



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KADDOUR Imane

NEZROUK Malika

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des Plantes

THÈME

Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Eucalyptus* sp. et *Laurus* sp. sur le champignon *Fusarium* sp.

DEVANT LE JURY

Présidente	M ^{me} SAIAH F.	M.C.B	Université de Mostaganem
Examinatrice	M ^{me} BERGHEUL S.	M.C.B	Université de Mostaganem
Encadreur	M ^{me} BADAOUI M.I	M.C.B	Université de Mostaganem

Remerciements

En premier lieu et avant tout, merci à DIEU tout puissant ALLAH de nous avoir donné le courage, la patience et la force pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur **M^{me} BADAOUI M.I.**, maitre de conférence à l'université de Mostaganem, d'avoir proposé et dirigé ce travail; on la remercie infiniment pour ses orientations, ses conseils et son aide tout au long de ce travail.

Nous remercions sincèrement les membres du jury : **M^{me} M^{me} SAIAH F.**, maitre de conférence à l'université de Mostaganem, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury : **BERGHEUL S.**, maitre de conférence à l'université de Mostaganem, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire.

Un énorme merci aux personnes qui ont participé à réaliser ce travail, particulièrement au personnel des laboratoires pédagogiques de protection des cultures, de phytopathologie et de biochimie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis, pour leur accueil et leur sympathie.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à nos familles et surtout nos parents pour leurs soutien moral, leurs encouragement et leurs patience durant les étapes difficiles de ce travail.

Dédicace

Au terme de ce modeste travail, je le dédie :

En premier lieu, à mes très chers parents qui m'accompagnent par

**Leurs prière que Dieu me les garde, (Aucune dédicace ne peut
Exprimer ma profonde reconnaissance et mon grand amour pour
eux).**

A mes frères : Abd El-kahar , Laide-,

. A mes sœurs :Samia et Kaltoim .

La femmes de mes frères :Hanane .

Ma petite nièce :Mereime ,Salsabile

A mes tantes et mes oncles et tout la famille .

A mon binôme Imane

**A tous ceux qui m'aidé à atteindre cette réalisation soit professeurs
même les amies : Imane , Halima , Aziza , Manal, Amina , A tous
ceux que j'aime.**



Malika

Dédicace

Avant tout, je dois rendre grâce à dieu de m'avoir donné le courage de terminer ce travail.

je dédie ce travail :

A Ma mère qui m'a donné la vie et cette éducation que j'avais tant besoin qui est toujours présent pour moi. Mon père qui m'a tout donné, qui s'est battu pour que je puisse étudies dans très bonne condition.

A ma chère grande mère qui m'ont toujours soutenu par leur encouragement et leur conseil

A mon grand père qui est toujours vivant dans mon cœur

A tous mes très chers frères :Mohamed , Ayoub

A ma très chère sœur : Nesrine

A tous mes oncles, mes tantes , toutes les familles «Kaddour» ,«Saim»

A mon Binôme «Malika » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail

A mes amies proches “ Manal , Aziza ,Amina ”

Ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion.



IMANE

Résumé

Cette étude consiste à évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles (HEs) de deux plantes aromatiques *Eucalyptus* sp. et *Laurus* sp. sur le champignon *Fusarium* sp.. Cette activité a été évaluée par la méthode de contact direct sur le milieu PDA.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par l'entraînement à la vapeur des feuilles fraîches des deux plantes provenant de la région de Mostaganem.

L'analyse des résultats de l'étude du pouvoir antifongique montrent que les HEs de l'*Eucalyptus* sp. (HE1) et du *Laurus* sp. (HE2) ont réussi à inhiber moyennement la croissance mycélienne de *Fusarium* sp.. En effet, les taux d'inhibitions varient entre 41,55% et 70,76% pour toutes les huiles testées (HE1, HE2 et (HE1+ HE2)) aux deux fortes concentrations (D1=0.1% et D2=0,05). La synergie des HEs de l'eucalyptus et du laurier a montré une légère différence d'inhibition de la croissance mycélienne avec celle obtenue suite à l'utilisation de ces huiles de manière individuelle.

Mots clés : Pouvoir antifongique, huiles essentielles, *Eucalyptus* sp., *Laurus* sp., croissance mycélienne, *Fusarium* sp..

Abstract

. This study consists of evaluating the antifungal activity of essential oils (HEs) of two aromatic plants *Eucalyptus* sp. and *Laurus* sp. on the fungus *Fusarium* sp.. This activity was evaluated by the method of direct contact on the PDA medium.

The extraction of essential oils was carried out by steam entrainment of the leaves fresh from two plants from the Mostaganem region.

Analysis of the results of the study of antifungal potency show that the HEs of *Eucalyptus* sp. (HE1) and *Laurus* sp. (HE2) succeeded in moderately inhibiting mycelial growth of *Fusarium* sp .. In fact, the inhibition rates vary between 41.55% and 70.76% for all oils tested (HE1, HE2 and (HE1 + HE2)) to both strong concentrations (D1 = 0.1% and D2 = 0.05).

The synergy of HEs of *Eucalyptus* sp. and *Laurus* sp. has showed a slight difference in inhibition of mycelial growth with that obtained following the use of these oils on an individual basis.

Key words: Antifungal activity, essential oils, *Eucalyptus* sp., *Laurus* sp., Mycelial growth, *Fusarium* sp ..

ملخص

هذه الدراسة تمكننا من تقييم النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنبتين عطريين *Eucalyptus sp.* و *Laurus sp.* على فطر *Fusarium sp.* هذا النشاط تم تقييمه من خلال طريقة الاتصال المباشر على وسط PDA تم استخلاص الزيوت العطرية لاوراق الطازجة لنباتيين من منطقة مستغانم عن طريق تقطير البخار اظهر تحليل نتائج دراسة الفاعلية المضادة للفطريات ان كلا من *Eucalyptus sp.* (HE1) و *Laurus sp.* (HE2) قادرين على تثبيط نمو الفطري *Fusarium sp.* بشكل معتدل ; في الواقع تتراوح معدلات التثبيط بين 41,55% و 70,76% لجميع الزيوت المختبرة (HE1 و (HE1+HE2) و HE2 بتركيزين عاليين (D1=0,1% و (D2=0,05%) اظهر التآزر ل HEs ل *Eucalyptus* و *Laurus*. اختلافا طفيفا في تثبيط نمو الفطريات مع تلك التي تم الحصول عليها بعد استخدام هذه الزيوت بشكل فردي

الكلمات المفتاحية : القوة المضادة للفطريات , الزيوت الأساسية , *Eucalyptus sp.* , *Laurus sp.* , النمو الفطري *Fusarium sp*

Table de matière

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des Figures	
Liste des planches	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre I : les plantes aromatiques étudiées

1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae.....	2
1.1 <i>Eucalyptus</i> sp.....	2
1.1.1 Description	2
1.1.2 position systématique	4
1.1.3 Répartition géographique	4
1.1.4 Composition chimique	4
1.1.5 utilisation.....	4
2. Préparation botanique et géographique de la famille Lauracées	5
2.1 <i>Laurus</i> sp	5
2.2.1 Description	5
2.2.2 Position systématique.....	6
2.2.3 Répartition géographiques et habitat	7
2.2.4 Composition chimique	7
2.2.5 utilisation.....	7

Chapitre II : huiles essentielles

1. Généralités sur les huiles essentielles	8
1.1 Définition	8
1.2 Origine et localisation des HEs.....	8
1.3 Rôle.....	8
1.4 Propriétés Physique et chimique	9
2. Classification des huiles essentielles	9
2.1 Trapénoïdes	9
2.2 Composés aromatiques.....	10
3. Activité biologique des huiles essentielles.....	10
3.1 Activité antioxydant.....	11
3.2 Activité antibactérienne.....	11
3.3. Activité antifongique.....	11

4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	12
. 4.1 Extraction par solvants.....	12
4.2 Extraction par expression à froid des huiles essentielles.....	12
4.3 Entraînement à la vapeur d'eau	12
4.4 Hydro distillation	12
4.5 Extraction par le CO2 supercritique.....	13
4.6 L'extraction par micro-ondes.....	14

Chapitre III. *Fusarium sp.*

1. Généralité sur le genre <i>Fusarium sp</i>	15
2. Position systématique	15
3. Les caractères morphologiques	15
4. Pouvoir pathogène	16

