audiovisuel

GNIS: *Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants*

DON : Deoxynivalenol

ESIAB : Ecole Supérieure d'Ingénieurs en Agroalimentaire

CO₂ : dioxyde de carbone

HE : Huile essentielle

CMI : concentration minimale inhibitrice

CMF: *Concentration Minimale Fongicide*

DO: *dissolved oxygen*

CMI_{air} : concentration minimale inhibitrice *air concentration*

INPV : Institut National de la Protection des Végétaux

PDA : Potato Dextrose Agar

ANOVA : analyse de la variance

GLM : Generalized Linear Model

ML : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation

HD : Huile essentielle extraite par alambic

ML : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation

F1, F2, F3 : Isolats de *Fusarium* spp.

HD : Huile essentielle extraite par alambic

HMD : Hydrolat obtenue par alambic et ajouté a eau agar (4%)

HMDp : L'hydrolat pur obtenue par alambic

HML : L'hydrolat obtenue par hydrodistillation

HMLp : L'hydrolat pur obtenue par hydrodistillation

MO : Huile essentielle de référence

HA : Hydrolat extraite avec alambic

HC : Hydrolat extraite avec clevenger.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Commerce international de céréales (quantités en millions de tonnes).Page 11

Tableau 2 : Indice de réfraction de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Liste des figures

- Figure 1 : Morphologie de la partie aeriene de *Mentha pulegium* L. Page5
- Figure 2 : Production céréalière ,utilisation et stocks dans le monde. Page10
- Figure 3 : Types de sections d'orge a six rang et a deux rang .Page 14
- Figure 4 : Caractères morphologiques de *Fusarium solani*. Page 20
- Figure 5 : Cycle de *Fusarium spp.* : Illustration des différents modes d'action. Page 21
- Figure 6 : Les modules de culture hydroponique de l'orge fourragère .Page 22
- Figure 7 : Dispositif de Alambic pour l'extraction de l'huile essentielle. Page 33
- Figure 8 : Dispositif de Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle. Page 33
- Figure 9 : Réfractomètre d'Abbe .Page 35
- Figure 10 : Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium spp.* en modèle GLM selon les extraits de la plante(a), les méthodes d'extraction (b) et selon les isolats(c).Page 41
- Figure 11 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* (F 3B).Page 42
- Figure 12 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* (Fus M3).Page 43
- Figure 13 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* (Fus M4).Page 43
- Figure 14 : Analyse de la variance de la sporulation mycelienne des isolats de *Fusarium spp.* en modèle GLM selon les extraits de plante(a) et selon les isolats(b).Page 44
- Figure 15 : Analyse de la variance de la germination des isolats de *Fusarium spp.* en modèle GLM selon les extraits de la Menthe pouliot et selon les isolats.Page 45
- Figure 16 : Analyse de la variance de la croissance mycelienne des isolats de *Fusarium spp.* en modèle GLM selon les extraits de plante et selon les isolats.Page 46
- Figure 17 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de micro-atmosphère sur la croissance mycélienne de *Fusarium spp.* Page 47

Figure 18: Analyse de la variance de la sporulation mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de plante et selon les isolats. Page 48

Figure 19 : Analyse de la variance de la germination des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les huiles essentielles de la plante étudiée et selon les isolats fongiques. Page 49

Figure 20 : Analyse de la variance de la croissance mycelienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les concentrations de l'huile essentielle (a) et selon les isolats (b). Page 50

Figure 21 : Effet des extraits de *Mentha pulegium* étudiée sur la modification de la morphologie des isolats de *Fusarium* spp. (G×500). Page 51

Liste des annexes

Annexe 1 : La composition de milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar)

Annexe 2 : Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycelienne de *Fusarium* spp.

Annexe 3 : Analyse de la variance de l'inhibition de la sporulation de *Fusarium* spp.

Annexe 4 : Analyse de la variance de l'inhibition de la germination de *Fusarium* spp.

Annexe 5 : Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycelienne de *Fusarium* spp.

Annexe 6 : Analyse de la variance de l'inhibition de la sporulation de *Fusarium* spp.

Annexe 7 : Analyse de la variance de l'inhibition de la germination de la croissance mycelienne de *Fusarium* spp.

Annexe 8 : Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* spp.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

Chapitre 1: Synthèse bibliographique	4
1.1 Généralités sur les plantes médicinales	4
1.2 Aperçu sur la famille des Lamiacées.....	4
1.3 Généralités sur la Menthe pouliot.....	5
1.3.1 Description Botanique.....	5
1.3.2 Taxonomie.....	6
1.3.3 Diversité génétique.....	6
1.3.4 Habitat et Ecologie.....	6
1.3.5 Conduite de la Culture.....	7
1.3.6 Origine et Répartition géographique.....	7
1.3.7 Importance.....	7
1.3.8 Activités biologiques.....	8
1.4 Généralités sur les céréales.....	9
1.4.1 Importance.....	10
1.4.2 Principaux problèmes phytosanitaires des céréales.....	12
1.5 L'orge.....	13
1.5.1 Description botanique.....	13
1.5.2 Classification.....	14
1.5.3 Cycle de développement.....	15
1.5.4 Répartition géographique.....	16
1.5.5 Situation de la culture.....	16
1.5.6 Problème phytosanitaire.....	17
1.6 Généralités sur la fusariose.....	17
1.6.1 Généralités sur l'agent causal.....	18
1.6.2 Importance de la Fusariose.....	18
1.6.3 Symptômes.....	18
1.6.4 Taxonomie.....	19
1.6.5 Ecologie.....	19
1.6.6 Morphologie.....	19
1.6.7 Spécificité parasitaire.....	20

1.6.8 Biologie.....	20
1.6.9 Facteurs de développement de la maladie.....	21
1.6.10 Lutte.....	21
1.7 Généralités sur la culture hydroponique.....	22
1.7.1 Situation de la culture hydroponique de l'orge fourrager en Algérie.....	22
1.7.2 Avantages et inconvénients de la culture de l'orge fourragère en hydroponie.....	23
1.8 Les Mycotoxines.....	23
1.8.1 Conséquence des mycotoxines.....	24
1.9 Généralités sur les huiles essentielles.....	24
1.9.1 Localisation.....	24
1.9.2 Méthodes d'extraction.....	24
1.9.2.1 Extraction par hydrodistillation.....	25
1.9.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau.....	25
1.9.2.3 L'expression à froid.....	25
1.9.2.4 Extraction au CO ₂ supercritique.....	26
1.9.2.5 Extraction aux solvants organiques.....	26
1.9.2.6 Hydodistillation par micro- ondes sous vide.....	27
1.9.2.8 L'enfleurage.....	27
1.9.3 Propriétés physico-chimiques.....	27
1.10 Généralités sur l'hydrolat.....	28
1.11 Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antifongique des huiles essentielles.....	28
1.11.1 Méthode des disques.....	28
1.11.2 Méthode de dilutions.....	29
1.11.3 Méthode de microdilution.....	29
1.11.4 Méthode de contact direct.....	30
1.11.5 Méthode micro atmosphère.....	30
Chapitre 2: MATERIEL ET METHODES	
2.1 Introduction.....	31
2.2 Matériel fongique.....	31
2.3 Matériel végétal.....	31
2.4 Extraction de l'huile essentielle.....	32

2.4.1 Hydrodistillation par Clevenger.....	33
2.4.2 Hydrodistillation par Alambic.....	34
2.5 Rendement en huile essentielle.....	34
2.6 Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle.....	34
2.6.1 Indice de réfraction.....	34
2.7 Etude <i>in vitro</i> de l'activité antifongique des extraits de Menthe pouliot vis-à-vis des isolats de <i>Fusarium spp</i>	36
2.7.1 Méthode de contact direct.....	36
2.7.2 Méthode de micro-atmosphère.....	36
2.8 Inhibition de la sporulation et de la germination.....	37
2.9 La survie	39
2.10 Modifications de la morphologie des isolats testés.....	39
2.11 Analyse statistique.....	39

Chapitre 3: RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Rendement des huiles essentielles et caractérisation physico chimique	40
3.2 Activité antifongique <i>in vitro</i> de l'huile essentielle de Menthe pouliot.....	40
3.2.1 Méthode de contact direct.....	40
3.2.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne.....	40
3.2.1.2 Inhibition de la sporulation.....	44
3.2.1.3 Inhibition de la germination.....	45
3.2.2 Méthode de micro-atmosphère.....	46
3.2.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne.....	46
3.2.2.2 Inhibition de la sporulation.....	47
3.2.2.3 Inhibition de la germination.....	48
3.2.2.4 Inhibition de croissance mycélienne de différentes concentrations ...	49
3.2.3 La survie.....	50
4. Effet des extraits de la plante sur la morphologie des isolats fongiques étudiés.....	51

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des annexes

INTRODUCTION

l'orge (*Hordeum vulgare*) remonte à plusieurs millénaires avant Jésus-Christ dans la région nommée le croissant fertile ((l'Irak et l'Iran d'aujourd'hui) (Gnis, 2008). est l'une des céréales les plus importantes du monde. C'est l'une des premières cultures domestiquées et utilisée pendant des siècles pour l'alimentation humaine (Badr et *al.*,2000). Aujourd'hui, l'orge occupe le quatrième rang dans la production céréalière mondiale. Elle est utilisée pour l'alimentation animale, les malts de brassage et l'alimentation humaine (Akar et *al.*,2004).

L'Union Européenne est la première productrice mondiale d'orge devant la Russie, le Canada, Les Etats-Unis, et l'Australie. Au sein de l'Europe, l'Allemagne est le pays producteur d'orge par excellence. Avec 1,5 million d'ha et 10 millions de tonnes produites chaque année (Gnis, 2008) Dans le bassin méditerranéen, par exemple, l'orge joue un rôle important dans l'alimentation animale en période hivernale lorsque le déficit fourrager est grand et le prix du fourrage élevé (Khaldoun,1989) .

Les céréales les plus couramment utilisées comme fourrage en Tunisie sont, l'avoine, l'orge et le triticale. L'avoine et l'orge offrent généralement les mêmes rendements fourragers. Le triticale procure habituellement un rendement inférieur. Le coût d'établissement élevé des céréales les rend moins économiques que les cultures fourragères vivaces, d'où leur culture en association avec des légumineuses tels les mélanges luzernes- avoine (Johnston et *al.*,1998).

Par ailleurs , cette culture a toujours occupé une place importante parmi les autres céréales (blés dur et tendre) en Algérie. Jusqu'à une certaine époque (1900), elle était à la tête des cultures et destinée à l'autoconsommation humaine. Son rôle dans l'alimentation animale a toujours été et reste fondamental L'orge est la deuxième céréale en importance après le blé dur (Benmahammed et *al.*,2003) . Cependant comme d'autres céréales, l'orge est également exposée à diverses maladies, qui sont finalement responsables d'une réduction significative du rendement et d'une mauvaise qualité des grains (Kumar et *al.*,2015).

Parmi les maladies fongiques , les Fusaria survivent sur les résidus végétaux. Les spores de Fusarium produites sur ces résidus sont transportées par le vent ou la pluie jusqu'aux épis. Si les conditions climatiques sont favorables, elles pourront germer et infecter les tissus de l'épi (Lauzon et *al.*,2016).

A cet effet , la lutte chimique contre cette maladie doit être raisonnée compte tenu de la possibilité d'apparition de biotypes du pathogène résistants à divers fongicides. Ces phénomènes de résistance constituent un problème dans la lutte (Boungab ,2013).

Selon Mokkaem (1999), l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. L'Hoggar seul comprenait une flore de 300 espèces dont plus d'un quart ont un usage médicinal traditionnel qui se trouvent en un état précaire avec les autres plantes suite aux effets de sécheresse excessive accentuée par l'activité mal raisonnée de l'homme.(Yousfi ,2001)

D'après Houmani (2015) les PAM occupent une place importante en médecine alternative, dans le cosmétique et la composition des parfums, ainsi que dans les préparations culinaires.

Mentha pulegium L. est une plante odorante qui appartient à la famille des Lamiacées, est très répandue dans le nord de l'Europe, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie (Quezel et Santa,1962 ;Marotti,1994) En Algérie *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément (Quezel et Santa,1962).

Il existe de nombreuses espèces de menthe sauvage dont certaines, telles *M. pulegium* et *M. rotundifolia*, poussent spontanément en Algérie. Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie (Brada et al.,2006).

Son huile essentielle de fait partie des huiles les plus produites dans le monde dont la valeur commerciale s'élève à plus de 400 millions de \$US/an . Elle est très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot – Fliou en berbère ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte)(Sutour,2010).

En effet les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature sont celles dont les propriétés sont antifongiques . Elle appartiennent particulièrement à la famille des Labiatae dont le thym, l'origan ,la lavande ,la menthe ,le romarin ,la sauge ,...ect . Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique de leurs huiles essentielles ,

malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile . Les fongicides sont des pesticides qui tuent ou inhibent les champignons responsables de certaines maladies. Par contre, toutes les maladies fongiques ne sont pas contrôlables avec un fongicide, on peut penser à des maladies vasculaires comme la fusariose. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques.(Vokou,1988).

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être utilisés comme moyen de lutte contre les champignons phytopathogènes et les agents contaminants envahissant des denrées alimentaires. (Lis-Balchin, 2002).

Dans ce contexte , notre étude s'est inscrite dans cette perspective et a visé *l'étude du pouvoir antifongique in vitro des extraits à base de Mentha pulegium L sur Fusarium spp. de l'orge au cours de la conservation*. Elle a donc porter sur la connaissance du pouvoir inhibiteur des extraits de la Menthe pouliot sur les trois isolats de *Fusarium spp.* .en vue de sa valorisation comme solution ,pour la conservation des graines au cour de la conservation .

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1.1 Généralités sur les plantes médicinales

Selon Strauss (1985), Les plantes médicinales sont des végétaux dans lesquels les éléments et les forces de la nature engendrent des substances spéciales dont certaines sont capable de contrôler et de favoriser les fonctions de l'organisme humain et dont d'autres peuvent exercer une action thérapeutique sur des états pathologiques de ces fonctions.

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (Gaussen et Leroy,1982) .Elle possède d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales en raison de la flore spontanée, qui est particulièrement riche en plantes utiles telles que l'ortie, le thym, la menthe... etc. Ceci est lié principalement à la diversité de son climat et à la nature de ses sols (Benbouali, 2006) .

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leur pouvoir antifongique (Moleyar et Narasimham,1986 ;Soliman et Badaea,2002 ;Jazet dongmo et *al.*,2009), antibactérien (Bourkhiss et *al.*,2007 ;Magina et *al.*,2009), antioxydant (Bouzouita et *al.*,2008) et insecticide (Erlar et *al.*,2006 ;Tang et *al.*,2007 ;Cheng et *al.*,2009).

1.2 Aperçu sur la famille des Lamiacées

La famille des lamiacées ou labiées aussi nommée labiacées (Guignard, 1998), est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (Guignard, 1996). Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 258 genres et 6970 espèces (Botineau, 2010).Elle est très importante dans la flore d'Algérie, ces espèces sont souvent des plantes herbacées, ou sous arbrisseaux à poils glanduleux, en général aromatiques. Leur tige est carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs sont bisexuées, irrégulières groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est synsépale, bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle à tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure (Guignard, 2001) . Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (Guignard, 1998) . C'est une plante dressée, ramifiée, quadrangulaire, grisâtre parfois

rougeâtre très feuillée. Les feuilles sont opposées, décussées, petites courtement pétiolées, longues de 15 à 25 cm, crénelées sur les bords (Beniston, 1985). Les fleurs sont petites, hermaphrodites, pédonculées rosées ou violacées à calice veiné à 5 sépales inégaux presque bilabiés tubuleux, velu, à gorge formée par des poils connivents (Figure 1) (Beloued, 1998), Corolle tubuleuse avec une lèvre supérieure à 2 dents formées par deux pétales soudés et une lèvre inférieure à trois dents formés par trois pétales soudés (Abdel, 2003). La floraison s'étant du mois de juillet jusqu'à octobre.



Figure 1 : Morphologie de la partie aérienne de *Mentha pulegium* L. (Gamisans et Jeanmonod, 1993)

1.3 Généralités sur la Menthe pouliot

1.3.1 Description botanique

Le genre *Mentha* L. (Lamiaceae) comporte de plus de 25 espèces végétales. Il est responsable de la production d'environ de 2000 tonnes d'huile essentielle dans le monde entier, producteur d'huiles essentielles. Il est classé en 2^{ième} position après le genre *Citrus* pour sa production en huiles essentielles (Mucciarelli et al., 2001). Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées. Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les labiées, les Menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (Brada et al., 2007). L'espèce *Mentha pulegium* L., appartenant à ce genre et communément connue sous le nom "pouliot", c'est une plante herbacée vivace aromatique atteignant jusqu'à 40 cm de hauteur (Stengele et Stahl-Biskup, 1993).

1.3.2 Taxonomie

D'après Quezel et Santa (1962) et Dupont et Guignard (2004) , la systématique de *Mentha pulegium* est la suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Embranchement** : Spermathophyta (Angiospermae)
- **Classe** : Equisetopsida
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : Lamiaceae
- **Genre** : *Mentha*
- **Espèce** : *Mentha Pulegium*
- **Nom vernaculaire** : Menthe pouliot

La menthe pouliot possède plusieurs de nominalités ,Elle est appelée localement « Fliou », également pouliot, pouliot royal, herbe aux puces, chasse puce, herbe de Saint Laurent ou frétillet (Mossaddak, 1995).

1.3.3 Diversité génétique

Harley et Brighton (1977) ont compté des chromosomes dans des espèces de *Mentha* et ont constaté que les plantes de *M. pulegium* en provenance d'Angleterre, de Grèce, de Bulgarie, de Turquie et du Maroc étaient diploïdes ($2n = 20$) avec une gamme de variations morphologiques. Le seul tétraploïde provenait du Portugal. Fadhel et Boussaid (2004) ont à leur tour examiné la diversité génétique dans les populations tunisiennes sauvages de *cette plante* et ont constaté qu'elles présentaient un niveau élevé de variation génétique au sein des populations, ce qui indique un système de croisement prédominant et le recrutement de nouveaux génotypes par la dispersion des graines.

1.3.4 Habitat et Ecologie

M. pulegium est une hémicryptophyte qui se produit généralement dans les prairies saisonnièrement inondées, en particulier sur des sols fertiles où l'inondation ou un autre facteur comme le braconnage par le bétail supprime la concurrence de taxons plus agressifs (Belair et al.,2014) . Elle pousse dans les lieux humides des plaines et des montagnes jusqu'à 2200 mètres d'altitude (Mossaddak, 1995). C'est donc une espèce indicatrice de zones humides dans les sols saisonnièrement inondés des fonds de vallée. En dessous de 500 m d'élévation. Cette plante se développe mieux dans les sols fertiles, humides et argileux avec un pH de 5 à 8,5 (CABI, 2016) .

1.3.5 Conduite de la Culture

Après un labour profond du sol à la charrue à socs ou à disques, un travail superficiel est nécessaire au cover-crop, en vue d'une irrigation gravitaire par bassinage, des cuvettes de 2 à 3 m de côté sont séparées avec un fond plat et nivelée. Les cailloux seront soigneusement débarrassés. La menthe est traditionnellement multipliée par bouture. Elles seront longues de 20 à 25 cm et enfouies au 2/3 dans le sol. Un plan de plantation en quinconce sera adopté avec une trentaine de centimètres en tous sens. Trois à quatre boutures seront plantées à la fois. La plantation a lieu de préférence en fin de journée, en mars-avril dans les plaines intérieures du et tout au long de l'année dans les zones côtières. Un hectare de boutures servira à planter 5 à 7 ha de superficies. Les boutures proviendront de cultures, âgées de 1 à 2 ans. La plantation est suivie immédiatement d'une irrigation copieuse. La reprise a lieu 50 à 60 jours après.

(Skiredj, 2002). Il existe de nombreuses espèces de menthe sauvage dont certaines, telles que *M. pulegium* et *M. rotundifolia*, poussent spontanément en Algérie (Brada et al., 2007).

1.3.6 Origine et Répartition géographique

M. pulegium est originaire d'une vaste région couvrant l'Asie centrale, le Moyen-Orient, l'Europe et l'Afrique du Nord (Tutin et al., 1972). Elle a été introduite dans les Amériques, des régions d'Asie, du Mozambique, de l'Australie et de la Nouvelle-Zélande. En Australie, l'espèce est largement distribuée dans le sud tempéré, où elle a envahi les prairies, les plaines alluviales et les habitats plus humides comme la zone riveraine et Zones humides d'eau douce (CABI, 2016).

En Californie, aux États-Unis, *M. pulegium* est considéré comme rare dans une grande partie de l'état, mais se trouve dans les contreforts de la Sierra, la vallée centrale et la plupart des comtés côtiers de la frontière mexicaine à l'Oregon (CABI, 2016).

L'espèce *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément en Algérie surtout dans le Tell (Quezel et Santa, 1963). On retrouve plusieurs variétés de menthes, cultivées ou spontanées, en Algérie ; les plus connues et utilisées sont : la menthe verte appelée Nanaa et la menthe pouliot (Baba Aissa, 1999).

1.3.7 Importance

Dans la famille des labiées on retrouve la plupart des plantes aromatiques utilisées en parfumerie, en pharmacie et dans les préparations culinaires comme condiment. Ces plantes doivent leurs propriétés aux essences localisées dans les poils sécréteurs (Messali, 1995).

Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie (Brada et al., 2007) . La menthe pouliot a surtout des vertus thérapeutique, insecticide, que culinaire à cause de son goût plus amer, utilisée dans ses différents états ; nous procure une multitude de modes d'emploi et recettes. Aujourd'hui, elle est essentiellement employée comme herbe aromatique dans certains plats, ou en tisane. Elle sert également à parfumer les boissons et les dentifrices (Duyse, 2014) .

Il semble que dans le temps des anciens elle était méconnue, utilisée uniquement pour former des couronnes qu'ils portaient lors des cérémonies religieuses, par contre les chinois connaissaient ses propriétés calmante et antispasmodique, Hippocrate la considérait comme excitante alors que Pline à constater son effet antalgique (Kebissi, 2004) Cette plante était utilisée contre les maux de tête et de ventre. La plante entière, s'utilise en inhalation, en infusion ou en décoction dans du lait ou du thé. Elle est conseillée en cas de refroidissements, de rhume, de grippe, de bronchite, de toux et douleurs abdominales (**Lahsissene H., 2009**) .

Elle est parmi les plantes couramment utilisées dans la production des huiles essentielles et extraits aromatiques au Maroc et en France (Chemonics, 2008) .

Son huile essentielle est utilisée dans la fabrication de savons et de menthol synthétique , utilisé de façon médicale pour le traitement des coliques flatulentes, les maladies de l'estomac, et comme diaphorétique (Belair, 2014).

1.3.8 Activités biologiques

Spécifiquement la menthe pouliot constitue un des principaux moyens de lutte contre la vermine (Leclerc, 1976). On en met dans les niches ou paniers des chiens, près des réserves à gains, de salaison et de fromages car l'odeur déplaît aux puces et aux petits rongeurs. On en brûle dans les locaux infestés par les puces, et on l'utilise aussi sous forme de lotion, sur le pelage des animaux domestiques pour les débarrasser de ces nuisibles parasites (Baba Aissa, 2000). Son huile essentielle diffusée éloigne de nombreuses parasites et insectes piqueurs (Le Comte, 1972).

Cette plante purifie l'eau dans les pays arabes. L'eau devient plus ou moins fraîche car elle est conservée dans des jarres parfois pendant plusieurs jours après avoir introduit une poignée de feuilles de menthe pour enrayer le développement des bactéries , en plus de rendre l'eau plus désaltérante (Noudin & Grumbach, 2000) .Menthe pouliot (en huile essentielle ou en teinture. Il est important de souligner qu'il ne faut jamais utiliser son huile essentielle ni sa teinture par voie interne (Nogaret-Ehrhart, 2003) .

L'huile essentielle extraite de parties aériennes de *Mentha pulegium* L. possède un excellent pouvoir antifongiques (Amalich, 2016)

Ainsi , par ces propriétés, l'huile essentielle pourrait donc servir d'agent conservateur des denrées alimentaires. Dans ce contexte , de nombreuses études ont montré que les extraits de certaines plantes aromatiques ont une action inhibitrice sur la croissance et la toxinogénèse de plusieurs bactéries et champignons responsables des altérations alimentaires (Bhaskaraet *al.*,1997 ; Nielsen et Rios,2000 ; Amarti et *al.*,2010).

Cependant Sivropoulou et *al.* (1995), ont étudié le pouvoir antimicrobien des produits naturels de cette espèce, par la méthode de diffusion sur disques, contre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Ils ont prouvé une faible activité contre l'ensemble des souches testées. De même , Daferera et *al.* (2003), ont confirmé également une faible activité antifongique de l'huile essentielle de cette même plante. Aussi, Teixeira Duarte et *al.* (2005), ont déterminé le pouvoir antifongique de cette huile contre *C. albicans* qui se révèle moyennement sensible. Cette huile essentielle manifeste donc des activités antibactériennes et antioxydantes. Dans ce contexte des études de l'huile de *Mentha pulegium* récoltée du Brésil, du Maroc, d'Iran, d'Egypte, du Portugal, de Grèce, de Turquie et d'Algérie, sont assez riches en monoterpènes oxygénés. Leur concentration en Pulégone est très variable suivant le lieu, la saison de la récolte et le régime de stress auquel la plante a été soumise (El-Ghorab,2006 ; Haghi et Mahboubi ,2008 ; Ait-Ouazzou et *al.*,2012 ; Teixeira et *al.*,2012 ; Silva et *al.*,2015).

1.4 Généralités sur les céréales

Les céréales, telles que le blé, l'orge, l'avoine et le seigle sont des monocotylédones ; elles appartiennent à la grande famille des poacées qui ont la particularité d'avoir des fleurs hermaphrodites, sans calice et sans corolle développée. Le fruit communément appelé grain est un caryopse nu il peut être (Blé, Seigle) ou vêtu (Orge, Avoine). Elles sont généralement classées en plusieurs genres : *Triticum* (Blé), *Hordeum* (Orge), *Avenae* (Avoine), *Secale* (Seigle) (Rappily et *al.*,1971).

Les céréales sont cultivées partout dans le monde, mais chaque continent produit différents type . Elles constituent une part importante dans la consommation par l'Humanité. Les principales céréales consommées sont le blé, le riz et le maïs, mais il en existe tant d'autres (Coli et *al.*,2001).

Elles sont principalement cultivées pour leurs grains (alimentation humaine et animale), pour leur paille (litière, fumier,) et pour la récolte en vert (en feuilles ou en épis), cas de l'orge en Algérie, en culture pure ou en association avec une légumineuse (vesce avoine ou vesce orge)

(Belaid, 1986) . De plus, Ces grains sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et les brasseries : Blé dur (pâtes alimentaires, couscous), Blé tendre (farine pour panification), Orge (brasserie, alimentation animale), Avoine (alimentation animale) (Belaid, 1986).

1.4.1 Importance

Dans le monde , les prévisions de la FAO concernant la production mondiale de céréales en 2017 ont été revues à la baisse (moins 1,2 million de tonnes) et tablent désormais sur 2 593 millions de tonnes, soit 0,6 pour cent de moins que le niveau de 2016. La diminution en glissement mensuel reflète la baisse de la production mondiale d'orge et de blé, qui a surtout été observée dans l'Union européenne (Figure 2) (FAO, 2017).



Figure 2 : Production céréalière ,utilisation et stocks dans le monde (FAO, 2017).

En effet ,le maïs, le blé et le riz sont les trois principales céréales cultivées dans le monde. Elles se concentrent à 89 % de la production mondiale de céréales. En 2015, la Chine demeure le premier producteur mondial (21 % du total), devant les États-Unis (16 %), l'Union européenne (11 %) et l'Inde (10 %). La Chine et l'Inde concentrent à elles seules la moitié de la production mondiale de riz. Les autres principaux pays producteurs sont les pays de la mer Noire (Russie, Ukraine), le Canada et certains pays d'Amérique du Sud (Brésil, Argentine). La production s'est nettement accrue en Chine et aux États-Unis depuis le début des années 2000. La demande vient principalement d'Asie. La Chine et le Japon sont les deux premiers importateurs mondiaux, cumulant 58 Mt d'importations en 2015-2016. L'Égypte est aussi un

importateur traditionnel majeur de céréales, notamment de blé. Ce dernier continue de dominer le commerce mondial de céréales, devant le maïs. Le riz, à l'inverse, est surtout consommé sur place dans les zones de production. Les États-Unis sont le premier exportateur de céréales, rassemblant 23 % du volume total en 2015. Les échanges mondiaux de céréales diminueraient de 3 % en 2015-2016 après avoir fortement augmenté lors des deux campagnes précédentes (Tableau 1) (Agrest, 2016).

Tableau 1 : Commerce international de céréales (quantités en millions de tonnes.(Agrest,2016)

Dates	2000-2001	2010-2011	2014-2015	2015-2016
Commerce mondial	235	282	375	364
Principaux pays importateurs				
Chine	9	12	36	34
Japon	27	25	23	24
Mexique	15	15	17	16
Égypte	11	16	19	19
UE à 28	...	14	17	22
UE à 15	7
Corée	12	14	14	15
Principaux pays exportateurs				
États-Unis	85	90	83	84
UE à 28(1)	...	29	48	39
UE à 15	25
Argentine	24	27	27	27
Australie	22	23	24	25
Canada	21	20	29	23

UE : Union Européen

Dans le maghreb , la filière céréales représente environ 50% des terres arables au Maghreb, les graines oléagineuses restant marginales. Leur production a notablement progressé dans les trente dernières années, mais insuffisamment face à l'ampleur des besoins alimentaires. En effet, la semoule (blé dur) et le pain (blé tendre) restent à de hauts niveaux de consommation. On note en outre une forte irrégularité des productions pour des raisons agroclimatiques. Il en résulte des importations massives de céréales qui s'achèment vers les 10 milliards de dollars par an. La situation de la production des oléoprotéagineux (arachide, colza et tournesol) revêt les mêmes caractéristiques techniques, mais à une échelle beaucoup plus modeste (Rastoin et Benabderrazik,2014).

Par ailleurs les Algériens consacrent une part importante de leur budget à l'alimentation : 42% en moyenne en 2011 contre 35% en Tunisie en 2005 et 17% en France en 2011. Comme dans tous les pays, cette part de l'alimentation régresse dans le temps en Algérie (45% en 2000) et on relève de notables différences entre les classes aisées (28%) et pauvres (54%), en 2011. Cette année-là, les dépenses alimentaires ont atteint 1875 milliards DA, soit environ 18 milliards € (ONS, 2013), ce qui représente 48 650 DA (486 €) par habitant (Rastoin et Benabderrazik, 2014).

1.4.2 Principaux problèmes phytosanitaires des céréales

Il est actuellement bien établi que les principaux facteurs intervenant directement et dans une large proportion dans la baisse des rendements des céréales sont essentiellement d'origine biotique (animale et végétale) (Agrios G.N. ,1997 ; Lepoivre , 2003 ; Agrios ,2005).

On distingue :

-Les Bio agresseurs animaux dont les insectes, les nématodes, les oiseaux et de les rongeurs, pouvant entraîner des dépréciations plus ou moins importantes sur les cultures (Bakour et Bendifallah., 1990).

- Les nématodes phytophages des céréales tels que *Anguina tritici* et *Heterodera avenae* Woll. sont les plus connus et les plus communs. Ils s'attaquent respectivement aux grains et aux racines. (Bakour et Bendifallah.; 1990)

Les microorganismes phytopathogènes dont les bactéries , très courants sur les cultures, dans les matières organiques en décomposition et dans le sol (INA,1993).

Aussi , les champignons dont , la plupart d'entre elles existent sous forme de mycélium composé de cellules larges avec des parois chitineuses et des organes bien spécifiques (Nasraoui , 2006 ; Lepoivre , 2003). Presque tous les champignons sont adaptés à survivre dans l'air, dans le sol et dans l'eau. La plupart des champignons pathogènes sont des saprophytes facultatifs capables de croître sur cultures ou sur tissus de plantes mortes ; d'autres sont des parasites obligatoires qui existent seulement en association intime avec des plantes vivantes (Weise, 1987 ; Nasraoui., 2006).

Par ailleurs , les blés et orges peuvent être attaqués par un grand nombre de maladies économiquement importantes. Environ cinquante (50) maladies ont été décrites, parmi lesquelles les viroses occupent une importance majeure dans le monde (Weise , 1987), et dans le Maghreb (El Yamani, 1992 ; Sayoud , et al., 1999).

1.5 L'orge

Au début du XIXe siècle, l'orge venait en tête des cultures par son importance, elle était destinée à l'autoconsommation humaine et servait de complément fourrager aux troupeaux entretenus pendant la plus grande partie de l'année dans les régions steppiques (Hakimi,1993). Actuellement, l'orge n'est pas d'emploi courant dans l'alimentation humaine, maintenant admis est efficace contre les maladies du coeur, la constipation et autres dérèglements du système digestif, et probablement également contre le cancer. La façon dont l'orge réduit le taux sanguin de cholestérol est semblable à celle des spécialités pharmaceutiques anti cholestérol (Houmani ,2007).

1.5.1 Description botanique

L'orge est une plante herbacée qui pousse en touffe . Il est constitué par les racines, les feuilles, la tige et l'épi(Figure 3) dans lequel sont contenues les graines (Slafer et *al.*,2002). C'est une plante annuelle de la classe des monocotylédones, qui appartient à la famille des graminées et au genre *Hordeum* qui comprend 31 espèces, mais seule vulgare est couramment cultivée, *Hordeum vulgare* est une espèce diploïde ($2n=14$).Elle a été l'une des premières cultures domestiquées, il y a 10 000 ans dans le croissant fertile du moyen –orient (Baik et Ulrich,2008).

Cette culture est classée selon les saisons printemps ou hiver (sensible au gel ou au contraire résistant au froid jusqu'à environ -15°C), sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes (Rasmusson.,1992).

Rasmusson (1987) a note que le genre *Hordeum* comprend des espèces diploïdes ($2n=14$) dont les biotypes cultivés comme *Hordeum Vulgare* , *Hordeum Distichum* , *Hordeum intermedium* , et sauvage comme *Hordeum spontaneum* , *Hordeum agriocrithon* et *Hordeum pusillum* . L'espèce tétraploïde ($2n=28$) est constituée uniquement des biotypes sauvages comme *Hordeum murinum* , *Hordeum bulbosum* , *Hordeum jubatum* et *Hordeum nodosum* . Liné (1755) et Grillot (1959), ont classé les orges selon le degré de fertilité des épillets et la compacité de l'épi en deux groupes (GNIS, SD a) :

-Le groupe des orges à six rangs (Figure 3) dont les épillets médians et latéraux sont fertiles et se subdivise selon le degré de compacité de l'épi (*Hordeum vulgar* ,*Hordeum hexastichum* L.et *Hordeum tétrastichum* L.

-Le groupe des orges à 2 rangs (Figure 3) dont les épillets médians seuls sont fertiles *Hordeum distichum* L.

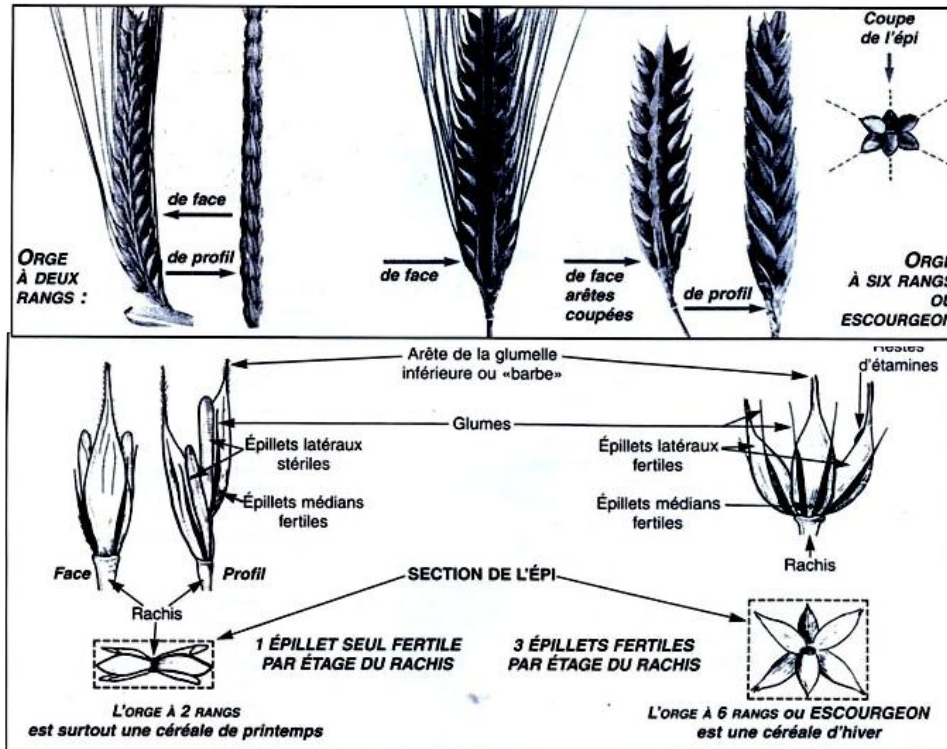


Figure 3 : Types de sections d'orge a six rang et a deux rang (Simon et *al.*, 1989).

1.5.2 Classification

D'après Feillet (2000), l'orge cultivée appartient à la classification suivante:

- **Règne** Plantae
- **Division** Magnoliophyta
- **Classe** Liliopsida
- **S/Classe** Commelinidae
- **Ordre** Poales
- **Famille** Poaceae
- **S/Famille** Hordeoideae
- **Tribu** Hordeae (Hordées)
- **S/Tribu** Hordeinae
- **Genre** Hordeum
- **Espèce** *Hordeum vulgare* L.

1.5.3 Cycle de développement

L'orge possède un cycle évolutif qui s'étale en trois grandes périodes (Slafer et *al.*, 2002).

La période végétative débute par la germination, qui correspond à une activation métabolique de l'embryon décelable par les échanges respiratoires de la graine. C'est un processus préparatoire à l'élongation de la radicule et du coléoptile (Boyeldieu, 1999). La levée est définie par l'apparition de la première feuille qui traverse la coléoptile. Le stade début tallage est repéré dès que la plante possède trois à quatre feuilles et une tige sur le maître brin à l'aisselle de la feuille la plus âgée (Gate, 1995).

La période reproductrice se caractérise par la formation et la croissance de l'épi. Elle s'étend du stade montaison (épi à 1cm), au stade de la floraison. La montaison débute à la fin du tallage. Elle se distingue par l'allongement des entre-nœuds et la différenciation des pièces florales (Grandcourt et prats, 1971). Le stade de l'épiaison – floraison se réalise au stade méiose pollinique, la gaine de la dernière feuille s'écarte progressivement suite à l'allongement des derniers entre-nœuds de la tige, la gaine s'éclate et le sommet de l'épi sort de la dernière gaine (Gate, 1995).

La période de maturation caractérisé par l'élongation du dernier entre-nœud, qui assure l'élévation de l'épi au dessus de la dernière feuille. Le stade gonflement du grain est marqué par une photosynthèse intense pour l'élaboration des substances de réserve, l'amidon qui migre vers l'albumen du grain qui grossit tandis que l'embryon se forme. Cette migration nécessite une circulation d'eau, il peut y avoir échaudage en cas de stress hydrique (Moule, 1998). Le grain passe par trois stades, du grain laiteux au pâteux au grain dur. Entre les stades laiteux et pâteux, la quantité d'eau contenue dans le grain est stable, c'est le palier hydrique (Robert et *al.*, 1993).

1.5.4 Répartition géographique

L'Union Européenne est la première productrice mondiale d'orge devant la Russie, le Canada, les Etats-Unis, et l'Australie. Au sein de l'Europe, l'Allemagne est le pays producteur d'orge par excellence. Avec 1,5 million d'ha et 10 millions de tonnes produites chaque année, la France se classe au deuxième rang des pays européens. Les régions Centre et Champagne-Ardenne produisent le tiers de la production française. Néanmoins, l'orge est une culture présente sur tout le territoire français (GNIS, 2008).