Partie expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes.....	17
1.1 Matériel biologique	17
1.1.1 Matériel végétal.....	17
1.1.2 Matériel fongique	18
1.2 Mode opératoire de l'extraction	18
1.2.1 Calcul de rendement.....	20
1.3 Préparation des milieux de cultures.....	20
1.4 Essais de l'activité antifongique	20
1.4.1 Evaluation de la croissance mycélienne.....	22
1.4.2 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%)	22
1.4.3 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM)	23

Chapitre II. Résultats et discussion

1. Résultats et discussion.....	24
1.1 Détermination du Rendement.....	24
2. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de vis-à-vis de <i>Fusarium sp.</i>	25
2.1 Effet de l'HE de <i>Eucalyptus sp</i> .vis-à-vis de <i>Fusarium sp</i>	25
2.2 Effet de l'HE de <i>Laurus sp</i> .vis-à-vis de <i>Fusarium sp</i>	27
2.3 Effet de l'HE de <i>Laurus sp</i> . et <i>Eucalyptus sp</i> . vis-à-vis de <i>Fusarium sp</i>	29
3. Comparaison de l'effet des HEs de l' <i>Eucalyptus sp.</i> (HE1), de <i>Laurus sp.</i> (HE2) et du mélange (HE1+ HE2) sur l'isolat de <i>Fusarium sp</i>	30
Conclusion.....	33
Références Bibliographiques.....	34

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Répartition géographique des <i>Myrtaceae</i> dans le monde.....	2
Figure 02 : Arbre d' <i>Eucalyptus</i> sp. à Debdaba.....	3
Figure 03 : Aspect morphologique de l'eucalyptus	3
Figure 04 : Distribution des Lauracées à travers le monde.....	5
Figure 05 : Arbre de <i>Laurus</i> sp. à Mazagran.....	5
Figure 06 : Aspect morphologique de <i>Laurus</i> sp.....	6
Figure 07 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	11
Figure 08 : Mode d'action antifongique des huiles essentielles.....	11
Figure 09 : Dispositif de l'expression à froid.....	12
Figure 10 : Dispositif Hydro distillation.....	13
Figure 11 : Extraction par CO ₂ supercritique.....	14
Figure 12 : Montage d'extraction par micro-ondes.....	14
Figure13 : Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i> sp	16
Figure 14 : Stations de la récolte des échantillons à Mostaganem.	17
Figure 15 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Fusarium</i> sp.....	18
Figure 16 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau,.....	18
Figure 17 : Huiles essentielles extraites, A: HE de <i>Laurus</i> sp. et B: HE de <i>Eucalyptus</i> sp....	24
Figure 18 : Histogramme comparatif des rendements des HEs de deux plantes aromatiques <i>Eucalyptus</i> sp. et <i>Laurus</i> sp.	24
Figure 19 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus</i> sp. (HE1) sur l'isolat de <i>Fusarium</i> sp.....	25
Figure 20 : Effet de l'HE de l' <i>Eucalyptus</i> sp. sur la croissance de <i>Fusarium</i> sp	25
Figure 21 : Taux d'inhibition de la croissance de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet de l'HE de <i>Eucalyptus</i> sp	26

Figure 22: Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet de l'huile essentielle de <i>Eucalyptus</i> sp.....	26
Figure 23: Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Laurus</i> sp. (HE2) sur l'isolat de <i>Fusarium</i> sp.....	27
Figure 24 : Effet de l'HE de <i>Laurus</i> sp. sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp.....	27
Figure 25: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet de l'HE de <i>Laurus</i> sp.....	28
Figure 26: Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet de l'HE de <i>Laurus</i> sp.....	28
Figure 27: Effet synergique des différentes concentrations des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp. (HE1 +HE2) sur le champignon <i>Fusarium</i> sp.....	29
Figure 28 : Effet synergique des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp. (HE1 +HE2) sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp.....	29
Figure 29 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet du mélange des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp. (HE1 +HE2).....	30
Figure 30 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet du mélange des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp. (HE1 +HE2).....	30
Figure 31: Histogramme comparatif des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp.....	31
Figure 32: Histogramme comparatif de la vitesse de croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet des HEs de <i>Eucalyptus</i> sp. et de <i>Laurus</i> sp.....	32

Liste des planches

- Planche 1:** Le protocole de l'extraction des huiles par L'entraînement à la vapeur d'eau.....19
- Planche 2 :** Dispositif expérimental de la technique de repiquage utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Eucalyptus* sp. et de *Laurus* sp.....20
- Planche 3 :** Protocole expérimental de l'activité antifongique des HEs de l'*Eucalyptus* sp. et de *Laurus* sp. sur le champignon *Fusarium* sp.....21

Introduction

L'Algérie, dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition ancienne d'utilisation traditionnelle des plantes. La recherche de molécules bioactives d'origine naturelle constitue un des axes prioritaires de l'industrie pharmaceutique algérienne mais également des médecins et des chimistes qui cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle (Djahra, 2014).

Les huiles essentielles des plantes des familles des Myrtacées et des Lauracées, ont suscité beaucoup d'intérêt scientifique dû au fait qu'elles présentent une source d'antifongique naturels et de molécules biologiquement actives.

Les *Fusarium* sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs, causant des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées (Battache ,1996).

La plupart des huiles essentielles sont antiseptiques, antiviral, anti infectieuse et anti fongique. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, on s'est intéressé à deux plantes aromatiques L'*Eucalyptus* sp. (Myrtacées) et le *Laurus* sp. (Lauracées) afin de vérifier la possibilité d'utiliser leurs huiles essentielles comme bio-pesticide et cela par l'étude de leur pouvoir antifongique sur *Fusarium* sp..

Pour la réalisation du présent travail, une mise en œuvre d'une revue bibliographique concernant la morphologie et la taxonomie des plantes utilisées et du champignon a été faite. Cette revue traite également des généralités sur l'importance et l'utilisation des huiles essentielles.

En deuxième temps, le matériel et la méthodologie retenue pour l'étude ont été exposés et suivie par le regroupement des résultats et des discussions puis une conclusion générale qui renferme des perspectives a clôturée la cette étude.

Partie

Bibliographique

Chapitre I
Les plantes aromatiques
étudiées

1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae

Les Myrtaceae ou Myrtacées sont des arbres et des arbustes souvent producteurs d'huiles aromatiques. Elles sont représentées par 134 genres, réparties dans des zones tempérées, sub-tropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles du Pacifique (fig. 01) (Bruneton, 1999). Dans cette famille des plantes dicotylédones, le genre principal est *Eucalyptus* (Martin, 2013).

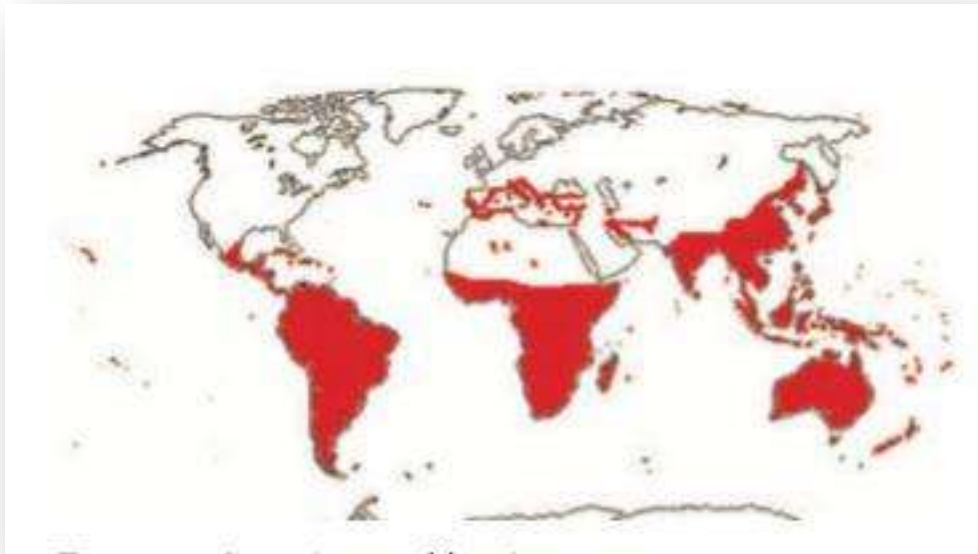


Figure 01 : Répartition géographique des Myrtaceae dans le monde (Géraldine, 2013).