La culture de l'orge est également pratiquée en Algérie, essentiellement sur les Hauts plateaux, selon Boulal et *al.* (2007), les principales zones de production sont :

-la zone semi-aride des plaines telliennes où la pluviométrie est comprise entre 350

et 500mm avec une distribution des précipitations irrégulière (Constantine, Bouira, Tlemcen, Mila, Souk Ahras, Ain Defla, Chlef, Ain Témouchent, Sidi-Bel-Abbès).

-la zone sub-aride des Hauts plateaux caractérisée par une faible pluviométrie (200-350mm), à prédominance agro-pastorale à des altitudes supérieures à 1000m (Tissemsilt, Tiaret, Sétif, Saida, Bourdj Bou Arreridj).

-la zone humide et subhumide des régions littorales , sub-littorales et centre- Est du pays (Tipaza, Skikda, Guelma, Bejaïa, Annaba).

1.5.5 Situation de la culture

En Algérie, la culture d'orge est très importante car il est destiné à l'autoconsommation humaine et sert de complément fourrager pour les troupeaux dans les régions steppiques (Hakimi, 1993). Actuellement, l'orge est utilisée dans l'alimentation humaine selon les régions sous formes de galette, de couscous et de soupe (Rahal-Bouziane et Abdelguerfi, 2007). C'est une espèce fourragère importante par sa production en vert, en foin (en association avec d'autres espèces), en ensilage et par son grain et sa paille (Belaid, 1986). Dans toutes les régions, du nord au sud, elle reste l'une des plus importantes sinon la plus importante ressource fourragère (Boulal et *al.*, 2007).

Selon Boufenar et Zaghouan (2006), les principales variétés cultivées sont : Saïda, Rihane 183 et Tichedrette mais , le recours aux autres variétés est lié à leur zone de prédilection. Certaines variétés existent mais sont peu demandées comme celles de Jaidor (Dahbia), Barberousse (Hamra), Ascad 176, Nailia , El-Fouara. Le choix de la variété à utiliser dépend de ses caractéristiques agronomiques et de la zone de culture.

Par ailleurs, 35% de la superficie céréalière est consacrée à la culture de l'orge, en Algérie. Celle-ci est concentrée entre les isohyètes 250 et 450 mm (Menad et *al.*, 2011). Cependant elle risque d'être confrontée à des contraintes d'ordre climatiques et techniques, la production algérienne d'orge est faible et surtout variable dans l'espace et le temps (Bouzerzouret Benmahammed, 1993).

Cette réduction de production est due à nombreux facteurs : l'abandon de la culture de l'orge par les agriculteurs au profit du blé, l'insuffisance et l'irrégularité de la pluviométrie, le faible potentiel des variétés cultivées et surtout les maladies parasitaires qui provoquent chaque année des pertes considérables du rendement.

Le suivi de l'évolution de la production met en évidence l'importance des fluctuations inter annuelles. Le rendement se caractérise par une grande variabilité allant de 7.5 qx /ha

en 1998 à 15.6 qx /ha et 15.2 qx /ha en 2003 et en 2006 respectivement .Cependant, ces dernières années, la production nationale de l'orge a progressivement augmentée car plusieurs programmes et projets ont été mis en place pour l'amélioration de la production de l'orge, et le développement des variétés résistantes aux maladies. Depuis 2009, l'Algérie est devenue auto-suffisante en production d'orge. L'Office National Interprofessionnel des Céréales (OAIC) a été autorisé par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural à exporter une partie de la production record d'orge de 2009.

1.5.6 Problème phytosanitaire

L'orge cultivé peut être sensible à de nombreuses maladies (Syngenta, 2016), mais les sélectionneurs se sont efforcés d'incorporer des caractères de résistance dans le génome de divers cultivars. Les dégâts causés par les maladies dépendent de la sensibilité de la variété cultivée. Cette plante est sensible à diverses maladies virales, notamment au virus de la mosaïque modérée de l'orge (Brunt et al., 1996 ; Cadot, 2016), ou bactériennes comme la glume noire ou brûlure bactérienne due à *Xanthosomas translucens*. L'orge est également sensible à la fusariose des épis due à *Fusarium* spp. (OEPP, 2016).

1.6 Généralités sur la fusariose

La fusariose est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk et al., 1999). Ces 2 genres regroupent environ 19 espèces capables d'induire la fusariose de l'épi de blé et d'orge (Liddell, 2003). Les espèces les plus fréquentes en Europe sont *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *M. nivale* et *M. majus* (Xu et al., 2005 ; Xu et Nicholson, 2009), avec une fréquence plus faible de *F. culmorum* et plus forte de *F. poae* depuis 2000 en France (Ioos et al., 2004).

1.6.1 Généralités sur l'agent causal

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été établie par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. Il appartient à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées. A l'heure actuelle , nous utilisons principalement un classement dérivé de celui de Nelson et al. (1983) lesquels regroupent les *Fusaria* dans 15 sections. Ce classement a été amendé par Burgess et al. (1994), puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006). De nombreuses espèces fusariennes ont été identifiées dans la nature dont les principales capables d'induire la fusariose de l'épi de blé: *F. tricinatum*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. arthrosporioides*, *F.*

avenaceum, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti* et *F. crookwellense* (Xu et Nicholson, 2009). Les espèces du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles.

1.6.2 Importance de la Fusariose

La fusariose affecte plusieurs volets de la filière des céréales. Quoique l'impact global annuel soit difficile à chiffrer. Cette maladie fongique engendré des pertes économiques différentes, qui sont traduites selon Tremblay et *al.*(2013) par : Diminution du rendement des cultures, baisse de la qualité des grains, réduction de prix de vente des grains déclassés , commercialisation difficile des grains contaminés , coûts supplémentaires associés au contrôle de la qualité des grains, silos supplémentaires requis pour la ségrégation des grains contaminés , criblage plus sévère des grains contaminés , baisse de performance des animaux d'élevage , modifications nutritionnelles parfois recommandées .

1.6.3 Symptômes

Chez l'orge, les épillets fusariés peuvent aussi être jaunes ou roses, mais prennent le plus souvent une coloration brune qui n'est cependant pas spécifique à la fusariose. Les grains d'orge fusariés présentent une coloration rose, orangée ou parfois noire (Tremblay et *al.*,2013). Selon les espèces de *Fusarium* et des conditions de l'attaque, les racines, le collet et la base des tiges peuvent brunir et parfois pourrir et former à l'intérieur et au niveau du premier entre-noeud un duvet blanchâtre, blanc grisâtre ou blanc rosâtre formé par le mycélium et les sporodochies. Egalement, selon les espèces de *Fusarium*, l'infection peut concerner ou non une partie ou la totalité de l'épi qui blanchit et se dessèche prématurément en formant des grains échaudés . Le champignon infecte alors les grains et peut y produire des poisons appelés mycotoxines capables de causer des problèmes graves chez l'homme et les animaux lorsque l'attaque est précoce, les épis formés sont stériles.

1.6.4 Taxonomie

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Ascomycota, à la classe des *Sordariomycetes* et à l'ordre des Hypocreales (Catalogue of life, 2014). Il s'agit d'un genre polyphylétique à la taxinomie complexe. *Fusarium solani* et *Fusarium verticillioides* possèdent des formes sexuées (téléomorphes) appartenant respectivement aux genres *Nectria* ou *Gibberella* alors que *Fusarium oxysporum* n'est actuellement connu que sous sa forme asexuée (anamorphe) (Summerbell *et al.*, 2002).

1.6.5 Ecologie

Les espèces du genre *Fusarium* sont très répandues et peuvent être isolées de la plupart des sols, des insectes, de l'eau courante, des racines, graines et autres tissus d'une grande variété de plantes herbacées et ligneuses sauvages ou cultivées. Ces microorganismes sont retrouvés aussi bien sous les climats tempérés que sous les climats sub-tropicaux. Certaines espèces s'attaquent plus particulièrement aux céréales (Jeunot, 2005).

1.6.6 Morphologie

Les *Fusarium* ont un thalle à croissance généralement rapide, blanc de couleur à crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas. Les conidiophores parfois très ramifiés forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects graisseux. Les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire des macroconidies et des microconidies (Figure 4). Les premières sont fusiformes, souvent courbées, pluriseptées, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon. Les secondes sont petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes. Certaines espèces produisent les deux types de spores, d'autres ne forment que des macroconidies. Les chlamydospores sont présentes ou absentes, en position terminales ou intercalaires, différenciées par le mycélium ou par les conidies (Botton et al., 1985).

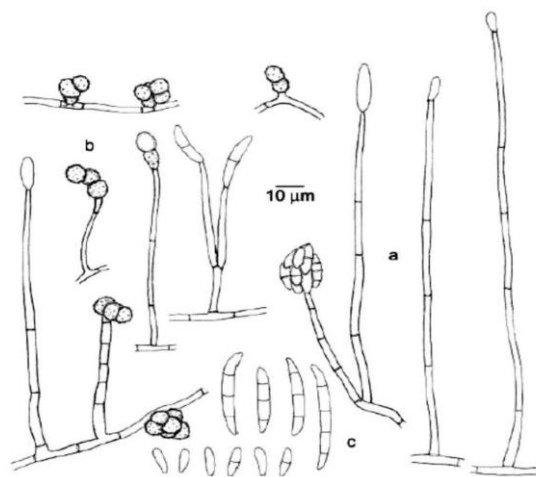


Figure 4 : Caractères morphologiques de *Fusarium solani* a : conidiophores avec monophialides ; b : chlamydospores ; c : micro et macroconidies (Debourgogne, 2013).

1.6.7 Spécificité parasitaire

Les différents espèces de *Fusarium* s'attaquent préférentiellement à une culture céréalière. Ainsi *Fusarium moniliforme* se développera principalement sur des cultures de maïs, alors que *Fusarium graminearum* se développera sur orge, blé ou maïs (Jeunot, 2005).

1.6.8 Biologie

Le cycle biologique de *Fusarium* est assez simple. Il ressort des études réalisées que sa dissémination est optimale par temps chaud, humide et notamment lors de fortes pluies (Jeunot, 2005).

Les *Fusaria* survivent sur les débris de culture contaminés sous forme de spores. Pour qu'il y ait infection de l'épi, il faut que les spores soient transportées du sol jusqu'aux épis. Si l'humidité est suffisamment élevée, les spores présentes sur les anthères peuvent germer. Le champignon colonise d'abord ce tissu puis progresse dans la fleur où le grain en formation. Sa propagation progresse vers les fleurs et épillets voisins (figure 5). Les infections qui surviennent pendant cette période causent les dommages les plus sévères tels la stérilité florale, la réduction du nombre et de la grosseur des grains. Les températures après l'infection vont aussi jouer un rôle important dans le développement de la maladie. En général, un temps chaud et humide favorise le développement de l'espèce la plus virulente qui est *F. graminearum*. Une infection peut survenir plus tardivement, lorsque les grains sont déjà bien formés, ce qui ne réduit pas les rendements de façon significative (Jeunot, 2005).

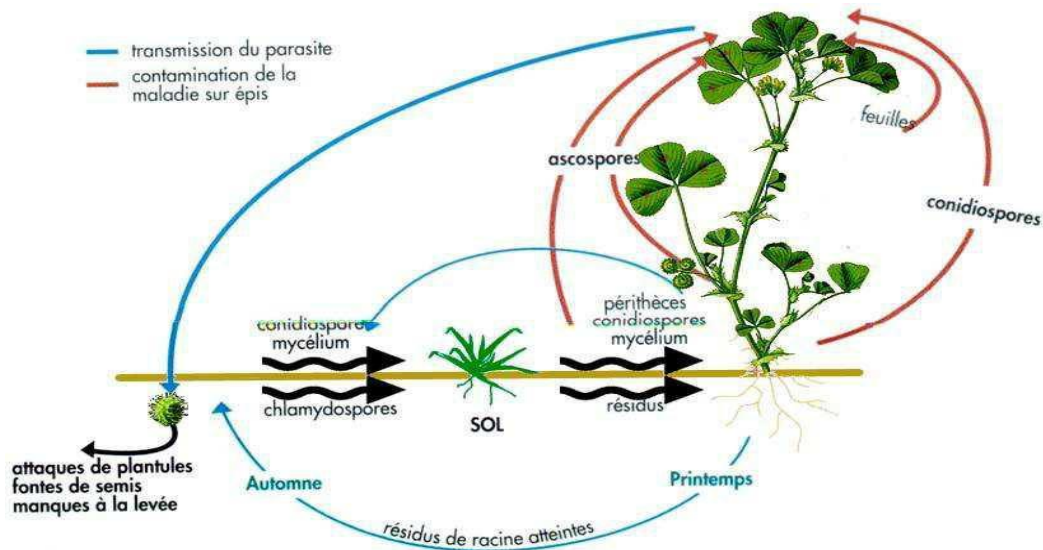


Figure 5 : Cycle de *Fusarium* spp. : Illustration des différents modes d'action (Caron, 2000)

1.6.9 Facteurs de développement de la maladie

Il est important de souligner que le climat, la densité d'inoculum et la sensibilité des plantes déterminent le développement de la maladie et la production des mycotoxines (Tremblay et al., 2013).

La température et l'humidité sont responsables de 48 % de la variation dans les concentrations de DON. Le climat joue donc le rôle principal dans le développement de la maladie puisque nous n'avons pas d'influence sur la météo, l'emphase doit être mise sur les deux autres facteurs.

Par ailleurs, le précédent cultural, qui détermine en partie l'inoculum présent, est responsable de 21 % de la variation dans les concentrations de DON. Ainsi, les pratiques culturales permettent de limiter ce facteur. En fin le choix d'un cultivar plus ou moins sensible à la fusariose est responsable de 27 % de la variation dans les concentrations de DON.

1.6.10 Lutte :

Les principaux leviers de lutte contre la fusariose regroupent les pratiques culturales, la résistance variétale et la lutte chimique (Tremblay et *al.*,2013)

Il est possible également d'utiliser des traitements chimiques pour prévenir l'apparition des mycotoxines. Le choix variétal est plus important que l'avantage qui pourrait être potentiellement fourni par les fongicides. En effet, l'efficacité des fongicides connaît de sérieuses irrégularités qui s'expliquent par la date de traitement, la technique d'application ou le choix des produits et de leur dose (Jeunot, 2005)

La lutte agronomique consiste à l'incinération des chaumes, des labours profonds, la rotation et la culture de variétés résistantes (INPV, 2004).

1.7 Généralités sur la culture hydroponique

La culture hydroponique de l'orge fourrager se fait dans des modules de 12m²(Figure 6) et exige l'utilisation d'une semence non traitée, qui permet d'obtenir un fourrage vert. Cette nouvelle technique de production de l'orge germée dans une chambre noire est basée sur la conservation dans une enceinte close d'un taux d'humidité et de température précis de graines auparavant mises à tremper. Dès la germination démarrée, les graines sont éclairées de façon à favoriser la photosynthèse. En 5 à 6 jours, les graines produisent des plantules de 10 cm. Un kilo d'orge permet de produire jusqu'à 8 kg de fourrage vert en utilisant entre 2 et 3 litres d'eau au lieu de 50 litres en culture classique (en sol). Quant à l'irrigation, elle se fait par nébulisation (Boumediene, 2016).



Figure 6 : Les modules de culture hydroponique de l'orge fourragère (Brahim, 2014)

1.7.1 Situation de la culture hydroponique de l'orge fourrager en Algérie

La culture de l'orge est pratiquée essentiellement sur les hautes plaines. Les superficies qui lui sont consacrées varient d'une année à l'autre avec une moyenne, sur plus d'un siècle (1901-2005), de 1 million d'hectares, une production moyenne variant de 3 à 16 millions quintaux et une moyenne de rendement en grain de 7q/ha. Parmi les pays du Maghreb, l'Algérie se classe en seconde position après le Maroc, qui produit plus de 16 millions de quintaux en moyenne (Faostat, 2008).

Une unité de production d'orge hydroponique, fourrage pour ruminants, unique en son genre dans la wilaya de Tlemcen, a été officiellement lancée par le wali de Tlemcen, lors de sa visite d'inspection et de travail effectuée dans la commune de Sebdou. Il s'agit d'une chambre spéciale de germination de l'orge d'une capacité de production de 12 quintaux/jour d'orge verte (Boumediene, 2016).

1.7.2 Avantages et inconvénients de la culture de l'orge fourragère en hydroponie

Les avantages des cultures hydroponiques par rapport à un système de production classique de pleine terre sont nombreux. Ils permettent de comprendre l'essor de cette technique dans le monde actuel. Les rendements en culture hydroponique sont généralement supérieurs aux cultures en terre. Cela grâce à la gestion de l'éclairage, de la température, de la fertilisation, à la diminution du stress hydrique et une meilleure utilisation de l'espace disponible. Les produits cultivés en hors-sol sont de qualité supérieure. En revanche, un des avantages liés à la technique hors-sol est la facilité de déplacement de la culture et la simplification des techniques culturales, finies les rotations de cultures. Ce mode de culture hydroponique permet d'obtenir un fourrage vert de qualité en huit jours seulement, et tout au long de l'année de réduire le coût du fourrage et améliorer la production laitière (Gilberto, 2013).

1.8 Les Mycotoxines

Plus de 2500 mycotoxines ont été répertoriées, mais seules une trentaine possèdent des propriétés toxiques réellement préoccupantes pour l'homme ou l'animal (ESIAB, 2011).

Les mycotoxines font parties des contaminants naturels de l'alimentation, par opposition aux molécules apportées intentionnellement ou accidentellement par l'homme telles que , les additifs alimentaires et les résidus de produits phytosanitaires.

On peut les trouver sur de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales mais aussi les fruits, ainsi que des aliments composés ou manufacturés issus de ces produits et destinés à l'alimentation. Elles peuvent également être retrouvées dans le lait, les œufs, les viandes ou les abats, si les animaux ont été exposés à une alimentation contaminée par des mycotoxines. Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, difficilement dégradables par les organismes vivants et très stables à l'acidité et à la chaleur.

Les mycotoxines sont particulièrement résistantes à la chaleur, ce qui les rend d'autant plus dangereuses pour le consommateur puisqu'on peut les retrouver dans les aliments après cuisson ou même stérilisation (ESIAB, 2011)

En sécurité alimentaire, il y a six familles de mycotoxines qui, si elles sont présentes dans l'alimentation à des doses suffisantes, peuvent faire courir des risques aux consommateurs et selon ESIAB (2011) ce sont :

- les aflatoxines
- les ochratoxines
- les fumonisines
- les trichothécènes
- la patuline
- la zéaralénone

1.8.1 Conséquence des mycotoxines

La contamination des céréales peut survenir avant, pendant et après la récolte, et aussi au moment du stockage. En effet, les moisissures se développent lors de l'entreposage si les céréales ne sont pas suffisamment sèches au départ ou si le grain a été endommagé ou encore si le taux d'humidité augmente durant la période de stockage (ESIAB, 2011).

En revanche ,*les cultures hydroponiques comportent aussi des inconvénients* . Dans un système hydroponique fermé , le risque de propagation d'un agent pathogène d'une plante à

l'ensemble de la culture est grand et le développement de moisissures engendrent dans autres conditions ,la production de mycotoxines dangereuses pour la santé de l'homme et des animaux (Gilberto, 2013).

1.9 Généralités sur les huiles essentielles

Une huile essentielle est une substance liquide, odorante, volatile, de consistance huileuse, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry, 2007) , elle représente l'essence de la plante, autrement dit son parfum (Bonnafous., 2013).

L'association française de normalisation définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu d'une matière première végétale , soit par entraînement a la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques a partir de l'épicarpe des agrumes, soit par distillation a sec ,Elle est ensuite déparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 2000)

1.9.1 Localisation

Les HE peuvent s'accumuler dans des cellules isolées qui se distinguent des cellules banales par leur teinte plus jaune et leurs parois épaisses, légèrement subérifiées. C'est le cas chez les Lauracées. Elles peuvent former de fines gouttelettes parsemant le protoplasme de cellules épidermiques (épiderme supérieur des pétales de Rose). Mais généralement les épidermes des pétales de fleurs odorantes ne contiennent pas de grosses réserves d'essences. Elles sont vaporisées de façon continue au cours de leur formation (Werker et al.,1993).