1.1 *Eucalyptus* sp.

1.1.1 Description

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis qui a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calyptos » qui signifie « couvert ». Le genre *Eucalyptus* comprend 7 sous-genres et environ 700 espèces. Leur nombre précis évolue au fil des études taxonomiques (FAO, 1982).

L'eucalyptus est un arbre (fig 02) aromatique et médicinal qui mesure entre 25 et 35 m. Dans des conditions favorables, il peut atteindre une hauteur plus importante. Son bois est rouge et son tronc est recouvert d'une écorce lisse et grise, ses feuilles sont plates et brillantes, en forme de faucille (fig 03). Au printemps ses fleurs apparaissent blanchâtres (Jammot, 2015).



Figure 02 : Arbre d'*Eucalyptus* sp. à Debdaba (Originale, 2021).

Cette plante est introduite en Algérie en 1854, elle s'étend dans des régions les plus sèches (quasi désertiques) jusqu'aux cotes humides (Beloued, 2005). Elle est apte à résister au froid et à croître sur des sols secs, siliceux calcaires, humides ou argileux, salés ou non, près ou loin de la mer (Merrouche et *al.*, 2016)



Figure 03: Aspect morphologique de l'eucalyptus (Castellana ,2012)

1.1.2 Position systématique

Selon Croquist (1981), la systématique de *Eucalyptus* sp. est la suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida / Dicotylédones

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus* sp.

1.1.3 Répartition géographique

L'eucalyptus est originaire d'Australie, de l'île de Tasmanie et de l'Indonésie. Il a été successivement introduit dans différentes parties du monde, notamment Californie, Brésil, Afrique du nord, Portugal et Afrique du Sud. Il a été introduit en 1857 en Algérie pour drainer les terrains de régions touchées par la malaria (Treiner, 2000).

1.1.4 Composition chimique

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles des feuilles et des fruits de l'eucalyptus, plus de 30 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le 1,8 cineole, camphène, α -pinene, globulol, β -pinene, p-cymene, myrcene, γ -terpinene, α -terpineol et le limonène (Pereira et al., 2004). Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit; dont les monoterpènes (50,4%), les sesquiterpènes (49,6%). Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrene (25,1%), suivi de phellandrene (17,2%), 1,8-cineole (11,7%), ledene (5,83%) et du globulol (5,23%) (Pereira et al., 2004). 47 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles des feuilles: le 1, 8-eucalyptol (72,71 %), α -pinene (9,22 %), α -terpineol (2,54%), (-)-globulol (2,77%), α terpineol acétate (3,11%), et d'alloaromadendrene (2,47 %) (Pereira et al., 2004).

1.1.5 Utilisation

Traditionnellement, l'eucalyptus est un anti infectieux et antiseptique des voies respiratoire. Il est utilisé dans le traitement de l'infection aigue et chronique des voies respiratoire supérieures ou inférieures, il est également conseillé pour le traitement de la toux, de bronchites, des gripes et des affections pulmonaires, ce qui rend cette plante efficace pour soigner les rhumes et les maux de gorge (Paul, 2007). Selon le même auteur, l'huile essentielle diluée soulage les rhumatismes, les douleurs aigues, les raideurs, les névralgies et les infections cutanées d'origine bactérienne.

2. Présentation botanique et géographique de la famille des Lauracées

La famille des Lauracées ou Lauraceae est une famille de plantes angiospermes comprenant de 2500 à 3000 espèces distribuées de par le monde. Celles-ci sont réparties en 54 genres dans les zones tropicales et subtropicales comme indiqué sur la (Fig04). Cette famille est très fréquente sur le continent américain ou asiatique, en Australie, en Afrique et à Madagascar (Richter et Werff, 1996). Dans cette famille, on peut citer le genre *Laurus*.

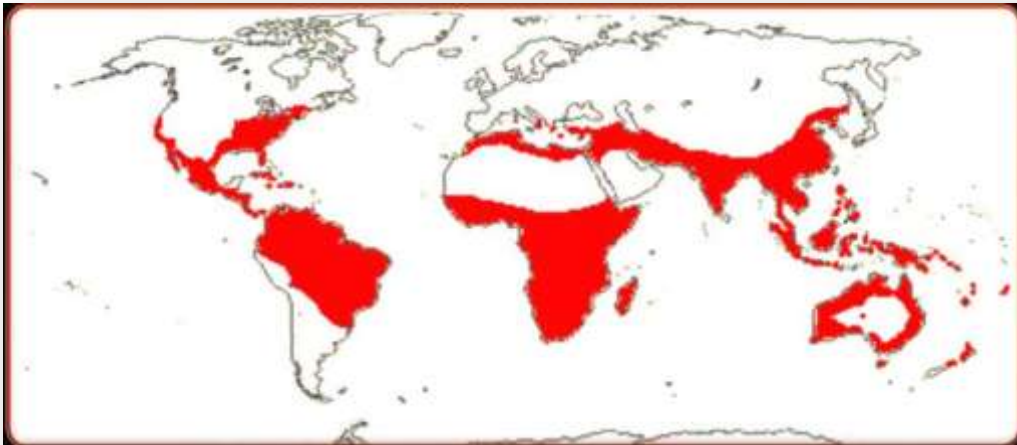


Figure 04 : Distribution des Lauracées à travers le monde (Steven, 2001).

2.1. *Laurus sp.*

2.2.1 Description

Le laurier membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000 à 2500 espèces (Barla et *al.*, 2007). *Laurus*, nom latin, qui veut dire « toujours vert » allusion au feuillage persistant de la plante (Pariente, 2001).



Figure 05 : Arbre de *Laurus sp.* à Mazagran (Originale, 2021).

Arbre de 2 à 10 m (fig 05), aromatique glabre, très rameuse à rameaux dressés, feuilles alternes, coriaces persistantes, elliptiques, lancéolées, longues de 16 cm sur 8 cm de large, atténuées en court pétiole, entières, ondulées aux bords (fig 06).



Figure 06 : Aspect morphologique de *Laurus* sp. (Beloued, 2005).

Fleurs dioïques blanchâtres, odorantes, en petites Ombelles axillaires pédonculées et involuquées (Beloued, 2005).

Le fruit est une petite Baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (Yakhlef, 2010). Cultivé dans les jardins comme ornement et pour ses feuilles condimentaires. C'est un Arbre dioïque.

Les jeunes rameaux, flexibles et de couleur vert, portent des feuilles Alternes, coriaces, ovales lancéolées à bord ondulé (Maurice, 2014).

2.2.2 Position systématique

La position systématique est comme suit (Quezel et Santa, 1962).

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida / Dicotylédones

Ordre : Laurales

Famille : Lauraceae

Genre : *Laurus*

Espèce : *Laurus* sp.

2.2.3 Répartition géographique et habitat

Le laurier est principalement tropical, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier dans la (Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France). Il est aussi largement cultivé dans les pays arabes de la Libye au Maroc. Actuellement cette espèce, sauvage ou cultivée, est présent dans le sud et l'ouest de l'Europe, et aux Etats-Unis comme plante ornementale (Ivan, 2001 ; Emam, 2010).

Cette plante est répartie dans toutes les régions humides. Elle se développe sur les bords des cours d'eau. Elle s'accommode sur tous les types des sols (Messaoudi, 2008).

2.2.4 Composition chimique

La composition en huile essentielle du Laurier est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des oxydes terpéniques, des monoterpénol, des phénols des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (Flamini et *al.*, 2007).

Oxydes terpéniques: 1,8-cinéole (calébtol) (48.38%).

Monoterpénols: linalol (3.50%), terpinén-4-ol (2.84%), alpha-terpinéol (2.46%)

Phénols: méthyl-eugénol (2.22%), eugénol (0.08%).

Monoterpènes: sabinène (9.46%), bêta-pinène (4.99%), alpha-pinène (5.77%), limonène (4.10%), para-cymène (2.38%), gamma-ter pinène (2.12%), Mycène (0.64%), camphène (0.32%), alpha-phellandrène (0.24%), alpha-ter pinène (0.28%).

Esters terpéniques : acétate d'alpha-terpényle (8.52%), acétate de bornyle(0.16%).

2.2.5 Utilisation

Les Feuilles de *Laurus* sp. est principalement utilisées, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement (Messaoudi, 2008). Épigastrique, lenteur de la digestion, éructations (Iserin, 2001). Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (Aqili Khorasani ,1992).

Chapitre II:

Les huiles Essentielles

1. Généralités sur les huiles essentielles

1.1 Définition

L'utilisation des huiles essentielles (HEs) remonte aux plus anciennes civilisations. L'huile essentielle, essence ou également appelé huile volatile, est l'ensemble d'extraits volatils de composition complexe obtenu des plantes aromatiques.

L'Association Française de Normalisation (Afnor, 2000), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

1.2 Origine et localisation des HEs

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (Narishetty et Panchagnula, 2004).

Les essences sont synthétisées par les végétaux supérieurs, il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles dont les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae et les Lauraceae. Ces espèces sont caractérisées par la présence d'organes spécifiques responsables de la synthèse et de stockage des huiles essentielles : les poches (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécréteurs, les poils sécréteurs (Lamiaceae) et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae) (Bruneton, 1999). L'accumulation des HEs peut être dans toutes les parties de la plante : sommités fleuries (lavande), écorces (cannelier), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis).

1.3 Rôle

Les plantes utilisent les HEs pour se protéger contre les virus (Willem. 2013). Des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8- cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (Holly.1999).

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et *al.*, 2003). Il y a beaucoup de spéculations au sujet du « rôle » d'huiles essentielles des plantes.

Certainement plusieurs effets apparents « utiles » ont été décrits: protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme conservateur de l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979). Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (Capo et *al.*, 1990).

1.4 Propriétés physiques et chimiques

Les HEs sont des liquides à la température ordinaire, volatiles, odorants. Généralement incolores ou jaune pâle. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 et leur indice de réfraction souvent élevé avec un pouvoir rotatoire. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et solvant organique (Bruneton, 1999).

Selon le même auteur, les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composés différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques : Les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthétisés essentiellement à partir de l'acide shikimique.

2. Classification des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables des constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques (Bruneton, 1999)

- Terpénoïdes
- Composés aromatiques

2.1 Terpénoïdes

Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes (qui sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est « $(C_5H_X)_n$ » avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (Malechy, 2008) .

2.2 Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment d'allyl ou propénylphébols, et ou aldéhydes. La biosynthèse par voie phenylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique (Bruneton, 1999).

3. Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005). L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

3.1 Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif. Il existe trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques (Beirao et Bernardo-Gil, 2006).

Les substances naturelles dont les huiles essentielles sont classées entant qu'antioxydants non enzymatiques. Quelques travaux ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques (Hussain et *al.*, 2010).

Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (Hussain, 2009).

3.2 Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et *al.*, 2002). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (fig 07) (Carson *et al.*, 2002).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides (Cox *et al.*, 1991).

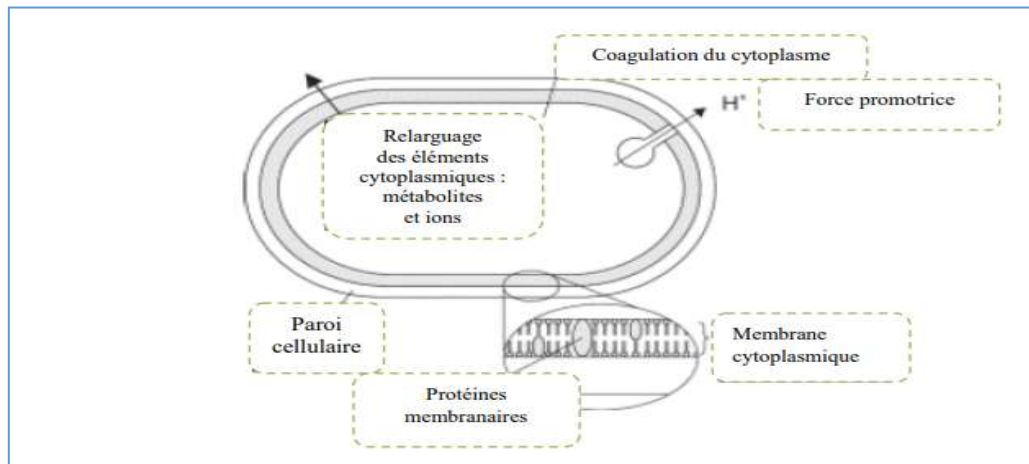


Figure 07: Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

3.3 Activité antifongique

Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure en inhibant la croissance et la germination des spores, l'élongation du mycélium et la production de toxines. Le pouvoir inhibiteur est essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire (Kurita *et al.*, 1979).

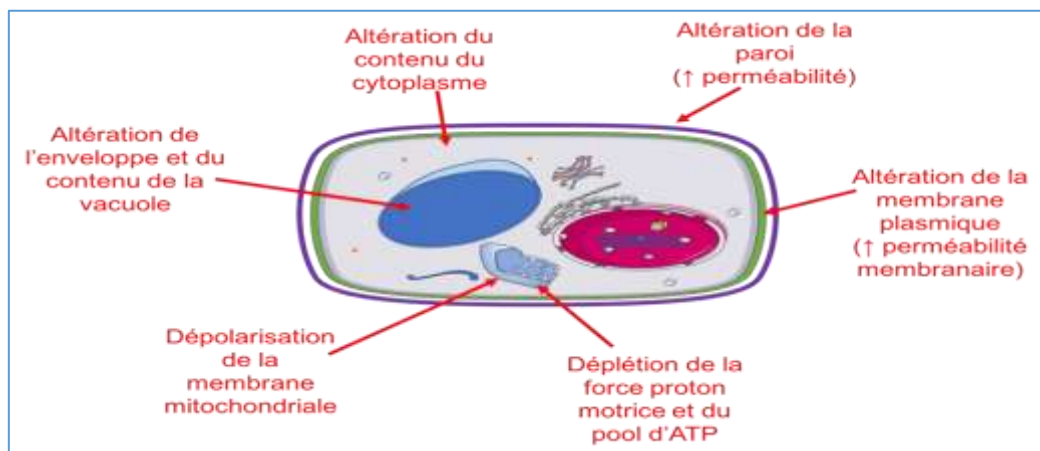


Figure 08: Mode d'action antifongique des huiles essentielles (Anonyme, 2018)

4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Raynaud, 2006). Les principales méthodes d'extraction sont :

4.1 Extraction par solvants

C'est une technique qui utilise des solvants comme l'hexane, le toluène ou les dérivés colorés pour extraire l'huile essentielle. Le solvant est ensuite éliminé par distillation. Cette technique ne doit pas être employée si l'huile essentielle préparée est à usage thérapeutique, car il pourrait y rester des traces de solvant. C'est une technique utilisée dans l'industrie des parfums (Beyould Si Said, 2014).

4.2 Extraction par expression à froid des huiles essentielles

L'extraction par expression à froid est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes (fig 09). Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences puis récupérer l'huile essentielle. Cette dernière 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).

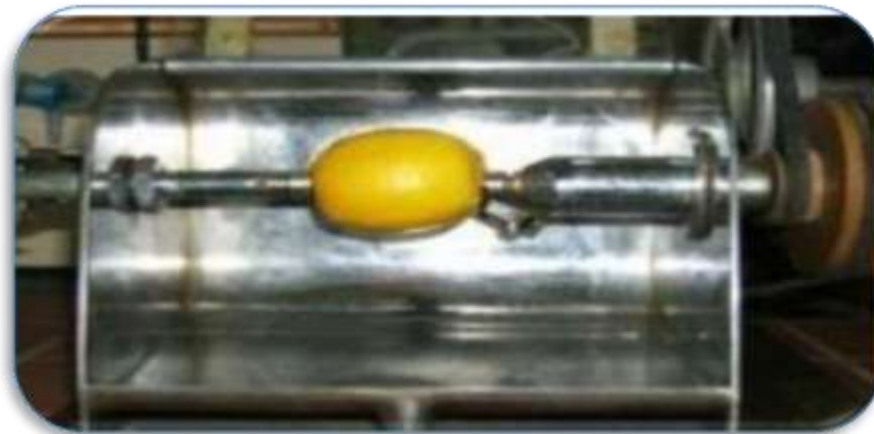


Figure 09: Dispositif de l'expression à froid (Chenni, 2016).