1.9.2 Méthodes d'extraction

Les huiles essentielles peuvent être extraites par les méthodes suivantes :

1.9.2.1 Extraction par Hydrodistillation

C'est le procédé le plus utilisé , car il convient à la majorité des plantes. Cette méthode est normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Elle consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition à pression atmosphérique. Lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles (Fasty, 2007). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100°C à pression atmosphérique alors que les

températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi restée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, la vapeur redevint donc liquide et les huiles s'en désolidarisent. On les récupère alors par décantation (Franchomme, 1990).

1.9.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). On recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits (Dastmalchi et *al.*, 2008).

1.9.2.3 L'expression à froid

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (Chaintreau et *al.*, 2003).

1.9.2.4 Extraction au CO₂ supercritique

L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé: le CO₂ supercritique. Au-delà du point critique (P = 73,8 bars et T = 31,1 °C), le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, qui est plus facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, non inflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus. Outre ces avantages, le principal point fort est la qualité irréprochable de l'extrait puis qu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique point faible est le coût très élevé de son installation (Pellerin, 2001). En jouant sur

les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles, non chargés en molécules non volatils. Ainsi, la température et la pression à ne pas dépasser pour extraire uniquement les principes volatils est 60 °C et 60 bars (Richard , 1992). Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante (Wenqtang et *al.*, 2007).

1.9.2.5 Extraction aux solvants organiques

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants et leur manque de sélectivité peuvent entraîner de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines.) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure (Shellie et *al.*, 2004). Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait (Wan et *al.*, 1995).

1.9.2.6 Hydodistillation par micro- ondes sous vide

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Solvent Free Microwave Extraction ou SFME) a été conçue pour des applications en laboratoire pour l'extraction d'huiles essentielles de plantes aromatiques (Chemat et *al.*, 2004). Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vu qualitatif et quantitatif, le procédé SFME

semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydro-distillation ou l'entraînement à la vapeur (Lucchesi et *al.*, 2004a ; Lucchesi et *al.*, 2004b).

1.9.2.7 L'enfleurage

La procédure met à profit la liposolubilité des composés odorants des végétaux dans les corps gras qui permet l'exploitation des organes fragiles. Le matériel végétal est mis en contact avec des graisses, ces dernières ayant une forte affinité avec les composés odorants . Cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (Lardry et Haberkorn, 2007).

1.9.3 Propriétés physico-chimiques

Selon leurs propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène(Bernard,1988).

Leurs indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile maintenue à température constante (Lion, 1955).

1.10 Généralités sur l'hydrolat

Les hydrolats sont composées de vapeurs d'eau chargées de molécules aromatiques beaucoup plus solubles que celles des huiles essentielles . On leur ajoute souvent un conservateur .Il a un nombre de molécules aromatiques très inférieur à celui d'une huile essentielle . Ils ont malgré tout une efficacité intéressante et sont un recours précieux à chaque fois que l'utilisation des huiles essentielles se révèle délicate. (Millet, 2013).

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires. Le principal marché des hydrolats se situent dans le domaine des cosmétiques et des arômes alimentaires. Cependant, avec le regain d'intérêt actuel pour les médecines alternatives telle que l'aromathérapie, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus utilisés pour leurs vertus thérapeutiques. Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Leur popularité auprès des consommateurs est principalement due à leur non toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leurs faibles teneurs en principe actifs. Ils sont de ce fait beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles ce qui en fait un produit de choix pour les aromathérapeutes. Malgré cet engouement, les chercheurs s'intéressent peu aux hydrolats et à leurs potentiels thérapeutiques .Il existe donc un réel manque de données fiables dans ce domaine (Piochon, 2008).

1.11 Méthodes d'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des huiles essentielles

1.11.1 Méthode des disques

La méthode des disques est la technique la plus répandue pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Elle est reconnue comme précise et fiable, quoiqu'elle produise des résultats semi-quantitatifs, et selon quelques auteurs, seulement qualitatifs et non reproductibles (Jassen et *al.*,1987). Cette méthode a été adoptée pour le criblage des huiles essentielles (Maruzzella et Sicurella ,1960). Selon (Kalemba, 2003) c'est une technique qui convient plus aux bactéries qu'aux champignons. Elle a été utilisée dans 73 % des études recensées et consacrées à l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des citrus (Baser, 2010).

Le principe de la technique consiste à placer l'huile essentielle sur une surface d'Agar. Deux voies d'introduction de l'huile essentielle sont possibles : sur un disque en papier ou dans un trou réalisé dans le milieu de gélose (Amouni et *al.*,2013). L'huile essentielle à activité antimicrobienne provoque une zone d'inhibition autour du disque ou du trou après incubation, respectivement et normalement la taille de la zone d'inhibition correspond à la puissance de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et elle est évaluée par la mesure du diamètre, en cm ou mm (Baser, 2010) .

1.11.2 Méthode de dilutions

Dans la méthode des dilutions, l'huile essentielle est incorporée dans le milieu semi solide d'Agar ou bouillon liquide en différentes quantités.. L'absence de la croissance sur milieu de culture semi-gélosé ou dans les tubes à essai est déterminée à l'œil nu après incubation. La faible miscibilité des huiles essentielles dans l'eau constitue une difficulté. L'utilisation des solvants (diméthylsulfoxyde et éthanol) ou des tensioactifs (Tween 20 et 80) dans le milieu de culture est inévitable ce qui peut influencer la concentration minimale inhibitrice (Hili et *al.*,1997). L'expression des résultats peut être de deux manières : L'index d'inhibition de la croissance définie comme le pourcentage d'inhibition de la croissance du champignon par rapport au témoin incubé sur milieu de culture exempt d'huile essentielle. La concentration minimale inhibitrice (CMI) fongistatique ou la concentration minimale fongicide (CMF) (ou létale)

La méthode des dilutions a été adoptée par 71% des études destinées a évaluer le pouvoir antifongique des huiles essentielles des citrus vis-à-vis des champignons pathogènes (Baser, 2010) .

1.11.3 Méthode de microdilution

La méthode microdilution est un modèle, reproductible et standardisé, basé sur des séries de dilutions avec des répétitions par série réparties sur microplaques. Le test nécessite relativement une faible quantité d'huile essentielle pour les essais. Cette méthode reste très limitée dans son utilisation. L'estimation de la biomasse fongique est relevée par spectrophotométrie. La croissance mycélienne est contrôlée par photométrie à 492 nm par mesure de la densité optique (DO) de chaque puit en comparaison au témoin inoculé non traité par l'huile essentielle (Wilson et al., 1997 ; Kuhajek et al., 2003). C'est une technique rapide pour le screening de l'activité antifongique d'un nombre élevé d'huiles essentielles (Kouassiet al., 2012).

1.11.4 Méthode de contact direct

La technique de contact direct "ou poisoned food" est employée pour étudier le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles vis-à-vis des champignons phytopathogènes (Hamroini et al., 2014 ; Messgo-moumene et al., 2014 ; Sameza et al., 2014) Elle consiste à placer un disque mycélien au centre d'une boîte de Pétri contenant l'huile essentielle ou ces composants dans un milieu solide gélosé. Les cultures de croissances contenant les huiles essentielles sont accompagnées par les cultures témoins négatives, où les huiles sont remplacées par de l'eau ou du solvant. Biondi et al., (1993) proposent l'utilisation de cultures témoins positives contenant un fongicide standard pour évaluer la sensibilité des souches testées. Par contre Jassen et al., (1987) estiment que cette étape n'est pas nécessaire pour l'évaluation de l'activité antifongique et l'application du fongicide n'est possible que dans le cas de l'étude de la sensibilité des souches .

En outre , l'activité fongicide ou fongistatique peut être vérifiée en transférant le disque mycélien ne montrant aucune croissance sur un autre milieu frais exempt d'huile essentielle ou de ces composants (Thompson, 1989).

1.11.5 Méthode micro atmosphère

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier ou un récipient contenant une quantité d'huile essentielle au centre du couvercle d'une boîte de Pétri sans que l'huile essentielle entre en contact avec la géloseensemencée par les microorganismes. La boîte est hermétiquement fermée (Baser, 2010). Après incubation une zone d'inhibition se forme ce qui correspond à l'activité antimicrobienne. Cette méthode permet de déterminer seulement la CMI en atmosphère (CMI_{air}) (Inouye et al., 2001 ; Nakahara et al., 2003).

Chapitre 2: MATERIEL ET METHODES

2.1 Introduction

Ce travail nécessite l'utilisation d'un matériel biologique constitué d'un matériel végétal et d'un matériel fongique et le suivi rigoureux d'un protocole expérimental ainsi qu'une analyse statistique des résultats obtenus.

L'expérimentation s'est déroulée au niveau du laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques du département de Biotechnologies de l'Université de Blida 1 dont on a fait l'extraction de l'huile essentielle de Menthe pouliot par Clevenger et la méthode de contact direct de l'étude de l'activité antifongique. et le laboratoire de Mycologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux, INPV d'El Harrach, elle a duré quatre mois, du mois de février jusqu'au mois de Mars, de l'année 2017 et c'était la réalisation de la méthode micro atmosphère de l'activité antifongique , la sporulation et la germination.

Pour l'extraction de l'huile essentielle de Menthe pouliot par Alambic c'est une méthode traditionnelle qui a été réalisée à la maison.

2.2 Matériel fongique

Le matériel fongique est représenté par trois isolats de *Fusarium* spp. (F1 ,F2 et F3). prélevés d'une culture hydroponique (Moumene S.,2017) pour faire l'objet d'un programme de recherche. Ces isolats issus des échantillons de culture hydroponique de l'orge fourrager de la variété locale « Saïda ».Ils ont été purifiés, identifiés comme isolats de *Fusarium* spp. et conservés à l'abri des contaminations (Communication Personnelle de Mme Moumene, 2017).

2. 3 Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par la partie aeriennne de la Menthe pouliot récoltée au mois de juillet (2016) en phase de floraison à proximité de oued Bentrada dans la région de Berrouaghia, wilaya de medea .

Les échantillons de plants récoltés ont été transportés dans des sachets en papier puis, mis à sécher à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 1mois pour servir à l'extraction de l'huile essentielle, et stocké pendant 3 mois a l'abri de l'humidité et la lumière .

2.4 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par la technique d'hydrodistillation, selon deux dispositifs d'extraction: l'hydrodistillation par Clevenger (Figure 8) et l'autre par l'alambic (Figure 7)



Figure 7 : Dispositif de Alambic pour l'extraction de l'huile essentielle

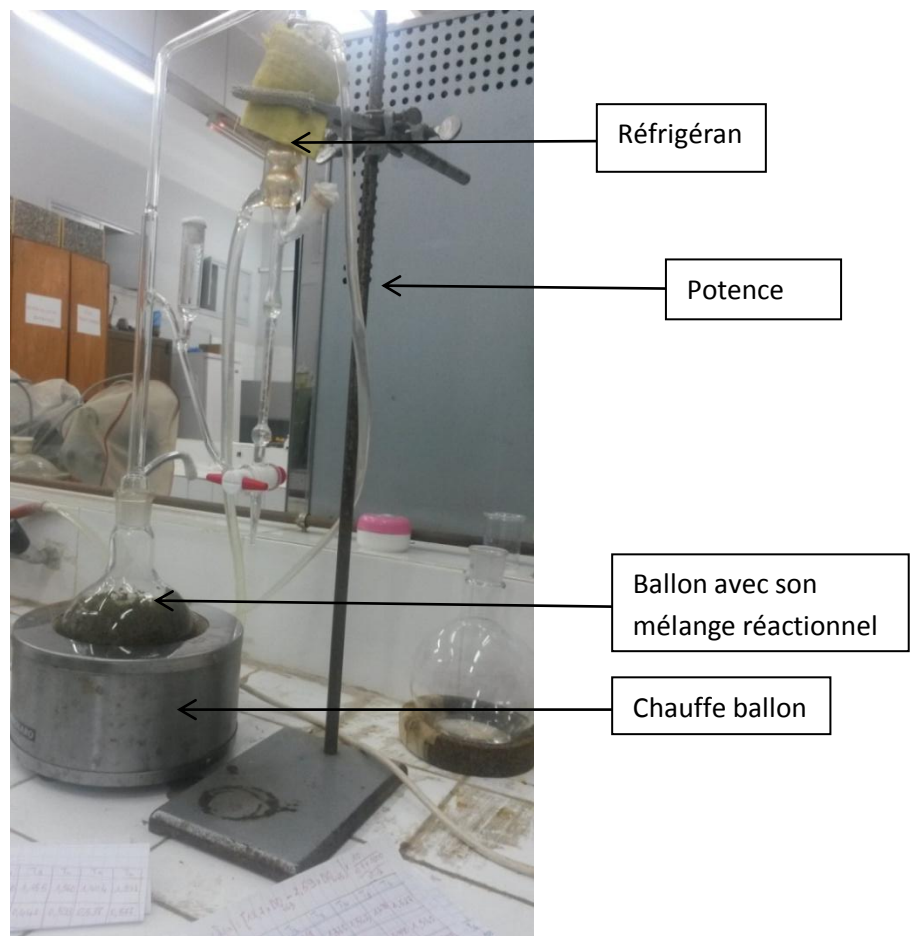


Figure 8 : Dispositif de Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle

2.4.1 Hydrodistillation par Clevenger

Cette technique consiste à placer 50g de matériel végétal sec dans un ballon à fond rond de 1000ml et y introduire 750ml d'eau distillée dans ce dernier pour l'y porter à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. La vapeur se charge de substances volatiles, qui se condensent grâce à un réfrigérant. À la fin de chaque extraction, l'huile essentielle a été récupérée directement dans un Eppendorf préalablement stérilisé à 120°C à l'autoclave. La distillation est répétée plusieurs fois et le volume global du distillat est estimé en (ml) .

2.4.2 Hydrodistillation par Alambic

Ce type d'extraction consiste à placer où 700g du matériel végétal sec dans le récipient en cuivre puis, introduire l'eau jusqu'à ce que le récipient sera rempli, le matériel végétal et l'eau ont été bien mélangés. Le dispositif a été porté à ébullition. Les vapeurs ainsi produites s'échappent dans le chapiteau, passent dans le col de signe, et enfin traversent un réfrigérant où elles se condensent. Le produit est ensuite collecté dans un tube stérilisé grâce à un robinet. Par ailleurs, les hydrolats extraits selon les deux méthodes ont été également récupérés dans des flacons stérilisés et conservés au réfrigérateur à la température de 4°C jusqu'à leur utilisation.

2.5 Rendement en huile essentielle

Évaluation du rendement en huile essentielle a été déterminé pour chacun des deux types d'hydrodistillation selon la formule décrite par AFNOR(1986) suivante :

$$R_H = (V/M_{MV}) \cdot 100$$

Où

R_H (%): Rendement en huiles essentielles en (ml) /par rapport à 100g de matière sèche

V : Masse d'huile essentielle en (g)

M_{MV} : Masse de la matière végétale sèche (g).

2.6 Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle

L'analyse physico-chimique a été basée sur l'indice de réfraction selon la pharmacopée européenne (2008) :

2.6.1 Indice de réfraction

Il consiste à étalonner d'abord le réfractomètre avec de l'eau distillée puis placer 2 à 3 gouttes d'huile essentielle testée sur le réfractomètre d'Abbe (Figure 10). Le réfractomètre doit être réglé jusqu'à la stabilisation pour lire la valeur de l'indice indiqué par le réfractomètre sur le cercle gradué (Mnayer, 2014)

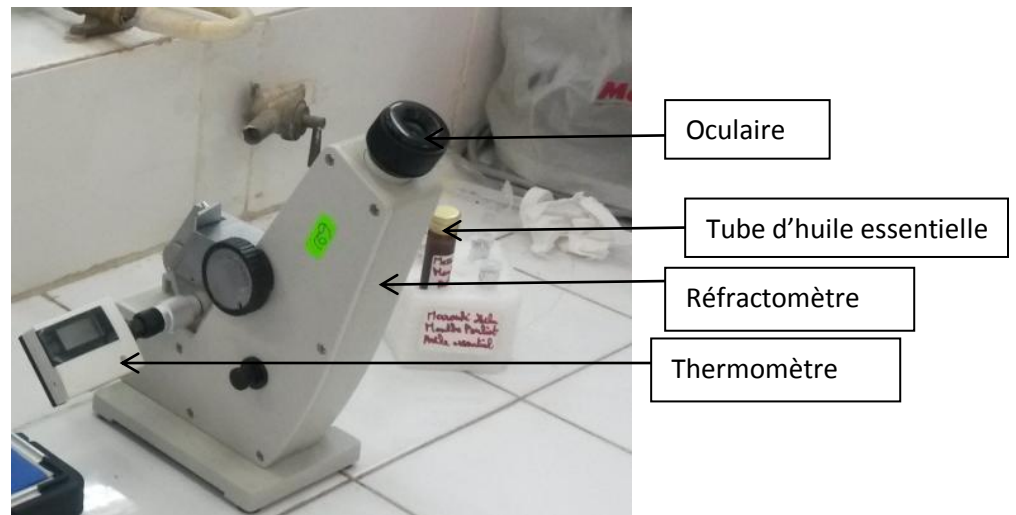


Figure 9 : Réfractomètre d'Abbe

2.7 Etude *in vitro* de l'activité antifongique de Menthe pouliot vis-à-vis des isolats de *Fusarium spp.*

L'étude du pouvoir antifongique a porté sur les huiles essentielles et les hydrolats récupérés des deux types d'extractions retenues pour notre étude. À titre comparative, une autre huile essentielle formulée de la Menthe pouliot récoltée de la région de « Bouira », ayant déjà fait l'objet des travaux de recherche (Moumene et *al.*, 2016) a été retenue comme huile de comparaison pour notre étude. L'étude de l'effet des hydrolats et des émulsions d'huiles essentielles préparés à partir de la plante étudiée et testés sur les isolats de *Fusarium spp.* a été basée sur la description morphologique par observation microscopique directe sous microscope optique au grossissement (X500) de leurs cultures selon la technique de contact direct et celle de micro-atmosphère.

2.7.1 Méthode de contact direct

Cette technique consiste à préparer d'abord une émulsion d'huile essentielle de Menthe pouliot de 4% préparée à base d'une solution d'eau-agar à 0,2 % (m/v)(Remmal, 1993).

En effet, dans chaque boîte de Pétri stérile de 90mm de diamètre, ont été versé 1,5 ml d'émulsion d'huile essentielle citée précédemment complété par 30ml de milieu PDA en surfusion, respectivement. L'ensemble a été mélangé en agitant soigneusement la boîte par de petits mouvements circulaires. Les témoins correspondent aux boîtes de Pétri ne renfermant que du milieu PDA (Composition voir Annexe 1)

Par ailleurs, d'autres boîtes ont été préparées comme précédemment sauf que l'émulsion a été substituée par le même volume d'hydrolat pure. Les deux hydrolats ont été pris en considération pour notre étude.

Après solidification du milieu de culture à la température ambiante et à l'abri des contaminations. Les boîtes ainsi préparées ont étéensemencées par le dépôt au centre de la surface du milieu .un disque mycélien de 5 mm de diamètre, prélevé à partir de la périphérie de la culture âgée de 7 jours de chacun des trois isolats de *Fusarium* spp. testés, à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les boîtes Pétri ont été scellés avec du parafilm et cinq répétition sont été prises en considération pour chaque extrait et chaque isolat.

L'incubation s'est faite dans une étuve préalablement étalonnée et réglée à une température de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant sept jours.

2.7.2 Méthode de micro-atmosphère

Des boîtes de Pétri ont été préparées extemporanément par remplissage de 20 ml de milieu PDA en surfusion. Le repiquage de chacun des isolats de *Fusarium* spp. a été réalisé de la même manière que la méthode de contact direct. Par ailleurs, des disques de papiers filtres (Wattman N° 5) de 80 mm de diamètre préalablement autoclavés à 120°C pendant 20min, ont été placés dans le couvercle supérieur de chaque boîte de Pétri puis imprégnés séparément dans les différentes concentrations d'émulsion d'huile essentielle, à l'aide d'une micropipette. Les concentrations testées ont été respectivement de 7,5 ; 15 ; 30 et 60 μl /disque. Le témoin a été considéré sans apport de fractions volatiles d'huile essentielle aux disques de papiers filtres.

Les boîtes ont été hermétiquement scellées avec du Parafilm en considérant leurs couvercles supérieurs en bas. Leur incubation a été réalisée à 25°C pendant sept jours. Trois répétitions ont été prises en considération pour chaque isolat de *Fusarium* spp. et chaque concentration d'huile essentielle.

La croissance mycélienne a été suivie quotidiennement par la mesure du double diamètre perpendiculaire passant par le centre de chaque boîte. La fongitoxicité , a été exprimée en

terme de pourcentage d'inhibition (I%) de la croissance mycélienne selon la formule, décrite par (Pandey, 1982) suivante :

$$I\% = \frac{DT - Dt}{DT} \times 100$$

Où DT (mm) est le diamètre des colonies développées dans un milieu sans huile essentielle, T :Témoin, Dt : le diamètre de la culture du même isolat fongique développé dans un milieu en présence d'huile essentielle.

2.8 Inhibition de la sporulation et de la germination

Les cultures d'isolats fongiques étudiés développées sous l'effet des huiles essentielles et des hydrolats testés ainsi que ceux des témoins, après une période d'incubation de 21 jours à 25°C, ont été séparément mises en contact avec 10 ml d'eau distillée stérile, puis raclées à l'aide d'une pipette pasteur stérile pour récupérer séparément les suspensions conidiennes des isolats.

dans des tubes à essai stérilisés. Ces derniers ont été soumis à l'agitation à l'aide d'un agitateur de tubes vortex.

Les suspensions conidiennes récupérées de chacun des trois isolats de *Fusarium* spp. ont fait l'objet de détermination du nombre de conidies produites et germées par le biais de comptage à l'aide d'une cellule de Malassez, sous microscope optique, au grossissement (X125).

Les taux d'inhibition ont été calculés pour la sporulation et la germination respectivement selon les formules décrites par (Hmouni., 1996) . Suivantes :

$$IS(\%) = \frac{(ST - St)}{ST} \times 100$$

Avec : **IS**(%): Taux d'inhibition de la sporulation, **ST**(conidies/ml): Concentration en conidies de l'inoculum témoin et **St**(conidies/ml): Concentration en conidies de l'inoculum traité pour les extraits de plante. par ailleurs, le pourcentage d'inhibition de la germination

IG(%) a été calculé pour chaque isolat selon la formule décrite par Berber et *al.* (2009) suivante :

$$IG(\%) = \frac{(GT-Gt)}{GT} \times 100$$

Avec : **IG(%)**: Taux d'inhibition de la germination, **GT**(nombre de conidies germées/ml): Nombre de conidies germées de l'inoculum témoin et **Gt** (nombre de conidies germées/ml): Nombre de conidies germées de l'inoculum traité par les extraits plante étudiée .

2.9 La survie

Dans le but de confirmer l'effet fongicide ou fongistatique des extraits à base de Menthe pouliot, la survie des isolats phytopathogènes de *Fusarium* spp. a été étudiée *in vitro* en se basant sur la reprise ou l'inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat préalablement inhibé après leur repiquage sur milieu PDA frais dans les mêmes conditions d'incubation citées précédemment. La lecture a été suivie quotidiennement et prolongée jusqu'à 1 mois. L'évaluation du pouvoir inhibiteur des extraits dépend de la croissance des isolats et l'extrait de plante serait fongicide en cas d'absence de la croissance mycélienne.

Cela est confirmé par un repiquage des disques mycéliens respectifs de ces boîtes, dans des boîtes contenant du milieu PDA frais. Si l'absence de cette croissance persiste après 7 jours d'incubation, le pouvoir fongicide de l'extrait est alors confirmé, en cas de reprise de la croissance mycélienne, l'extrait de plante est dit alors, fongistatique

2.10 Modifications de la morphologie des isolats testés

Des observations vitales au microscope photonique ont été réalisées pour les trois isolats, pour déterminer les modifications structurales des isolats fongiques testés à l'effet des extraits, par rapport aux témoins respectifs.

2.11 Analyse statistique

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des extraits préparés à base de la Menthe pouliot vis-à-vis des isolats de *Fusarium* spp. et de comparer leur pouvoir antifongique *in vitro* sur les différents paramètres biologiques de l'agent pathogène à savoir, la croissance mycélienne, la sporulation, la germination, la survie *in vitro*, tout en considérant les isolats fongiques

étudiés, des analyses statistiques ont été effectuées au moyen du logiciel SYSTAT vers.12, en déterminant la variance à l'aide du test ANOVA et du modèle GLM (Generalized Linear Model) . Les différences ont été considérées comme significatives pour $P \leq 0,05$ (**Philippeau, 1989**).

Chapitre 3: RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Rendement des huiles essentielles et caractérisation physico chimique

Après de nombreuses extractions (une quinzaine), le rendement en huile essentielle a été évalué .Il correspond à 3,48%.Par contre l'hydrodistillation par Alambic a été réalisée 2fois et a donné un rendement en huile essentielle de 0,97% .

Tableau 2 : Indice de réfraction de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

L'huile essentielle	Indice de réfraction	Norme AFNOR
ML	1,480	1,480 a 1,490

ML : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation

3.2 Activité antifongique in vitro de l'huile essentielle de Menthe pouliot

3.2.1 Méthode de contact direct

3.2.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,019$, $P\leq 0,05$) et hautement significative selon les méthodes d'extraction et les extraits de la Menthe pouliot ($P=0,000$, $P\leq 0,05$) (Annexe 2).

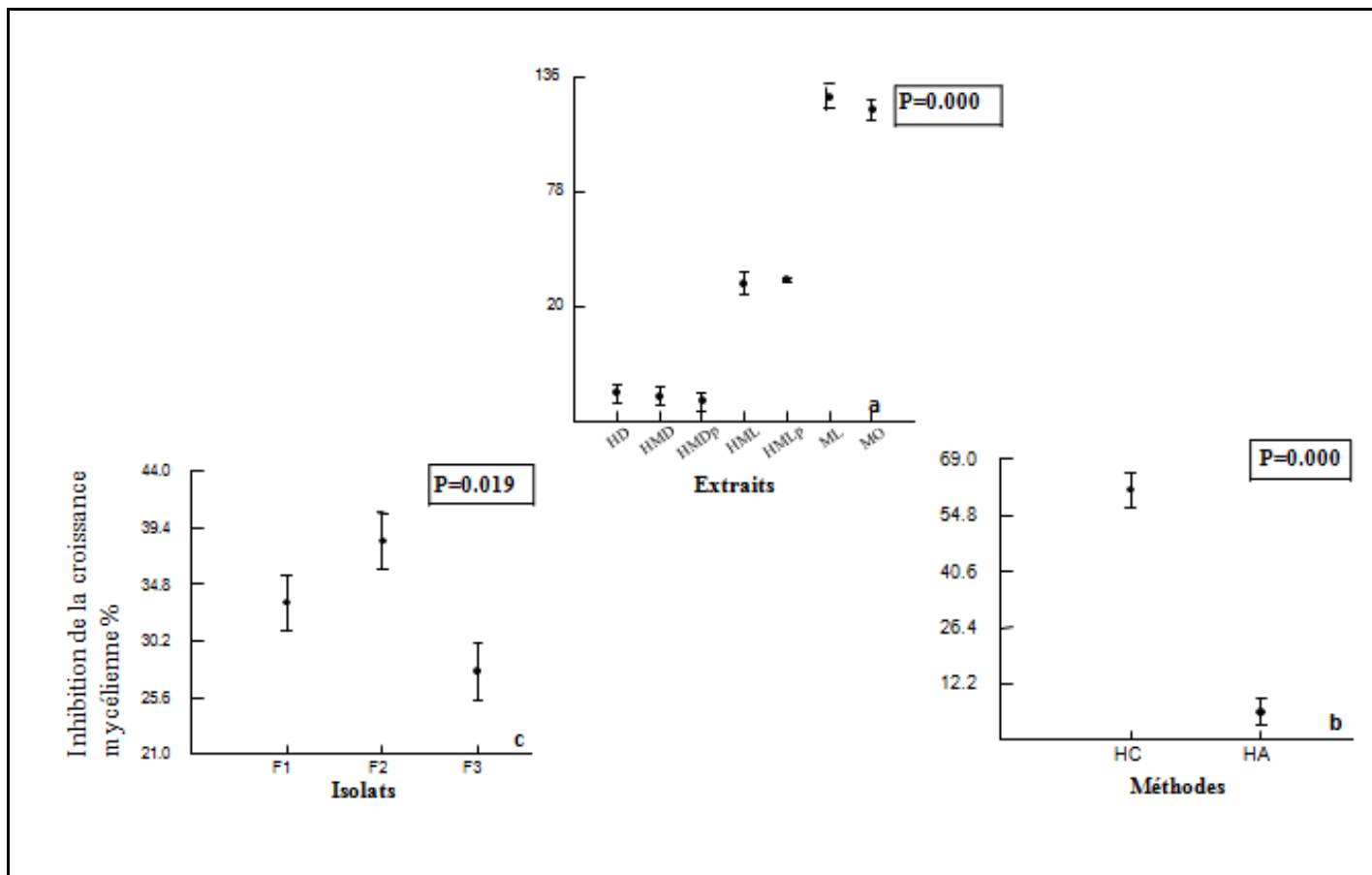


Figure 10 : Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de la plante(a), les méthodes d'extraction (b) et selon les isolats(c).

F1, F2, F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; HD : Huile essentielle extraite par alambic ; HMD : Hydrolat obtenue par alambic et ajouté a eau agar (4%) ; HMDp : L'hydrolat pur obtenue par alambic ; HML : L'hydrolat obtenue par hydrodistillation ; HMLp : L'hydrolat pur obtenue par hydrodistillation ; ML : Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ; MO : Huile essentielle de référence ; HA : Hydrolat extraite avec alambic ; HC : Hydrolat extraite avec clevenger.

En modèle GLM, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont montré une variabilité selon les isolats, les extraits et les méthodes d'extraction (Figure 10).

L'analyse de leur variance a montré une différence hautement significative. selon les extraits et les méthodes d'extraction ($P=0,000$, $P\leq 0,05$) , une différence significative selon les isolats de *Fusarium* spp. ($P=0,019$, $P\leq 0,005$). Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne enregistrés pour l'ensemble des isolats n'atteignent pas 50% (F1 :35%, F2 :42%,F3 :30%) ,alors qu'ils ont dépassé les 50% et ont atteindre même 100% pour Les deux huiles essentielles de Menthe pouliot étudiées . Les taux les d'inhibitions dépasse les 50% la

méthodes d'extraction par hydrodistillation, par clevenger alors qu'ils demeurent faibles pour celle extraite par alambic (HA :10%).

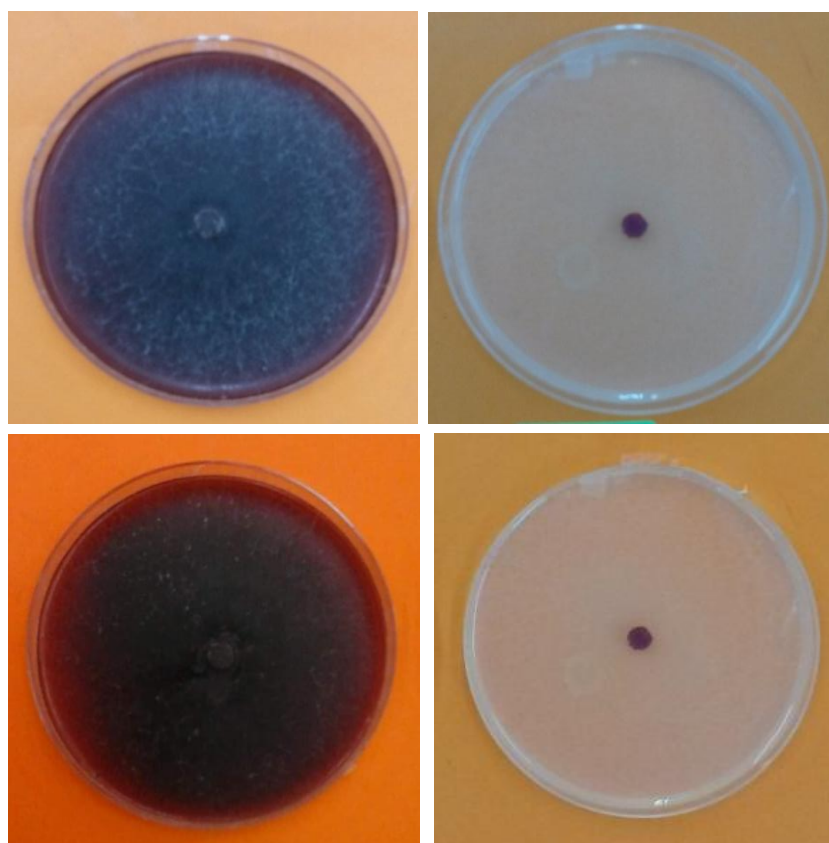


Figure 11 : Pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium* spp. (F 3B)

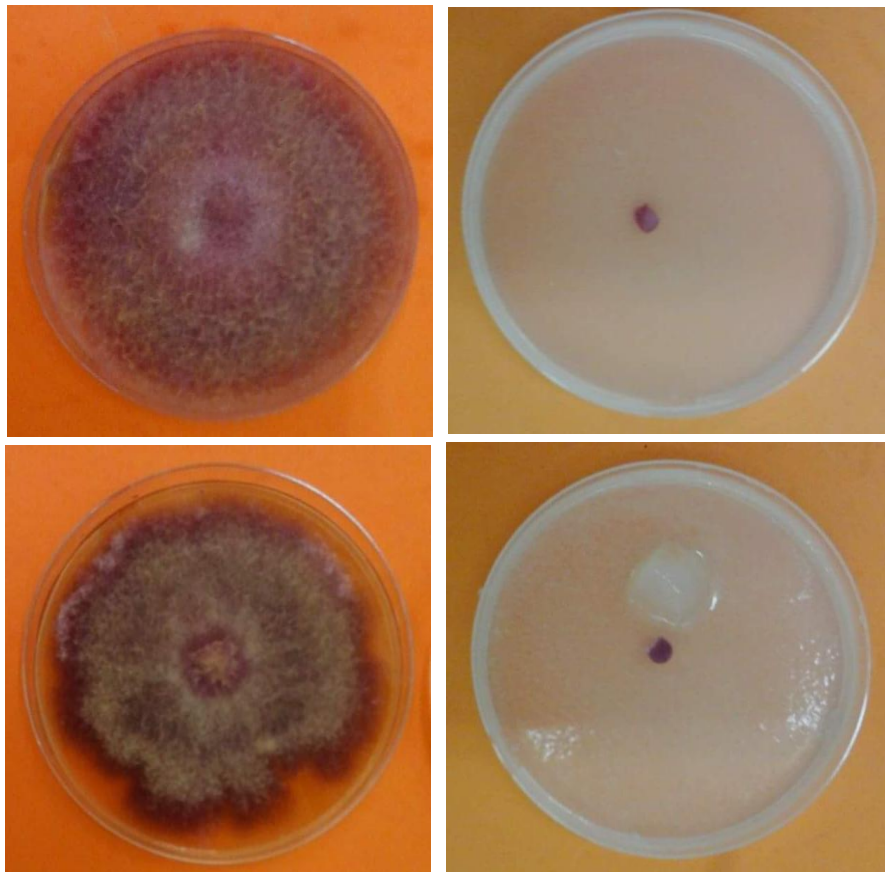


Figure 12 : Pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium* spp. (Fus M3)

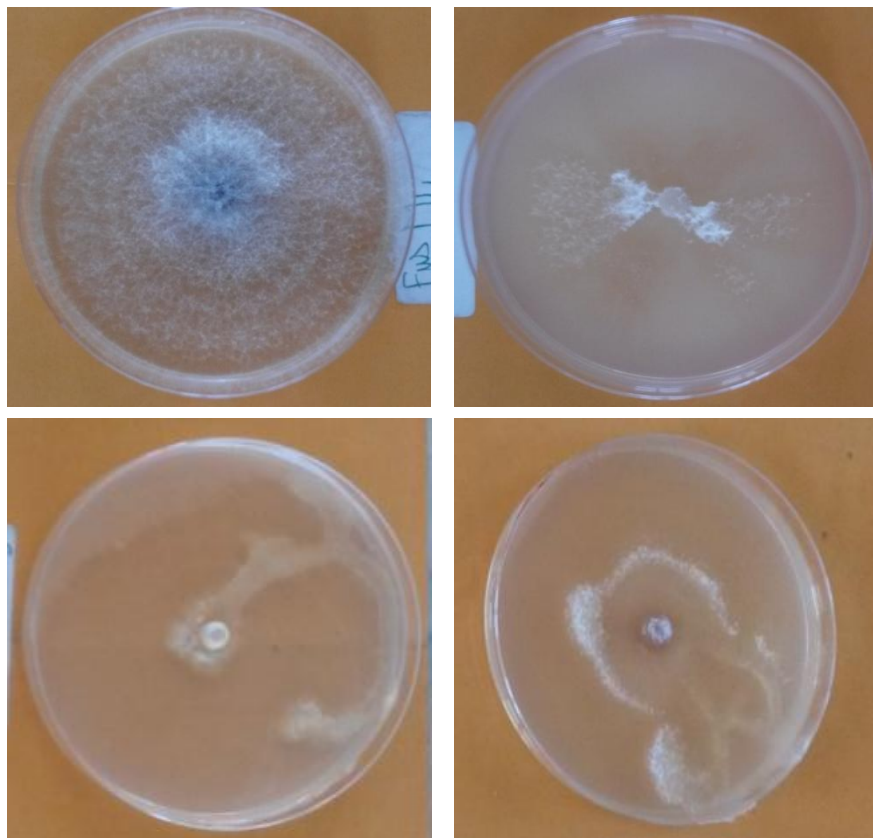


Figure 13 : Pouvoir inhibiteur des huiles essentielles de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Fusarium* spp. (Fus M4)

3.2.1.2 Inhibition de la sporulation

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence non significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,423, P\leq 0,05$), et les extraits de plante ($P=0,423, P\leq 0,05$). (Annexe 3).

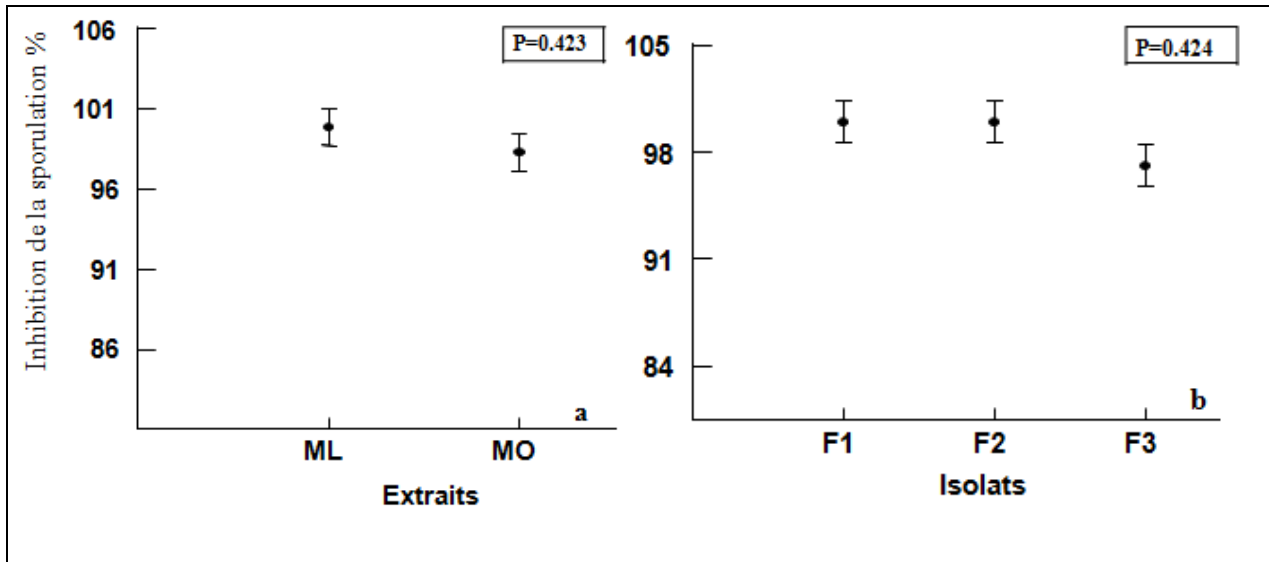


Figure 14 : Analyse de la variance de la sporulation mycelienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de plante(a) et selon les isolats(b).