4.3 Entraînement à la vapeur d'eau

Est une variante plus récente de distillation, dans laquelle il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau (fig11). La vapeur d'eau est produite dans une chaudière séparée, puis injectée à la base de l'alambic dans lequel se trouve la plante. La vapeur remonte dans l'alambic et traverse la plante. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale (Lucchesi, 2005).

4.4 Hydro distillation

L'hydro distillation est l'un des procédés les plus simples et le plus anciens. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. Le procédé consiste à immerger le matériel végétal dans un bain d'eau, le mélange hétérogène est bouilli, et l'huile essentielle est volatilisée puis condensée (fig10). Etant donné que ses principaux composés volatils sont insolubles dans l'eau, l'HE peut être séparé par décantation après refroidissement dans un séparateur de phases. C'est une méthode simple et ne nécessite pas un appareillage coûteux (Penchev, 2010).

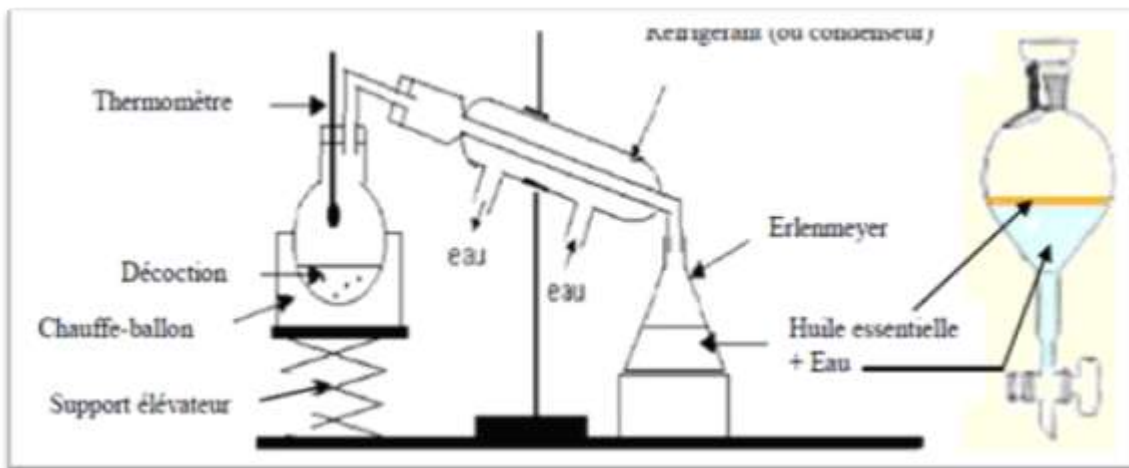


Figure 10 : Dispositif Hydro distillation (Penchev, 2010)

4.5 Extraction par le CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid, des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique sous pression et à température supérieure à 35°C, le dioxyde de carbone est employé principalement comme un fluide supercritique parce que c'est un solvant sain, non combustible, peu coûteux, inodore, sans couleur, insipide, non-toxique, et aisément disponible. Sa viscosité basse lui permet de pénétrer la matrice pour atteindre le matériel à extraire, et sa basse chaleur latente d'évaporation est un moyen élevé vitalité qui peut être facilement enlève sans laisser un résidu de solvant. (Khajeh et *al.*, 2005).

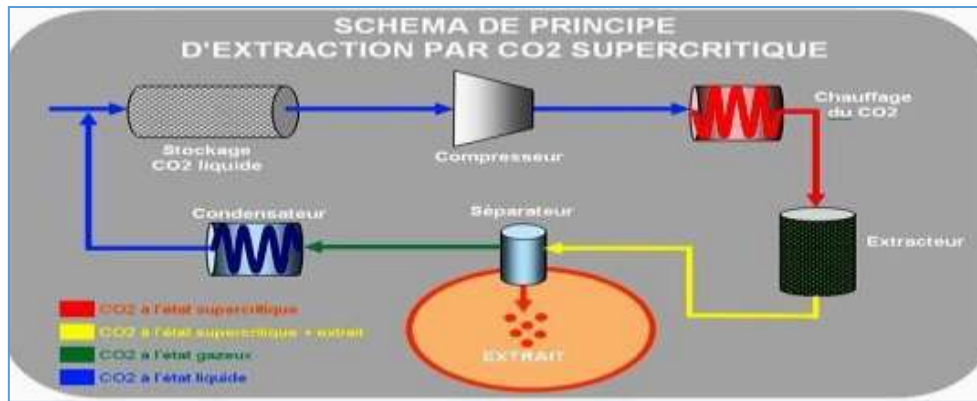


Figure 11: Extraction par CO2 supercritique (Luicita.2006)

4.6 L'extraction par micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé (fig 12). Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant. L'extrait est filtré et récupéré ensuite (France-Ida, 1996).

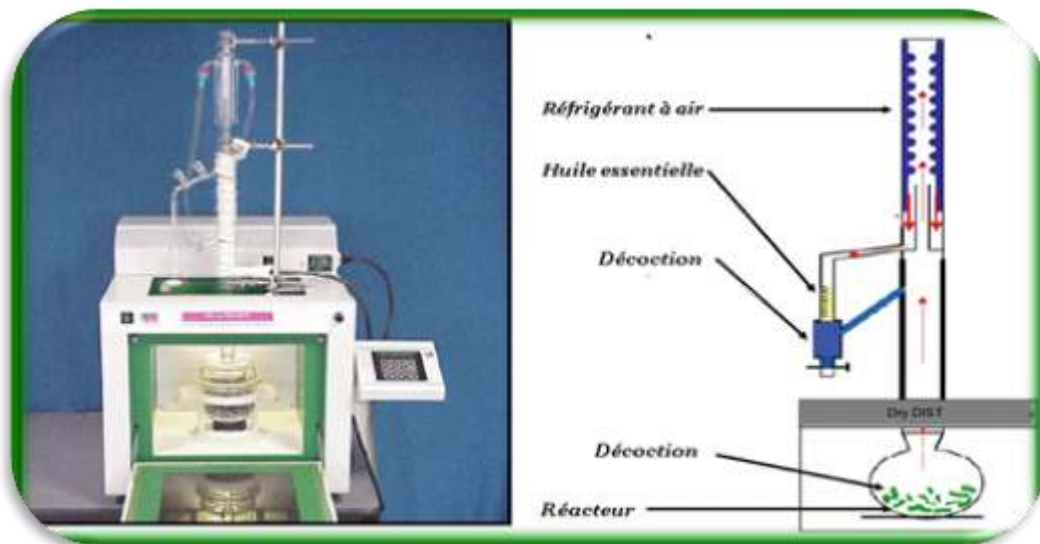


Figure 12 : Montage d'extraction par micro-ondes (Luicita .2006)

Chapitre III:

***Fusarium* sp.**

1. Généralité sur le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* est bien connu pour son rôle important en phytopathologie, ce dernier regroupe un grand nombre d'espèces présentant une spécificité parasitaire pour une large gamme de plantes hôtes (Ozenda, 1990).

2. Position systématique

Selon Debourgogne (2013), La nouvelle classification taxonomique du genre *Fusarium* basée sur la phylogénie moléculaire est la suivante :

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre: *Fusarium*

3. Caractères morphologiques

La principale caractéristique morphologique des *Fusarium* sp. (fig13) est la présence de macroconidies en forme fusiformes, cloisonnées (Tabuc, 2007). Le thalle des *Fusarium* est à croissance, habituellement, rapide et de couleur variée (Jeunot, 2005), les conidiophores parfois très ramifiés formant sur le thalle des coussinets.(sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects gras, les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies: des macroconidies fusiformes, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon et/ou des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes . Les chlamydospores peuvent être présentes ou absentes, se différenciant soit par le mycélium ou par les conidies (Botton et al., 1990).

Au niveau de physiologie cellulaire, les *Fusarium* sp. ont une croissance optimale à une température comprise entre 22 et 37 °C. Les *Fusarium* sp. se développent dans un milieu très humide, ce qui explique leur présence dans les champs et sur les plantes vivantes (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). Ces moisissures sont aérobies; l'oxygène leur permet d'effectuer une croissance normale. Cependant, la plupart peuvent se développer même si l'oxygène est limité. Ils se développent normalement à un pH compris entre 3 et 8. (Tabuc, 2007).

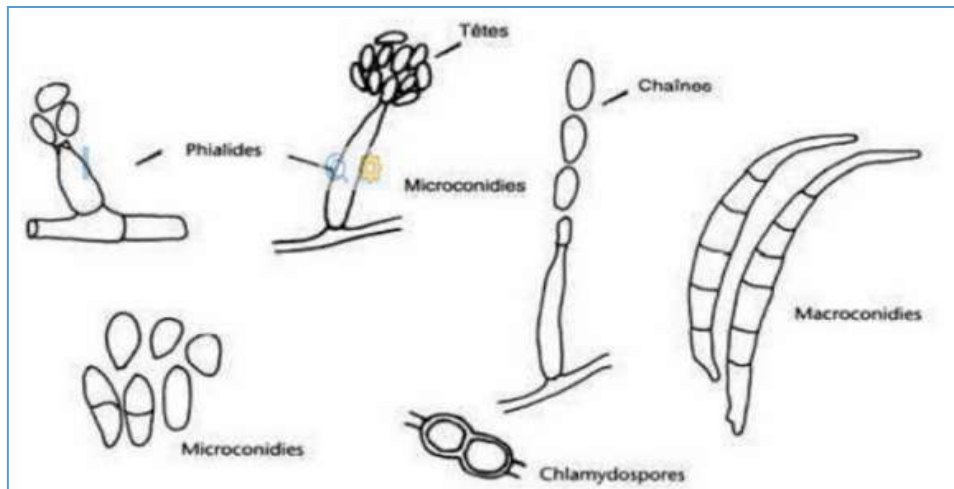


Figure13 : Caractères morphologiques des *Fusarium* sp . (Tabuc ,2007)

4. Pouvoir pathogène

La pathogénéité du *Fusarium* sp. est le résultat des réactions biochimiques des substances secrétées par l'agent pathogène sur la plante hôte. Ces substances sont généralement des enzymes hydrolytiques (chitinases, cellulases, pectinases et protéases) et des toxines, qui sont secrétées à différents degrés selon les plantes infectées (Rezzonico et al.,2005).

Les formes spécialisées de *Fusarium* sp. s'attaquent à la plupart des plantes cultivées mono et dicotylédones. Certaines formes spéciales ne présentent plus de réels problèmes agronomiques, c'est le cas de la forme spéciale *Lycopersici*, pour laquelle la plupart des variétés de tomate cultivées sont résistantes, des variétés sensibles sont toujours cultivées dans de nombreux pays, notamment en Afrique du Nord comme l'Algérie où, pour des raisons économiques, ces variétés sont utilisées. Il existe certaines souches dites non pathogènes, c'est-à-dire n'ayant aucun pouvoir pathogène connu ou ne sont pas pathogènes pour l'espèce végétale considérée (El Modafar, 1994).

Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

L'intérêt de ce travail est la valorisation de deux plantes aromatiques *Eucalyptus* sp. et *Laurus* sp., poussant à l'état spontané dans la région de Mostaganem par l'étude de leurs activités antifongiques.

1.1 Matériel biologique

1.1.1 Matériel végétal

Les plantes utilisées dans ce travail sont *Eucalyptus* sp. de la famille Myrtaceae et *Laurus* sp. de la famille Laureacées. La première plante a été récoltée le mois de Mars dans la région de Dabdaba située au Nord-Ouest de la wilaya Mostaganem. Tandis que la récolte de la deuxième plante a été réalisée un mois après, dans la commune de Mazagran (fig 14).

La partie utilisée est les feuilles fraîches des deux plantes.

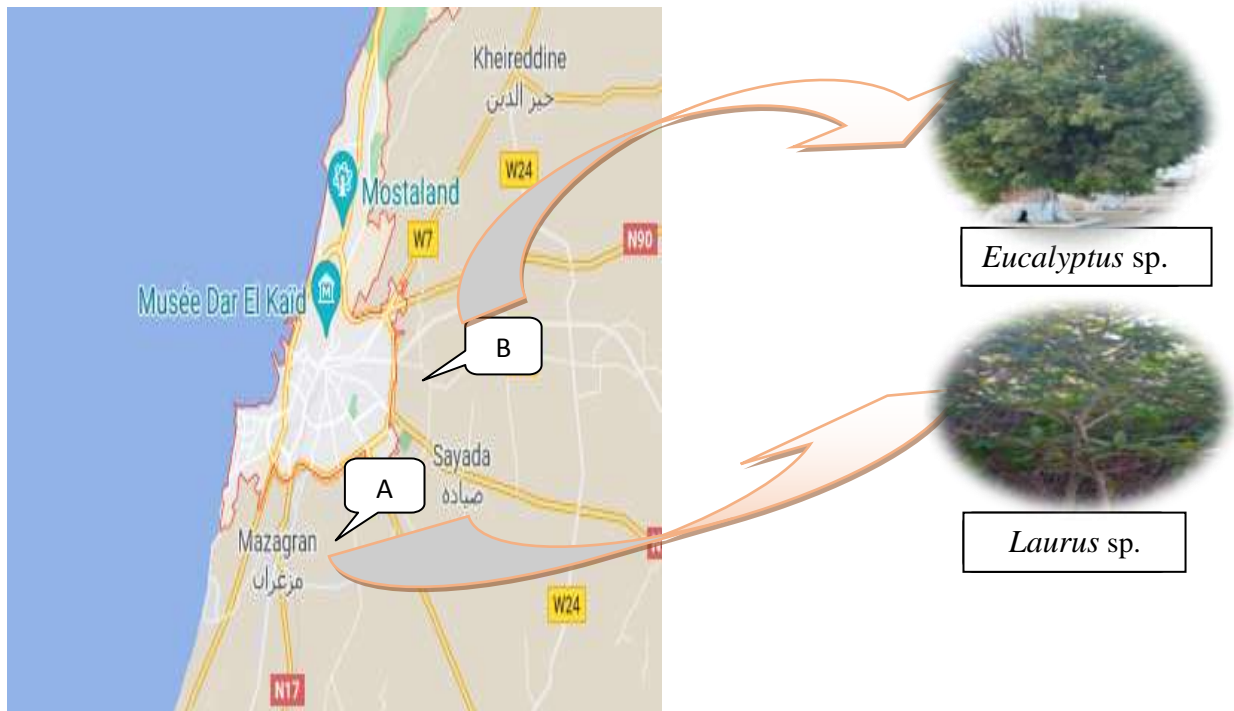


Figure 14: Stations de la récolte des échantillons à Mostaganem. A: Mazagran (*Laurus* sp.)
B : Dabdaba (*Eucalyptus* sp.) (Google Earth, 2021)

1.1.2 Matériel fongique

La souche utilisée dans ce travail est le champignon *Fusarium* sp. qui provient de la collection du laboratoire de recherche « Protection des Végétaux » à l'université de Mostaganem.