F1 ,F2,F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; ML :Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ;MO :L'huile essentielle de référence .

En modele GLM, les taux d'inhibition de la sporulation ont montré une variabilité selon les isolats et les extraits .(Figure 14)

L'analyse de leur variance ont montré une différence non significative selon les isolats de *Fusarium* spp. ($P=0,423, P\leq 0,05$) et selon les deux huiles essentielles de la *Mentha pulegium* ($P=0,423, P\leq 0,05$) .Les taux d'inhibition enregistrés ont dépassé tous les 50% pour les trois isolats étudiés (F1 et F2 :99%,F3 :98%), ils étaient importants pour les extraits jusqu'à engendrer une inhibition complète de la sporulation 100%.(Figure 14)

3.2.1.3 Inhibition de la germination

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,045, P\leq 0,05$), mais non significative selon les extraits de la plante étudiée ($P=0,423, P\leq 0,05$). (Annexe 4).

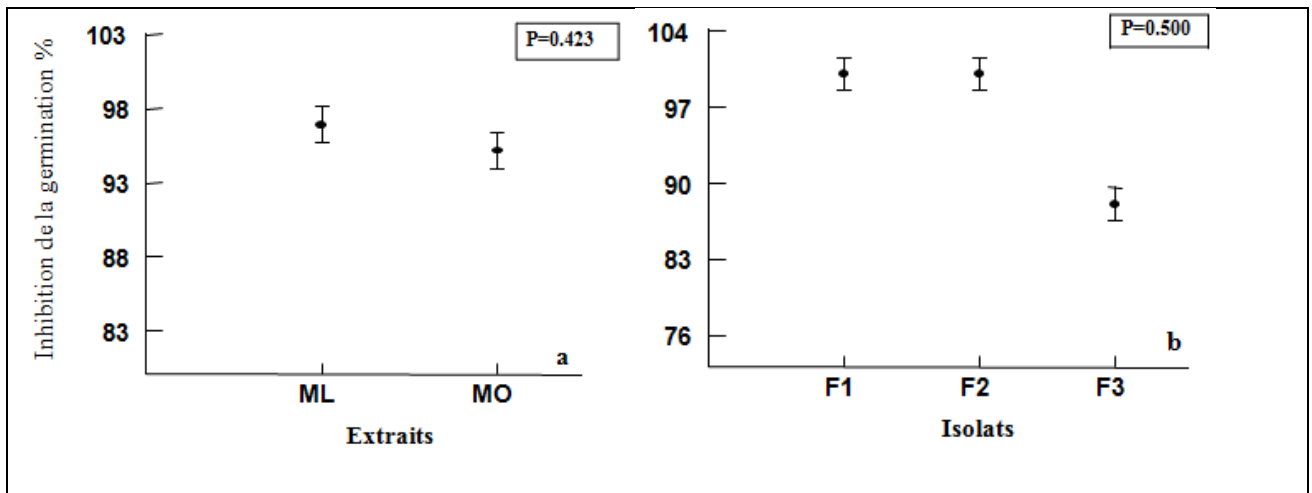


Figure 15 : Analyse de la variance de la germination des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de la Menthe pouliot et selon les isolats.

F1 ,F2,F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; ML :Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ;MO :Huile essentielle de référence .

En modele GLM, les taux d'inhibition de la germination ont montré une variabilité selon les isolats et les extraits (Figure 15)

L'analyse de leur variance ont montré une différence non significative selon les isolats de *Fusarium* spp. ($P=0,500, P\leq 0,05$) et selon les extraits de plante testés ($P=0,423, P\leq 0,05$) .les taux d'inhibition de la germination enregistrés selon les isolats dépassent les 50% ,(F1 et F2 :99%,F3 :89%), ils étaient également très importants , selon les huiles essentielles (ML :98% et MO :97%).

3.2.2 Méthode de micro-atmosphère

3.2.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence non significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,500$, $P\leq 0,05$) mais, non significative selon les huiles essentielles de la Menthe pouliot ($P=0,423$, $P\leq 0,05$). (Annexe 5).

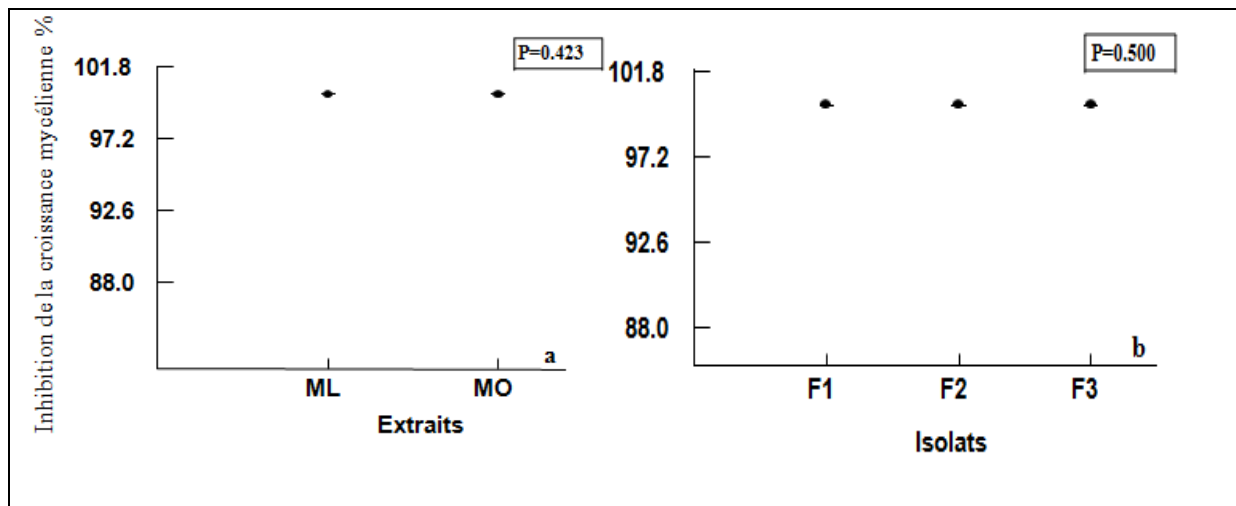


Figure 16 : Analyse de la variance de la croissance mycelienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de plante et selon les isolats.

F1 ,F2,F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; ML :Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ;MO :Huile essentielle de référence .

L'analyse de leur variance a montré une différence non significative selon les isolats de *Fusarium* spp. ($P=0,423$, $P\leq 0,05$) et selon les extraits ($P=0,500$, $P\leq 0,05$)

En modele GLM, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne n'ont pas montré variabilité selon les isolats et les huiles essentielles testées (Figure 16).Ils ont dépassé les 50% ,selon les isolats étudiés (F1, F2 et F3 :99%), même selon les huiles essentielles testés ils atteint même les 100% .

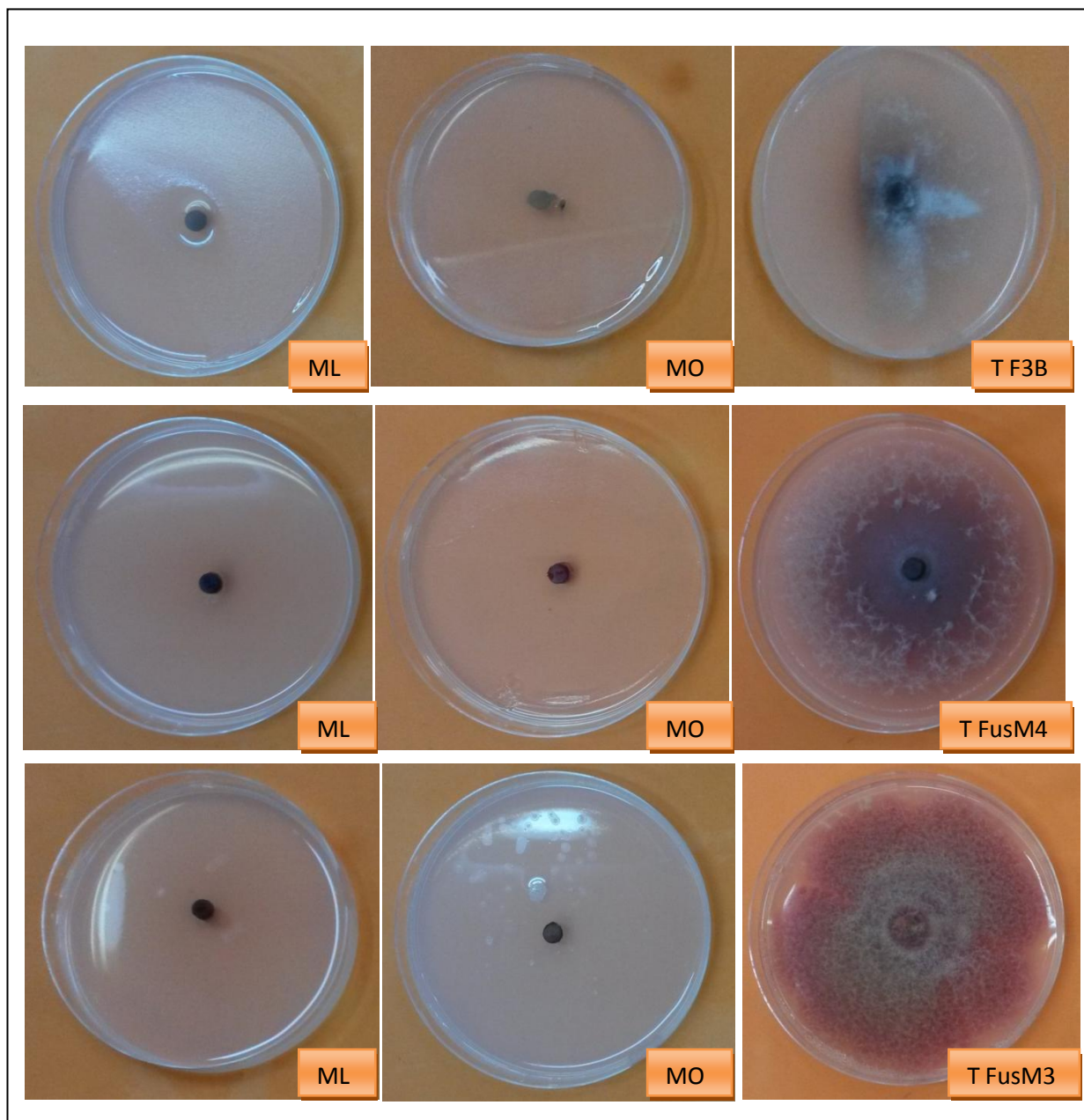


Figure 17 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Mentha pulegium* utilisées selon la méthode de micro-atmosphère sur la croissance mycélienne de *Fusarium* spp.

3.2.2.2 Inhibition de la sporulation

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence non significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,500$, $P \leq 0,05$), et selon les huiles essentielles étudiée ($P=0,184$, $P \leq 0,05$) (Annexe 6).

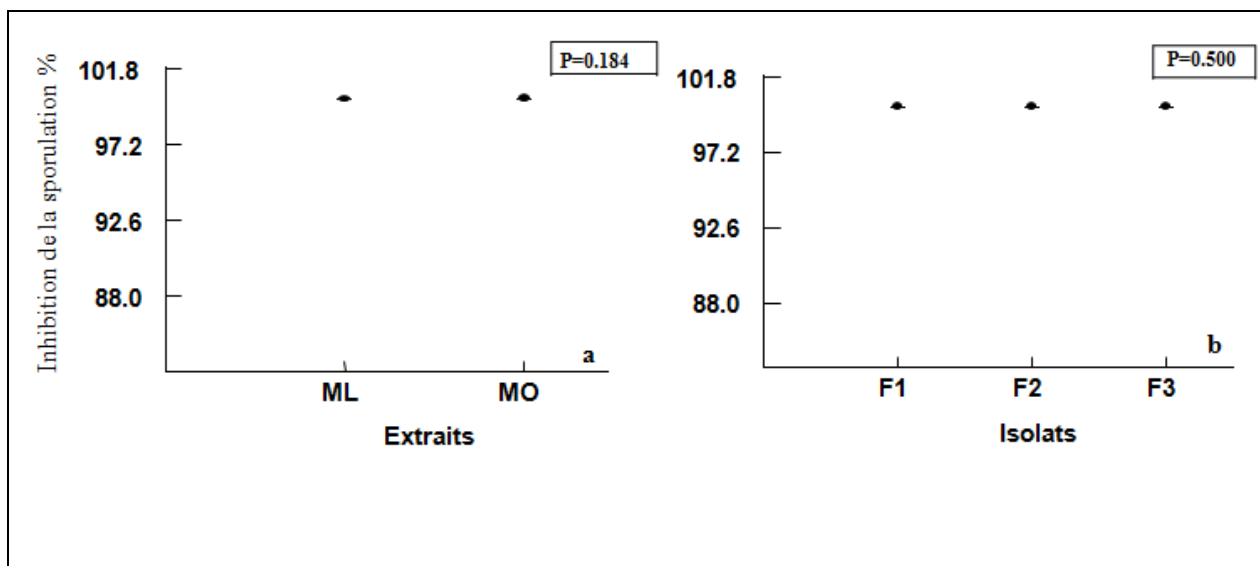


Figure 18 : Analyse de la variance de la sporulation mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les extraits de plante et selon les isolats.

F1 ,F2,F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; ML :Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ;MO :Huile essentielle de référence .

L'analyse de leur variance a montré une différence non significative selon les isolats de *Fusarium* spp. ($P=0,500$, $P\leq 0,05$) et selon les extraits ($P=0,184$, $P\leq 0,05$)

En modele GLM, les taux d'inhibition de la sporulation n'ont pas montré une variabilité selon les isolats et selon les huiles essentielles testées (Figure18).Ils atteignent même tous les 100% selon les isolats et selon les huiles essentielles .

3.2.2.3 Inhibition de la germination

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence non significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=0,500$, $P\leq 0,05$) , et selon les huiles essentielles ($P=0,184$, $P\leq 0,05$).(Annexe 7) .

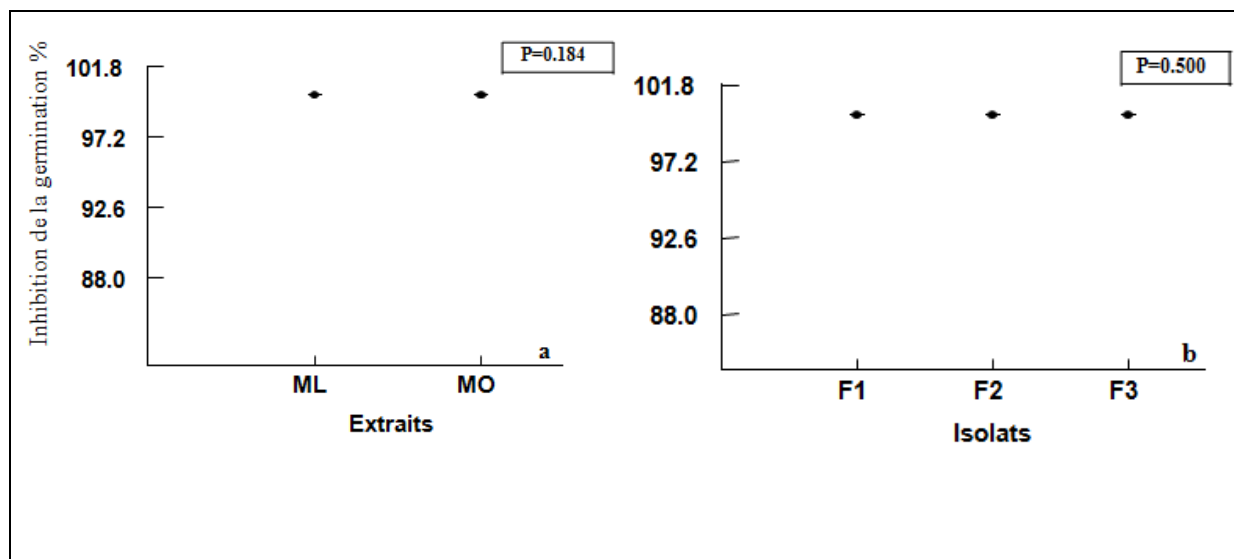


Figure 19 : Analyse de la variance de la germination des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les huiles essentielles de la plante étudiée et selon les isolats fongiques.

F1 ,F2,F3 : Isolats de *Fusarium* spp. ; ML :Huile essentielle obtenue par hydrodistillation ;MO :Huile essentielle de référence .

En modele GLM, Les taux d'inhibition de la germination n'ont pas montré une variabilité selon les isolats et selon les extraits ,les taux d'inhibition de la germination enregistrés étaient très important atteignent meme les 100% selon les isolats et selon les huiles essentielles de la plante étudiée (Figure 19)

3.2.2.4 Inhibition de croissance mycélienne de différentes dilutions

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. a montré une différence non significative selon les isolats fongiques étudiés ($P=1,000$, $P\leq 0,05$) et selon les même concentrations des huiles essentielles testées ($P=1,000$, $P\leq 0,05$).(Annexe 8).

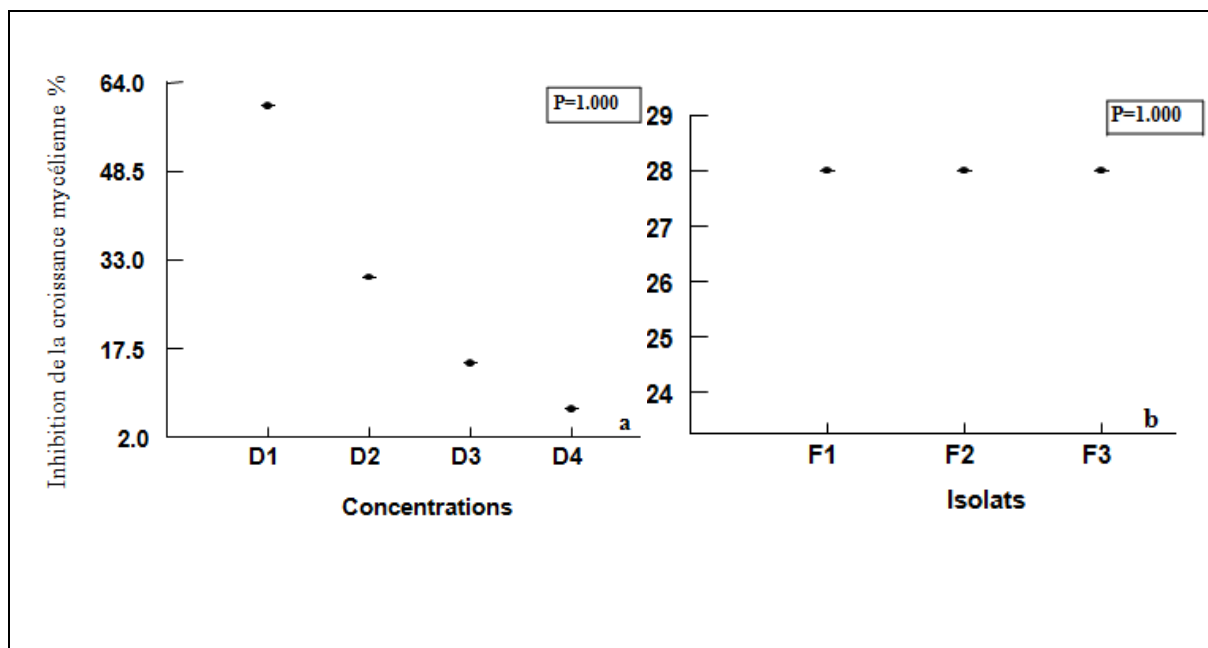


Figure 20 : Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. en modèle GLM selon les dilutions de l'huile essentielle (a) et selon les isolats(b) .