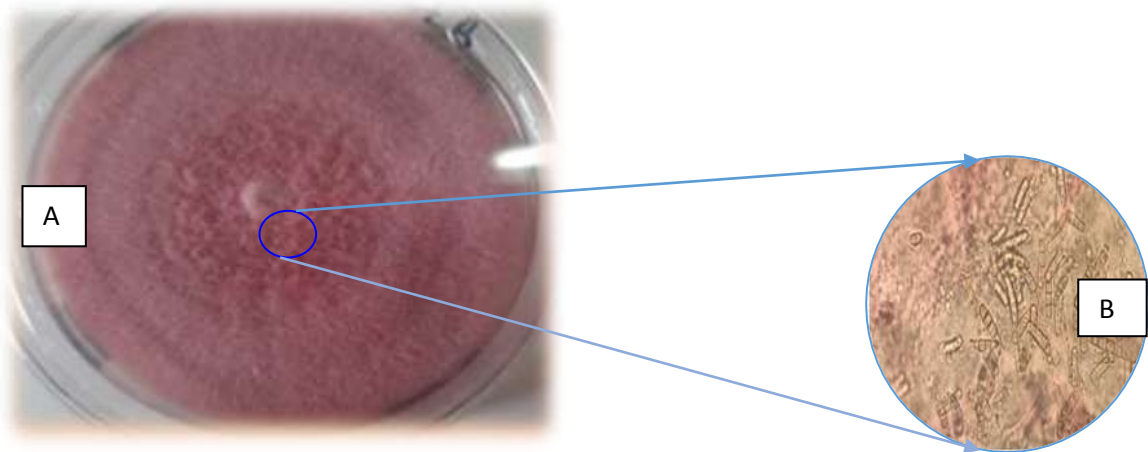


Figure 15: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *Fusarium sp.*

1.2 Mode opératoire de l'extraction

800 g de la plante, triée et nettoyée (laurier ou eucalyptus), a été placée sur une grille métallique et introduite dans une cocotte minute contenant de l'eau. Cet ensemble est porté à ébullition pendant deux heures et les HEs sont entraînées à la vapeur d'eau (fig 16). Après condensation et liquéfaction, l'huile surmontant l'eau (non miscible) est séparée de l'eau. Après extraction, le volume d'HE obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre bien bouché. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologique

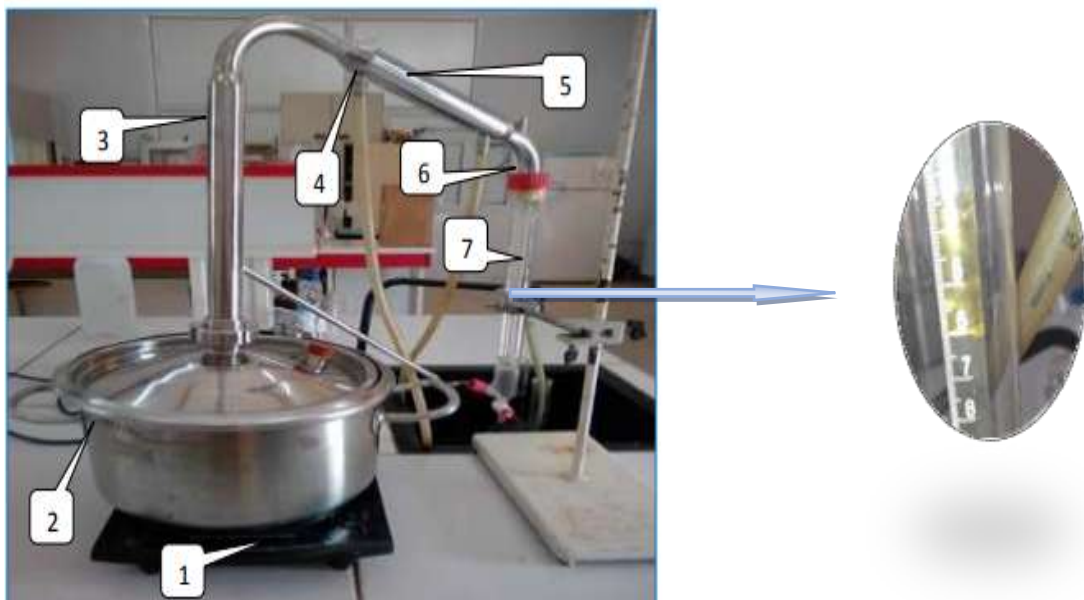


Figure 16: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau, 1: plaque chauffante, 2: cocotte minute, 3: condensateur, 4: sortie de l'eau, 5: réfrigérant, 6: entrée de l'eau et 7: tube gradué (Originale, 2021)

Le protocole d'extraction est résumé comme suite :

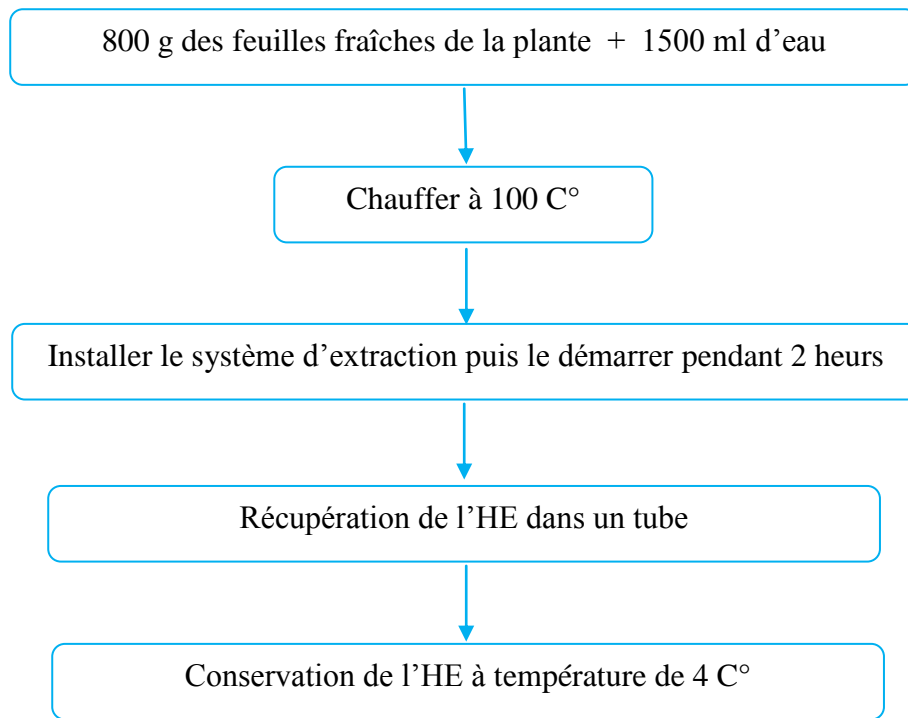


Planche 1: Le protocole de l'extraction des huiles par L'entraînement à la vapeur d'eau

1.2.1 Calcul de rendement

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal traité (Afnor, 1986). Le rendement est exprimé en pourcentage :

$$\mathbf{R(\%) = MHE/MS \times 100}$$

R : Rendement de l'HE en %

MHE : Quantité d'extraits récupérée en g

MS : Quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g

1.3 Préparation des milieux de cultures

Le milieu utilisé pour le repiquage du champignon est le PDA (Potato Dextrose Agar). Compte tenu de la non miscibilité des huiles à l'eau et par conséquent au milieu de culture, une mise en émulsion de cette huile a été réalisée par le tween 20 afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé (Satrani et *al.*, 2001).

Les solutions de différentes concentrations en HE avec le tween 20 sont incorporées dans 100 ml de PDA pour obtenir cinq doses différentes (0.1%, 0.05%, 0.025%, 0.0125% et 0.0062%). Les HEs des deux plantes aromatiques (*Eucalyptus sp.*, *Laurus sp.*) ont été incorporées à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Il s'agit de la

méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique (Fandohan et *al.*, 2004). Le mélange de chacun des milieux, est coulé dans des boites de Pétri étiqueté.

1.4 Essais de l'activité antifongique

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, un fragment de culture fongique (*Fusarium sp.*) de 5mm de diamètre a été découpé à partir d'un tapis mycélien âgé de 8 jours, puis a été déposé au centre de la boite de Pétri. Pour chaque concentration, trois répétitions sont préparées de la même façon (planches 2 et 3). Deux témoins (sans HE) avec trois répétitions ont été retenus, le PDA avec tween a servi comme témoin positif (T1) et un témoin sans tween a servi de témoin négatif (T2).