F1,F2 et F3 :Les isolats de *Fusarium* spp. ; D1,D2,D3 et D4 :les concentrations des huiles essentielles ;D1=60µl, D2=30 µl, D3=15 µl,D4=7,5 µl.

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a montré une différence non significative, selon les isolats de *Fusarium* spp. et selon les concentrations ($P=1,000$, $P\leq 0,005$). Ils n'atteignaient pas les 50% (F1, F2 et F3 :28%)

,mais , l'inhibition de la croissance mycélienne dépassait les 50% pour la concentration de l'émulsion de l'HE de 63% ,mais elle semblait plus faible pour les autres concentrations (D2 : 32%, D3 :16% ,D4 :1%)(Figure 20).

3.2.3 La survie

La reprise de croissance mycélienne des cultures de *Fusarium* spp. préalablement inhibées par l'huile essentielle de la Menthe pouliot après 1mois d'incubation, a confirmé son pouvoir antifongique fongistatique marqué par la survie des isolats après dégradation de la fraction volatile à pouvoir inhibiteur et la germination et des chlamydospores résistantes à l'effet de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

4. Effet des extraits de la plante sur la morphologie des isolats fongiques étudiés

Seul l'effet antifongique de l'huile essentielle a affecté la morphologie des isolats fongiques étudiés. Il s'est traduit par des modifications structurales telles que la lyse et la distorsion du mycélium et la réduction du nombre de conidiophores et des conidies mais, la persistance et la résistance des chlamydo-spores était remarquable. Ceci confirme leur survie après leur germination et la reprise de la croissance mycélienne après leur repiquage sur milieu PDA frais (Figure 13).

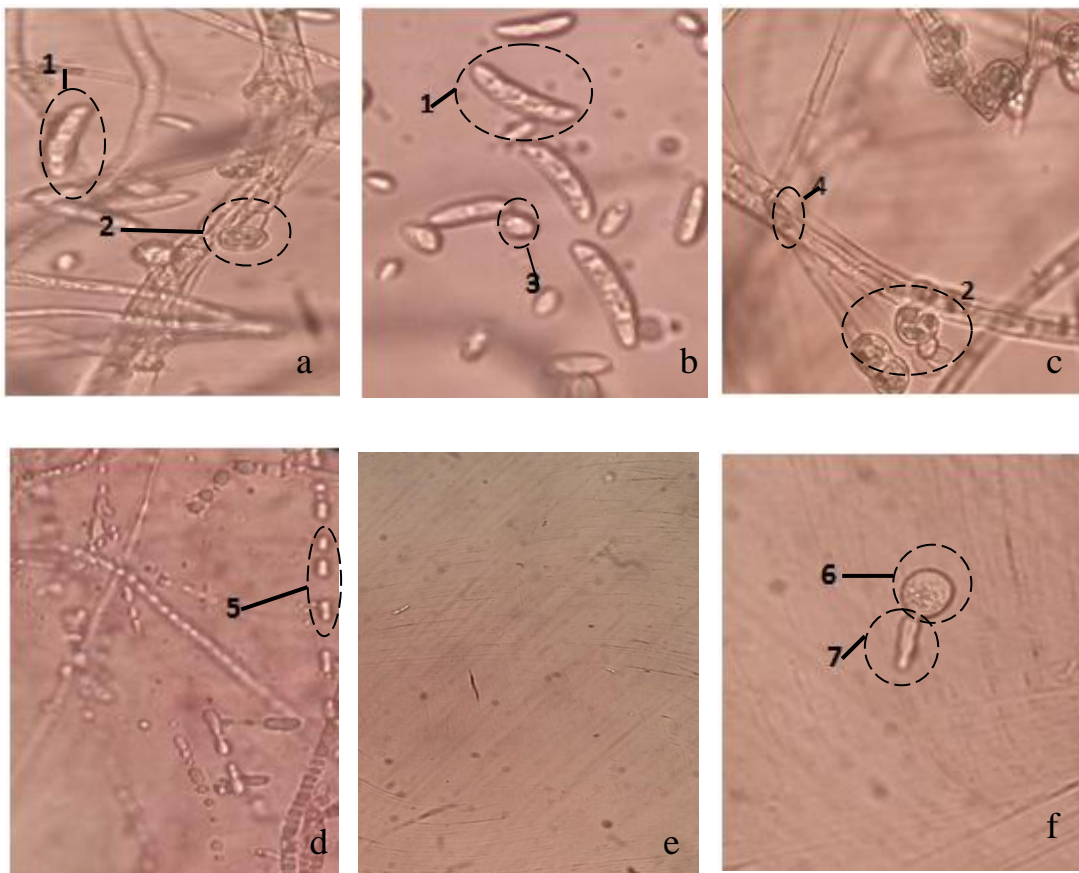


Figure 21 : Effet des extraits de *Mentha pulegium* testés sur la modification de la morphologie des isolats de *Fusarium* spp.(G×500)

a : Temoin de l'isolat FusM4 , b : Temoin de l'isolat FusM3 , c : Temoin de F3B , d :huile essentielle MO, e : Absence de structure de *Fusarium* spp. en présence d'HE ML , f : hydrolat HMD ,1 : Macroconidie , 2 : chlamydo-spore, 3 : Microconidie ,4 : Mycelium ,5 : Lyse , 6 : Chlamydo-spore , 7 : Tube germinatif

L'ensemble des huiles essentielles de la plante étudiée ont affirmé leur pouvoir antifongique *in vitro* vis-à-vis les trois isolats de *Fusarium* spp. Une variabilité de leur efficacité a été mise en évidence sur la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie *in vitro* de l'agent pathogène.

L'extraction par cleverger de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a donné un rendement de 3.48%. Ce résultat est nettement supérieur à celui reporté par Laghoutier et al.(2015) qui ont obtenus un rendement de 1,87 % , Kokkini et al. (2004) ont étudié la menthe pouliot de plusieurs régions de Grèce dont les rendements en huiles essentielles varient entre 1.0% et 3.8%. La menthe pouliot marocaine étudiée par Benayad (2008), Derwich et al. (2010) et Ait-Ouazzou et al. (2012) a révélée des teneurs en huile essentielle inférieures au résultat obtenu dans notre étude évalué à 2.33%, 1.66% et 2.7%, respectivement. Cependant Zekri et al. (2013) ont déterminé des rendements allant de 5.29% à 6.2% pour la menthe pouliot du Maroc. En Algérie, Beghidja et al. (2007) et Benabdallah (2008) ont déterminé les rendements en huile essentielle de la menthe pouliot récoltée dans plusieurs régions de Jijel ainsi que la région d'El Kala. Les valeurs obtenues étaient de 1.16 à 2.19% et 1.45%, respectivement.

Par contre le rendement de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* obtenue par extraction par Alambic est d'un rendement de 0,97% ,il n'est pas loin du rendement obtenus pour la même plante poussant en Grèce par Zwaving et Smith (1971) qui est de 0.95%.

Ces variations de teneurs en huiles essentielles de *Mentha pulegium* peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle est un produit métabolique de cellules végétales et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat, l'altitude, le taux d'exposition au soleil) le type de sol, le stade de croissance de la plante en question, le moment de la récolte et la méthode d'extraction (Besombes, 2008 ; Béjaoui et al., 2013a).

Les propriétés physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE, en ce qui concerne le résultat de l'indice de réfraction de notre HE est en accord avec les résultats obtenus par Ait Chebib et Baha (2005), et ceux répertoriés dans les normes AFNOR (2000), ce dernier est de 1,480 à 20°C .

En revanche Hila et al.(2006) ont déterminé des indices d'acide inférieurs à 1 pour des huiles essentielles extraites à partir d'un ensemble de Lamiacées , comme *M. longifolia* , *R.*

officinalis échantillonnés dans deux régions du Liban (région de Sour, le long de la cote libanaise et en région montagneuse , à 850 m d'altitude).

Ainsi, le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle testé à l'égard des trois isolats de *Fusarium* spp. a été interprété par les travaux de Burt (2004) ; Lahlou (2004) ainsi que Davicino et al. (2007) qui ont affirmé que l'activité biologique d'un extrait de plante est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels de ses composés majoritaires, à leur effet synergique et à leurs proportions. L'huile essentielle de parties aériennes de *Mentha pulegium* L. A une excellente puissance d'inhibition contre les souches fongiques testées (Amalich, 2016)

Plusieurs études ont été effectuées sur l'activité antifongique de plusieurs plantes contre des champignons du genre *Fusarium* (El-houit et al., 2011 ; Hamdani, 2015). Les résultats obtenus dans cette étude ont montré une inhibition de la croissance mycelienne qui dépend de l'extrait de la plante étudiée utilisé et de la méthode utilisée. L'huile essentielle du *Laurus nobilis* L montre une activité très important contre le *Fusarium sporotrichioides* qu'il attendre à une activité d'inhibition de 100% . Donc, en généralités les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis l' huile essentielle. Ce résultat est confirmé par de nombreuses expériences Amaral et al., (1998) qui ont montré que les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries.

Mahboubi et Haghi (2008), ont étudiés l'huile essentielle de *Mentha pulegium* ,son activité sur *Aspergillus niger* a montré un faible pouvoir antifongique. Aussi, Hajlaoui et al. (2009) ont révélé que l'huile essentielle des feuilles de cette plante n'avait pas d'effet sur les différentes espèces fongiques testées à la concentration de 1 µl/ml d'huile essentielle. Même à 100 µl/ml le taux d'inhibition demeure inférieur à 100% (74–90.6%).

Les activités antifongiques des hydrolats de cinq épices (romarin, cumin, sarriette, echinophore et basilic) ont été évalués in vitro sur des espèces de champignons phytopathogènes (*Fusarium oxysporum f.sp tulipae*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria citri*) par des chercheurs de l'Université de Selcuk en Turquie Boyraz et al. (2005). L'hydrolat de *Satureja hortensis* a montré l'activité antifongique la plus intéressante sur l'ensemble des champignons testés suivi de l'hydrolat de puis de *Cuminum cyminum*. Alors que les résultats obtenue par l'activité antifongique des hydrolats de *Mentha pulegium* sur les trois isolats de *Fusarium* spp. est très faible .

Dans une seconde étude, ces chercheurs se sont penchés plus précisément sur l'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes *Aiternaria mali* Roberts et *Botrytis cinerea* en présence de l'huile essentielle et de l'hydrolat de sarriette (Boyras et al., 2006). Étonnamment, l'hydrolat inhibait beaucoup plus fortement la prolifération comparativement à l'huile essentielle.

Il est important de signaler dans notre étude par la méthode de micro-atmosphère , la remarquable activité inhibitrice sur *Fusarium* spp. qui est noté de 100% pour les trois isolats, et on trouve aussi que L'huile essentielle du *Laurus nobilis* L montre une activité très importante contre le *Fusarium sporotrichioides* qu'il est d'une activité inhibition de 100% (Salhi et al.,2016) .

En outre ,c'est l'huile essentielle de *M. pulegium* qui s'est révélée la plus active, en effet 10 µl de son extrait ont été suffisants pour inhiber totalement la croissance mycélienne des deux moisissures d'après Hmiri et al.(2011) ,contrairement aux résultats trouvés pour notre étude dont 60 µl était suffisante pour inhibé les trois isolats de *Fusarium* spp.

Rappelons aussi que nos résultats sont très proches de nombreux travaux rapportés par la bibliographie et ayant déjà confirmé l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de Menthe pouliot sur la sporulation et la germination selon la méthode de contact direct et de microatmosphère ,de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. sont d'excellents inhibiteurs de la sporulation et de la germination de *Fusarium* spp. . Le taux d'inhibition enregistrés ont dépassé généralement les 97% et ont pu atteindre 100% .Les modifications par l'huile essentielle testée engendrées sur la morphologie des isolats fongiques étudiés peuvent être traduites par les mêmes constatation de Tripati et Dubey (2004) qui a montré également la déformation des sporanges et la lyse de leur contenu par les molécules bioactives contenues dans l'huile essentielle de la plante étudiée. Comme il a souligner que l'avantage des huiles essentielles des plantes réside dans leur bioactivité qui est une caractéristique qui les rend attrayants pour la protection des produits stockés tels que les grains de céréales contre l'attaque des champignons et même le blocage de leur écotoxigénèse .

En effet , Ouraïni et al ., (2005) remarquent que les huiles essentielles de *Thymus saturejoïdes* L., *Menthe pulegium* L. et *Rosmarinus officinalis* L ont un effet favorisant sur la production des spores de *M. gypseum* , *M. nanum* et *M. canis*.

Nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature, ils suggèrent que les huiles essentielles peuvent inhiber la germination des spores fongiques (Chutia et al., 2009., Grbic et al., 2011) et les composants de l'huile peuvent agir de manière synergique et l'association de plusieurs composés peut avoir une action stimulante sur la germination des spores fongiques (French, 1985).

Les résultats concordent avec ceux de nombreuses recherches rapportées par la bibliographie, Moleyar et Narasimham, (1986) qui ont obtenu des pourcentages d'inhibition de la germination des spores par le citral de *Mentha* de 100 % avec *Fusarium oxysporum*.

Dans ce sens les métabolismes actifs qui se produisent au cours de la germination des spores sont la respiration, la synthèse des ARN et des protéines (Chitarra, 2003). Ces mécanismes vitaux peuvent être inhibés sous l'effet des huiles essentielles (Grbic et al., 2011). Elles ont la capacité de pénétrer, de perturber la paroi cellulaire fongique et les membranes cytoplasmiques, d'endommager et de perméabiliser les membranes mitochondriales (Akthar et al., 2014).

Aussi, l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis du champignon *Fusarium sporotrichioides*, les diamètres, la vitesse et l'indice antifongique de la croissance de mycélium sont diminués à chaque fois qu'on augmente la concentration d'huile essentielle jusqu'à la non germination du disque atteinte au (0.5%) cela est confirmé par les travaux de (Gacem, 2011).

Concernant la survie de nos isolats après traitements *in vitro*, l'huile essentielle de la plante a montré un effet fongistatique. Ce résultat concorde avec de nombreux travaux. Dans ce sens, Daferera (2003) qui a confirmé que la lavande, le romarin, la sauge et pennyroyal, leurs huiles essentielles étaient également fongistatiques sur la croissance mycélienne de *B. cinerea* et *Fusarium sp.* Mais, à des concentrations plus élevées.

En effet l'activité inhibitrice la plus forte sur la croissance mycélienne a été exposée par les huiles d'origan et de menthe verte et par le carvacrol et la carvone, respectivement leurs principaux constituants. L'activité inhibitrice était manifestement fongistatique chez *A. terreus* et *F. oxysporum* (Kadoglidou et al., 2011).

Par ailleurs, la difficulté de développer une molécule antifongique est liée, d'une part à l'ultra-structure de la cellule fongique qui présente trois barrières: la paroi cellulaire chitineuse, les

ergostérols membranaires et le noyau eucaryote (Chami, 2005) et d'autre part, les molécules antifongiques elles-mêmes qui peuvent engendrer des résistances Prasad et Kapoor (2004)

L'activité antifongique d'huile essentielle, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle Giordani et *al.*, (2008).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail vise la recherche d'une solution naturelle pour une meilleure culture Hydroponique de l'orge contre la fusariose et ces mycotoxines produites aussi que la protection et la conservation des céréales dans les lieux de stockage. Dans ce contexte, notre travail porte sur le pouvoir antifongique des extraits de plantes de la partie aérienne de la Menthe pouliot récoltée en stade de floraison dans une mairie de la région de Berrouaghia (oued bentrads) wilaya de Medea. Ces extraits ont été obtenus par hydrodistillation selon deux méthodes d'extraction : hydrodistillation par cleverger et hydrodistillation par alambic . La récupération pour des hydrolats et de l'huile essentielle, Aussi ,une autre huile essentielle ayant fait objet des travaux de recherche a été retenue comme huile de comparaison de la région de Bouira, la plante récoltée extraite par hydrodistillation de même partie pour la méthode d'extraction (Moumene et *al.*,2016). L'évaluation de l'activité antifongique des extraits sur les isolats de *Fusarium* spp. a été faite selon la méthode de contact direct. Les extraits de plantes et les isolats ont été retenus pour étudier plusieurs paramètres. Pour cela une émulsion a été préparée à partir de l'huile essentielle de Menthe pouliot à une concentration de 4% (m/v) par une solution d'eau agar a 0,2 %.

A cet effet, Les deux huiles essentielles et hydrolat de la menthe pouliot ont montré une variabilité dans leur pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne des isolats (F1, F2 et F3) de *Fusarium* spp. Il était très important pour les deux huiles essentielles (huile essentielle obtenue par hydrodistillation , et celle considérée comme référence) (100%) , modéré pour l'hydrolat obtenu par hydrodistillation (40%), et faible pour l'huile essentielle extraite par alambic et son hydrolat (9%).

De même, la sporulation et la germination des isolats fongiques étudiés ont été également inhibées par les huiles essentielles. D'importants taux d'inhibition ont été enregistrés pour la sporulation (100%), et pour la germination (Huile essentielle extraite par hydrodistillation (98%), et celle de référence (97%). Une importante inhibition des deux paramètres a été enregistrée pour l'ensemble des isolats testés (99% pour F1 et F2 et 98% pour F3).

L'effet fongistatique a été révélée pour les deux hydrolats et l'huile essentielle extraite par Alambic vu la reprise de la croissance mycélienne après un mois d'incubation .

Le pouvoir antifongique était remarquable et développé pour les huiles essentielles selon la méthode de micro atmosphère . Les deux huiles essentielles extraite par hydrodistillation sur la croissance mycélienne (99%), la sporulation et la germination (100%). Cependant , une variabilité a été notée dans leur pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne ou les taux d'inhibitions ont atteints 63% pour 60µl mais, 32% pour 30 µl ,16% pour 15 µl, et 1% pour 7,5 µl.

En conclusion, l'huile essentielle de Menthe pouliot peut être préconisée pour réduire l'inoculum de *Fusarium* spp. et éviter la synthèse de leur mycotoxines. Plusieurs travaux s'orientent à la recherche ou doivent être recommandés dans le futur comme:

-L'étude du profil phyto-chimique des huiles essentielles efficaces, et l'identification du ou des composés à potentialités antifongiques sur *Fusarium* spp.

-Etude antifongique de l'huile essentielle *in vivo* de *Fusarium* spp. pour confirmer l'efficacité.

- Etude de la toxicité de l'huile essentielle de Menthe pouliot avant sa formulation .

-Recherche d'autres plants et extraits montrant une meilleur réduction et élimination des moisissures et leur mycotoxines.

-Il serait très intéressant d'étudier l'effet de cette plante et ses extraits sur la mycotoxinogène des isolats de *Fusarium* spp. étudiés

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AFNOR, 1982. Recueil des normes françaises des huiles essentielles, Association française de normalisation, Paris, 180p. AFNOR, 2000. Echantillonnage et méthodes d'analyse. Recueil de normes : les huiles essentielles, Paris, 440p.
2. Agnihotri V. K., Agarwal S. G., Dhar P. L. , Thappa, Baleshwar R. K., Kapahi B. K., Saxena R. K., Qazi G. N. ,1964. Essential oil of *Mentha pulegium* from Jammu and Kashmir. *Indian Oil Soap* , 30 (2): 41-5p.
3. Agrest,. (2016). Céréales Produits agroalimentaires commerce mondial. Agrest,120-131.
4. Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera , R. Pagán, and P. Conchello (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Research International*, 45 (1): 313-319.
5. Akthar M.S., Degaga B. and Azam T., 2014. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1):1-7.
6. Amarati F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Lotfi Aarab, El Ajjouri M., Chaouch A., 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14 (1): 141-148.
7. Aouni M., Pelen F., Soulimani R., 2013. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie* , 11(4) : 225–236.
8. APS, 2016. La production algérienne de céréales a nettement reculé en 2015-2016. Jeune Afrique, 19-20p.

9. Baba Aissa F. (2000) Encyclopedie des plantes utiles.Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. 46p.
10. Badr A. M., 2000. On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*). *Mol. Biol. Evol.*, 17 : 499–510.
11. Baik B.K. and Ulrich, S.E.,2008, Barley for food: characteristics, improvement and renewed interest . *Journal of cereal science*, 48: 233-242.
12. Baser K.H.C.,Buchbauer G. , 2010. Handbook of Essential Oils: Science, Technology,and Applications. London, New york: Taylor & Francis Group,1112p.
13. Beghidja N., Bouslimani N., Benayache F.,Benayach S.,Chalchat J.C., 2007. Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chem. Nat. Compd.*, 43 (4) : 481–483 p.
14. Belaid D., 1986. Aspects de la céréaliculture algérienne. O.d. Universitaires, Éd., Alger,207p.
15. Belair G.R., 2014. *Mentha pulegium* . Liste rouge de l'UICN sur les espèces menacées. IUCN .
16. BEN ZIANE A., etYousfi I., 2001. Plantes médicinales en Algérie. Agro-pastoralisme,Thèse de Magister .
17. Benabderrazik J.L.R., 2014. Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb. IPAMED,Paris ,136p.
18. Benbouali M., 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*. These de Magister,Université Hassiba ben bouali chlef, Algérie, 177p.

19. Benbouali M., 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*. These de Magister Chlef, Algérie,176p .
20. Benmahammed A.K. 2003. Sélection multicaractères pour améliorer le niveau de stabilité du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone semi-aride. *Revue sciences et technologies*, 19: 98-103.
21. BERNARD T. , PERINEAU F. , BRAVO R. , DELMAS M. , GASET A. ,1988. Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie. *Information chimie* ,298: 179-184.
22. Bhaskara Reddy M.V., Angers P., Gosselin A., and Arul J., 1997. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47 (8) : 1515-1520.
23. Biondi D.,Cianci P.,Geraci C.,Giuseppe R.,Piattelli M., 1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from sicilian aromatic plants. *Flavour fragrance Journal* , 8: 331–337.
24. Bonnafous C., 2013. *Traité scientifique Aromathérapie - Aromatologie & aromachologie*. France: Dangles ed,522p.
25. Botineau M., 2010. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Paris: TEC and DOC ,Lavoisier,1336p.
26. Bouchra C., Achouri M., Idrissi Hassani LM., Hmamouchi M.,. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Phytochem*, 89: 165-69.

27. Boufenar Z., Zaghouane O., Zaghouane F., 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie. Ed. ITGC, ICARDA, Alger, 154 p.
28. Boulal H., Zaghouane O., El Mourid M., et Rezgui L., 2007. Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orges) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Ed. TIGC, INRA, ICARDA, Algérie, 176 p.
29. Boumediene, K., 2016. Sebdu: Lancement d'une unité de production d'orge hydroponique. Tout sur Tlemcen, 102-111 p.
30. Boungab K., 2013. La rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) dans le Nord-Ouest Algérien : importance, morphologie et pouvoir pathogène chez *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* et recherche de moyens de lutte. Thèse de doctorat , Université d'Oran , 166 p.
31. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. et Chaouch A., 2007. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) du Maroc. *Afrique Science*, 3 (2) ; 232-242.
32. Bouzerzour H. et Benmahammed A., 1993. Environmental factors limiting barley yield in the high plateau of Eastern Algeria. *Rachis*, 12 (1) :14 – 19.
33. BOUZOUITA N., KACHOURI F., BEN HALIMA M. et CHAABOUNI M.M., 2008. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J. Soc. Chim. Tunis.*, 10: 119-125.
34. Brada M., BEZZINA M., MARLIER M., CARLIER A., LOGNAY G., 2006. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol Agron*, 11 (1): 3-7p.

35. Brahmia F., Adjaoud A., Bruno M., Porcedda S., Piras A., Falconieri D., Yalaoui-Guellal D., Elsebai M., Madani F., Khodira Chibane M., , 2016. Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* L. Huds growing in Algeria. *Elsevier* , 88: 96-105.
36. Bruneton J., 1999. Pharmacognosie : phytochimie des plantes medicinales. Techniques et documentation (éd. 3^{ème} Ed). paris: lavoisier, 632p.
37. Chemonics International, 2008. strategie nationale de developpement du secteur des plantes aromatiques et medicinales : agriculture & agrobusiness integres. Maroc: Mission USAID, 72 p.
38. Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., and Chang S., 2009. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two *Eucalyptus* species. *Bioresour. Technol.*, 100: 452-456.
39. Chitarra G.S., 2003 . Germination inhibitors of fungal spores: identification and mode of action., PhD thesis, Univ Wageningen, The Netherlands, 110p.
40. Chutia P. , Bhuyan D., Pathak M.G., Sarma T.C., Boruah P., 2009. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India . *LWT—Food Science and Technology*, 42: 777-780.
41. Costa A. and J. Fernandes, D. V., 1952. Essential oil of *Mentha pulegium*. *Not. Farm*, 18: 12–16.
42. Cramer H., 1967. Plant protection and world crop production. *Bayer Pflanzenschutz-Nachrichten*, 524p.

43. Dupont F., and Guignard J.-L., 2004. Botanique des familles de plantes. 13e édition ELSEVIER / MASSON, Paris,408p.
44. Erler F., Ulug I., and Yalcinkaya B., 2006. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*, 77 : 491-494.
45. FAO., 2012. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture. Rome, Italie: FAO.<http://www.fao.org/docrep/017/i3028f/i3028f.pdf> 28-08-2017
46. FAO.,2017.Situation alimentaire mondiale. Fao.
<http://www.fao.org/worldfoodsituation/fr/?%FA%11%04> 30-08-2017
47. FAOSTAT., 2008. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. 30-08-2017
48. Fatima Y., Benameur Q., Ben-Mahai M.H., 2017. antibacterial activity of *Mentha Pulegium* essential oil against avian isolated esbl producing bacteria and its synergistic potential with antibiotics. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9 : 35
49. Feillet P., 2000. Le grain de blé composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, 308 p.
50. French R.C., 1985. The bio-regulatory action of flavor compounds on fungal spores and other propagules. *Annual Review of Phytopatology*, 23: 173–199.
51. Gacem M.A., 2012 Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanoliques et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissures d'altération de blé tendre stocké.,Thèse de Magister, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA, 87p.

52. Gaussen H., and Leroy H. F 1982. Précis de botanique, végétaux supérieurs (éd. 2e édition), 426 p.
53. Gilberto. (2013). Culture Hydroponique : avantages et inconvénients. Culture Hydro p.
54. Gilly G., 2009. les plantes médicinales et huiles essentielles à Grasse. Paris, France : l'hermatan,414 p .
55. Gleizes J.F., 2013. Des chiffres et des céréales. L'essentiel de la filière,. Paris : Passion céréales, 39 p.
56. GNIS, 2008. Cultivons La Diversité Des Plantes Cultivées. Techniques de culture et activités pédagogiques. France, 2p.
57. GNIS, 2008. Orge. Techniques de culture et activités pédagogiques. France, 2p.
58. GNIS,SD a. 2002. Identification des variétés d'orge. ASFIS et GNIS. Paris, 56p.
59. Grbic M. L., Stupar M., Vukojević J. and Grubišić D., 2011. Inhibitory effect of essential oil from *Nepeta rtanjensis* on fungal spore germination. *Central European Journal of Biology*, 6(4): 583-586.
60. Guignard J., 1998. Abrégé botanique. 11ème édition, Masson Paris,336p.
61. Hadria, R. 2006. Adaptation et spatialisation des modèles strics pour la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi aride. Thèse de doctorat. Univ .Cadi AYYAD Samlalia- Marrakech,140p.

62. Hakimi M., 1993. L'évolution de la culture de l'orge : le calendrier climatique traditionnel et les données agro-météorologiques modernes. Proceeding of an International Symposium, Tunis, Ed. Jones M., Marthys G., Rijks D., 157 –166p.
63. Hamroun L., Mohsen H., Amri I., Romane A., Gargouri S. And Jamoussi B., 2014. Allelopathic effects of essential oils of *Pinus halepensis* Miller: chemical composition and study of their antifungal and herbicidal activities. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection* , 48 (2): 1-14.
64. Hili P., Evans CS., Veness RG. E.C., 1997. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in Applied Microbiology*, 24 : 269–275.
65. Hmiri S, Rahouti M, Habib Z, Satrani B, Ghanmi M, El Ajjouri M., 2011. Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80 : 824 - 836.
66. Hmouni A.M., 1996. Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bull.*, 26: 697-705.
67. Houmani Zahia, 2015. Les plantes aromatiques et médicinales sont une source potentielle de revenus extérieurs (chercheurs). Algérie Presse Service.
68. Inouye S., Takizawa T., Yamaguchi H., 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47: 565–573.

69. INRAA. (2006). Rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture.86p.
70. Janssen A. M, Scheffer JJ., Baerheim Svendsen A., 1987. Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976-1986 Literature Review. Aspects of the Test Methods. *Planta Med*, 53 (5): 395-398.
71. Jazet Dongmo P.M., TATSADJIEU L.N., TCHINDA SONWA E., KUATE J., AMVAM ZOLLO P.H., and MENUT C., (2009). Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 4(4) : 354-358.
72. Jeunot B., 2005. Les Fusariotoxines Sur Cereales. Thèse de Doctorat, Faculté de pharmacie,Nancy,111p.
73. Johnston J.W., 1998. Production de fourrage à partir de céréales de printemps et de mélanges céréales-pois. Fiche technique .
74. Kadoglidou K., Lagopodi A., Karamanoli, K., Vokou, D., Bardas, G.A., Menexes, G. and Constantinidou, H.I.A., 2011. Inhibitory and stimulatory effects of essential oils and individual monoterpenoids on growth and sporulation of four soil-borne fungal isolates of *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, and *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology*, 130(3) : 297-309.
75. Kalembe D . and Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.
76. Kouassi H.S., BAJI M., BROSTAU X Y., ZHIRI A., SAMB A., LEPOIVRE P. and JIJAKLI M.H., 2012. Development and application of a microplate method to evaluate the efficacy of essential oils against *Penicillium italicum* Wehmer, *Penicillium digitatum* Sacc. and

- Colletotrichum musea* (Berk. & M.A. Curtis) Arx, three postharvest fungal pathogens of fruits. *Agronomy, Society*, 6: 325-336.
77. Kuhajek J.M., Jeffers SN, Slattery M, Wedge DE., 2003. A Rapid Microbioassay for Discovery of Novel Fungicides for *Phytophthora* spp. *Phytopathology* , 93 : 46-53.
78. Lahsissene H., KAHOUADJI A., TIJANE M. , HSEINI S., 2009. Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Lejeunia* (186). Maroc.
79. Lambert Sameza M., Bedine Boat M-A., Tchameni Nguemezi S., Nguemnang Mabou L-C ., Jazet Dongmo¹ Boyom F-F., Menut C., 2014. Potential use of *Eucalyptus globules* essential oil against *Phytophthora colocasiae* the causal agent of taro leaf blight. *European Journal of Plant Pathology*, 140 (2): 243-250.
80. Lardry J-M., Haberkorn V., 2007. L'aromathérapie les huiles essentielles *Kinesither Rev.*, 61: 7-14.
81. Leclerc H., 1976. Précis de phytothérapie. Paris : Masson,363p.
82. Lequenne F., 1972. le jardin de santé. Haute Provence, France : copyright Robert Morel Edition, 455p.
83. Lis-Balchin, M., 2002. Lavender The genus *Lavandula* (éd. 1e édition). London and New york: Taylor and Francis,296p.
84. Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E.,Davies P.,Vila R.,Cañigueral S., 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J.*, 45 (2): 519–524.

85. Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarco J. B., Pizzolatti M. G., and Brighente I. M. C., 2009. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *J. Nat. Med.*, 63: 345-350.
86. Marotti M.R., 1994. Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Essential Oil Research* , 6: 57-62.
87. Martin L., Dion Y., Rioux S., , 2016. L'épidémiologie de la fusariose chez le blé et l'orge, CEROM (2),5p.
88. Maruzzella A., Jasper C. ,Nicholas A. 1960. Antibacterial activity of essential oil vapors. *Journal of American Pharmaceutical Association*, 49: 692-694.
89. Menad A., Meziani N., Bouzerzour H. et Benmahammed A., 2011. Analyse de l'interaction génotype x milieux du rendement de l'orge (*Hordeum vulgare* L.): application des modèles AMMI et la régression conjointe. *Nature et Technologie*, 5: 99 - 106.
90. Messgo-Moumene S, Li Y., Bachir K., Houmani Z., Bouznad Z. and Chemat F., 2014. Antifungal power of citrus essential oils against potato late blight causative agent. *Journal of Essential Oil Research* , 72 (2) : 169-176.
91. Millet F. (2013). Le grand guide des huiles essentielles. Espagne : Unigraf.
92. Mnayer D. F.T., 2014. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family. *PubMed* , 1 (19): 34-53.
93. Mokkahem A., 1999. Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Revue Vie et Nature*, 7 : 24 – 26.

94. Moleyar V. and Narasimham P., 1986. Antifungal activity of some essential oil components. *Food Microbiology*, 3 : 331-336.
95. Mossaddak B., 1995. Investigation du polymorphisme chimique via la caractérisation chimiotaxinomique des menthes cultivées au Maroc. Thèse de DES ès-sciences physiques, spécialité chimie organique. Rabat : Université Mohammed V, Faculté des Sciences, 197p.
96. Nakahara K., ALZOREKY S.N., YOSHIHASHI T., NGUYEN H.T.T., TRAKOONTIVAKORN G., 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (citronella grass). *Japan Agricultural Research Quarterly* , 37 (4) : 249-252.
97. Nathalie Colin L.O., 2001. Dossier pédagogique céréales. Dans *Aliments du monde* Montpellier : Agropolis-Museum, 8p.
98. Nielsen P.V. and RIOS R., 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food. Microbiol.*, 60 : 219-229.
99. Nogaret-Ehrhart A.S., 2003. *La phytothérapie Se soigner par les plantes*. Paris, France ,192p.
100. Noudin, C. and Grumbach N., 2000. *Larousse médicale*. Paris : Larousse and Bordas, 1203p.
101. oucetta S., 2012. Des pics de rendement de 60 quintaux à l'hectare ont été atteints: Prés de 90 000 quintaux de céréales engrangés à Ghardaïa. *Le Maghreb*.

102. Pandey D.N., 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens* / Fungitoxische und phytotoxische Eigenschaften des ätherischen Öis von *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 89(6) :344-349.
103. Pharmacopée européenne, 2008: Huiles essentielles. Aetherolea (01/2008 :2098).
104. Philippeau G., 1989. Comment interpréter les résultats d'une analyse de variance ? Institut technique des céréales et des fourrages (ITCF), 47p.
105. Piochon M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Quebec: université,200p.
106. Quezel P. and Santa S., 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. (Vol. 2). (CNRS, Éd.) Paris .
107. Rahal-Bouziane H. et Abdelguerfi A., 2007. Caractéristiques agronomiques et morphologiques d'orges oasiennes (*Hordeum vulgare* L.) de la région d'Adrar (Algérie). *Recherche Agronomique*, 19: 7-13.
108. Rappily F., Lemairr JM ., Cassini R., Simon M., 1971. Les principales maladies cryptogamiques des Céréales. (INRA, Éd.) France, 189p.
109. Rastoin J-L., Benabderrazik E., 2014. Algérie Une agriculture sous fortes contraintes. IPEMED,136p.
110. Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A., 1993. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J.Essent.oil res.5* : 179-184.

111. S. and Kokkini, E.H., 2002. Variations of pulegone content in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants growing wild in Greece. *J. Essent. Oil Res* , 14: 224–227.
112. Salfer G.A., Molina-Cano J.L., Savim R., Araus J.L et Romagosa I., 2002. Barley science. Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of yield and Quality, 665p.
113. Sarikurkcü C., Eryigit F., Cengiz M., Tepe B., Cakir A. And Mete E., 2012. Screening of the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Mentha pulegium* L. from Turkey. *Spectrosc. Lett. Int. J. Rapid Commun* , 45 (5): 352–358.
114. Smith, J. H., 1971. Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*. *Phytochemistry* , 10 (8) : 1951–1953.
115. Soliman K.M. and Badeaa R.I., 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol.*, 40: 1669-1675.
116. Souaidia H., 2002. Le procès de « La Sale Guerre ». Paris : La Découverte & Syros, Paris 520p.
117. Strauss E., 1985. Marché, spéculation, stabilisation. *Revue économique*, 96p .
118. Sutour, S. , 2010. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats. HAL, thèse de doctorat , Université de Corse PASCAL PAOLI, 187p.
119. Tali, K., 2015. Campagne agricole 2014-2015: Une récolte céréalière record de 115 millions de quintaux. Aujourd'hui le Maroc .

120. Taner A., Avci M. and Dusunceli F., 2004. Barley Post-harvest Operations. (P. 2. The Central Research Institute for Field Crops, Éd.) Danilo Mejía, PhD, FAO (Technical), 64p.
121. Tang, G.W., Yang, C.J. & Xie, L.D. J, 2007. Extraction of *Trigonella foenum-gracum* L. by supercritical fluid CO₂ and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Pest. Sci.*, 80: 151-157.
122. Thompson D. P., 1998). Fungitoxic Activity of Essential Oil Components on Food Storage Fungi. *Mycologia* , 81 (1), 151–153.
123. Tremblay L., 2013. Pour en savoir plus sur la Fusariose. Solution publicité, 7p .
124. Tripathi P and Dubey N.K., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology & Technology* ,32 : 235-245.
125. Tzortzakis N. G., 2006. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.*, 8: 111-116.
126. Vokou D., Kokkini S. and Bessière J-M., 198). *origanum onites* (lamiaceae) in Greece distribution, volatile oil yield, and composition. *Economic Botany*, 42: 407-412.
127. Wilson C.L., Solar J. M. , El Ghaouth A ., and Wisniewski M. E., (1997). Rapid Evaluation of Plant Extracts and Essential Oils for Antifungal Activity Against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 81 (2) : 204-210.
128. Zantar S., Haouzi R., Chabbi M., Laglaoui A., Mouhib M., Boujnah M., Bakkali M., Hassani Zerrouk M., 2015. Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Radiation Physics and chemistry*. 115 : 6–11.

Liste des annexe

Annexe .01 : La composition de la milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) (Ismaili,2014)

- Pomme de terre.....200g
- Glucose20g
- Agar- Agar.....15g
- Eau distillée1000ml
- PH5.6±0.2

Annexe 2 : Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycelienne de *Fusarium spp.*

Facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	392.410	2	5.648	196.205	0.019
METHODES	2015.926	1	2015.926	58.029	0.000
EXTRAITS	24212.792	5	4842.558	139.394	0.000

Annexe 3 : Analyse de la variance de l'inhibition de la sporulation de *Fusarium spp.*

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	10.884	2	5.442	1.361	0.424
EXTRAITS	3.998	1	3.998	1.000	0.423

Annexe 4 : Analyse de la variance de l'inhibition de la germination de *Fusarium* spp.

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	188.433	2	94.216	21.138	0.045
EXTRAITS	4.457	1	4.457	1.000	0.423

Annexe 5 : Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycelienne de *Fusarium* spp.

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	0.000	2	0.000	1.000	0.500
EXTRAITS	0.000	1	0.000	1.000	0.423

Annexe 6 : Analyse de la variance de l'inhibition de la sporulation de *Fusarium* spp.

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	0.000	2	0.000	1.000	0.500
EXTRAITS	0.000	1	0.000	4.000	0.184

Annexe 7 : Analyse de la variance de l'inhibition de la germination de la croissance mycelienne de *Fusarium* spp.

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	0.000	2	0.000	1.000	0.500
EXTRAITS	0.000	1	0.000	4.000	0.184

Annexe 8 :Analyse de la variance de l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* spp.

facteur	Somme des carrés	ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
ISOLATS	0.0	2	0.0	-0.109	1.000
EXTRAITS	4914.000	3	1638.000	-3.00240	1.000