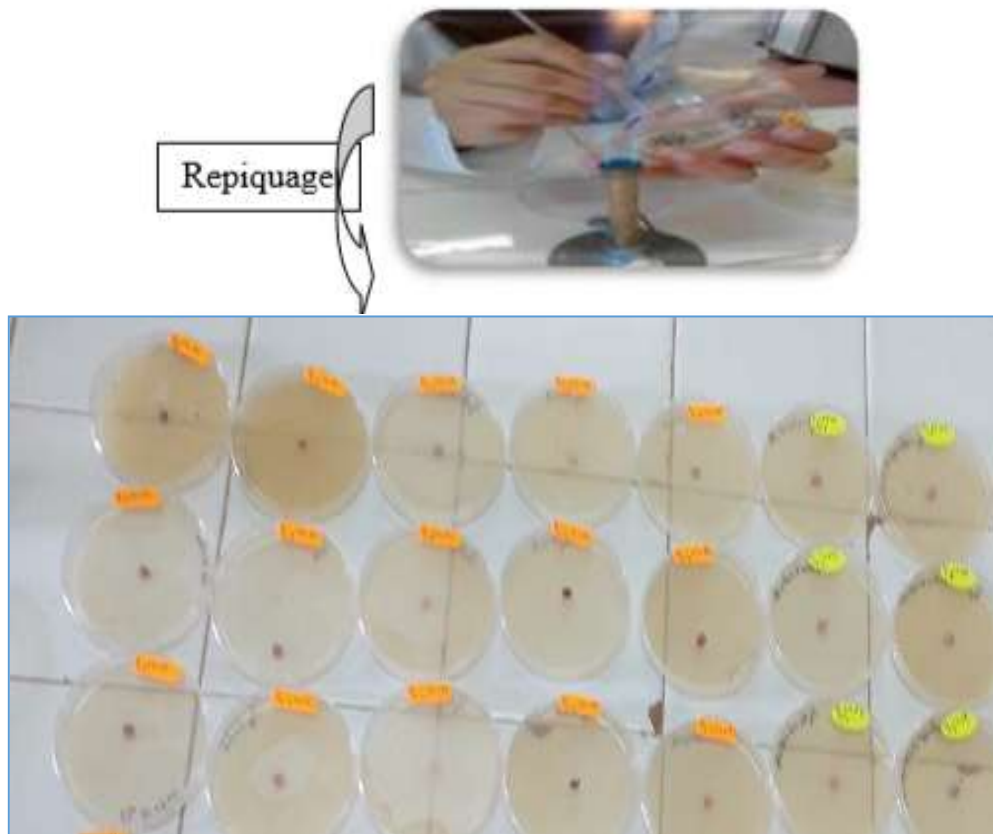


Planche 2 : Dispositif expérimental de la technique de repiquage utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Eucalyptus sp.* et de *Laurus sp.*

Les boites de Pétri sont ensuite fermées hermétiquement et incubées à 25°C, Des mesures quotidiennes de diamètre des colonies ont été effectuées pour chaque concentration afin d'évaluation de la croissance mycélienne, le taux d'inhibition et la vitesse de croissance des souches étudiées. Les mesures ont été prélevées jusqu'au remplissage des boites des témoins pour le champignon *Fusarium sp.*.

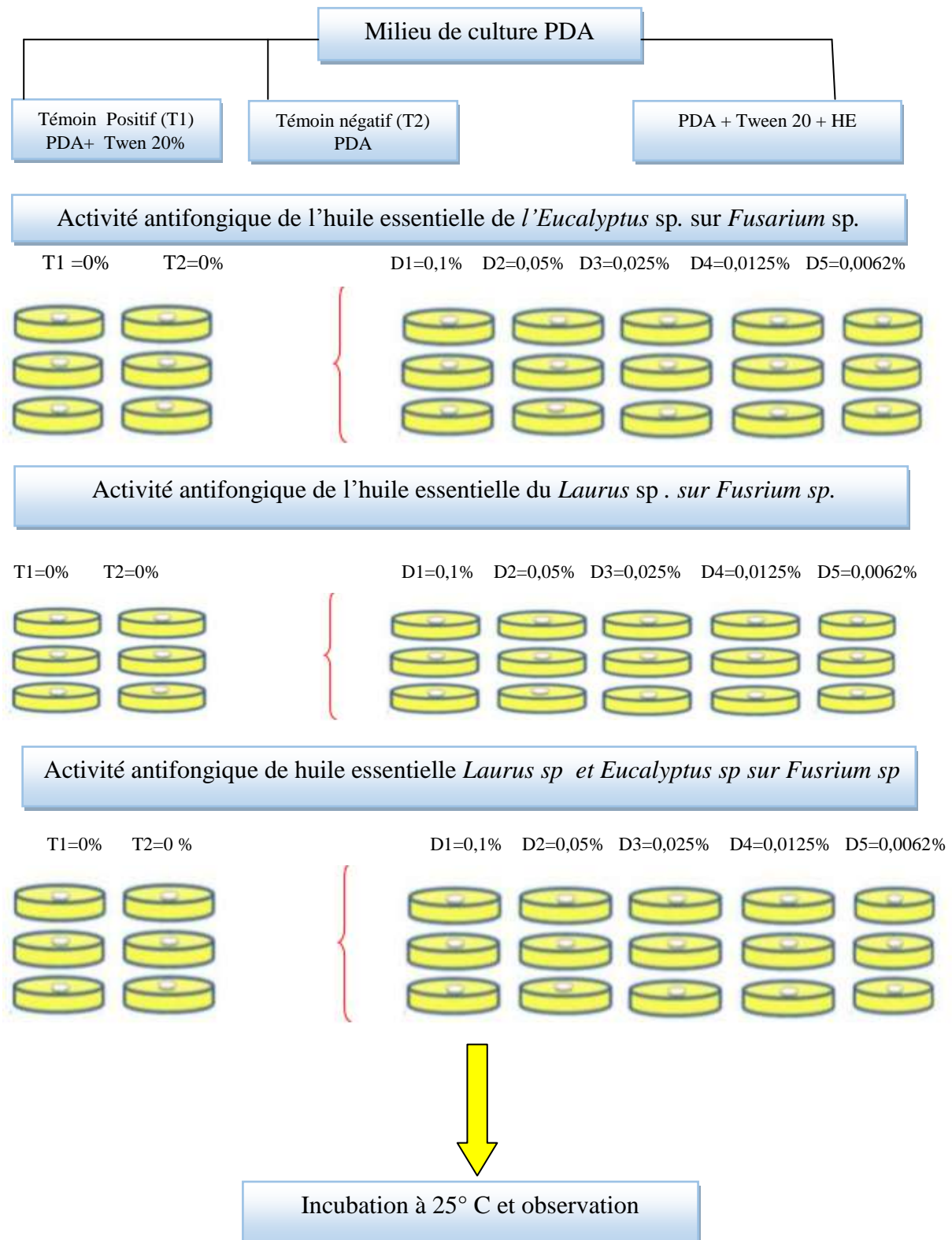


Planche 3 : Protocole expérimental de l'activité antifongique des HEs de l'*Eucalyptus* sp. et de *Laurus* sp. sur le champignon *Fusarium* sp.

1.4.1 Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu de l'explant mycélien. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration. La lecture est réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils ont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions. La technique employée pour le calcul de la croissance mycélienne est celle décrit par (Brewer 1960), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en les appliquant à la formule suivante :

$$L = (D-d) / 2$$

L : croissance mycélienne

D : diamètre de la colonie

d : diamètre de l'explant (0,5cm)

1.4.2 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%)

Les résultats obtenus à partir de l'estimation de la croissance mycélienne sont aussi exprimés en taux d'inhibition par rapport à la croissance mycélienne du témoin. La technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation.

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

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

dC : Diamètre de colonies dans les boîtes (Témoin)

dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

L'huile essentielle est dite :

- Très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible.
- Active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible.
- Moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite limitée.
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% la souche est dite peu sensible ou résistante.

1.4.3 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM)

Selon (Cahagnier et Molard 1998), la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule

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

VCM : Vitesse de croissance mycélienne.

Di: diamètre de la zone de croissance chaque jour (cm)

Te: temps d'incubation

Chapitre II :

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion

1.1 Détermination du rendement

Les rendements moyens en HE ont été calculés en fonction de la matière végétale des deux plantes aromatiques *Eucalyptus* sp. et *Laurus* sp..



Figure 17 : Huiles essentielles extraites, A: HE de *Laurus* sp. et B: HE de *Eucalyptus* sp. (Originale, 2021)

Le rendement de l'huile essentielle obtenu par l'entraînement à la vapeur de la plante aromatique *Laurus* sp. est de l'ordre de 0,44 % (fig 17). L'huile de cette plante est incolore (fig 19 (A)) ; *Eucalyptus* sp. a fournis un rendement d'environ 0,31 %. Cette huile a une couleur jaune orangée (fig 19 (B)). Il est à noter que, la plus grande quantité d'HE extraite est obtenue à la première heure d'extraction.

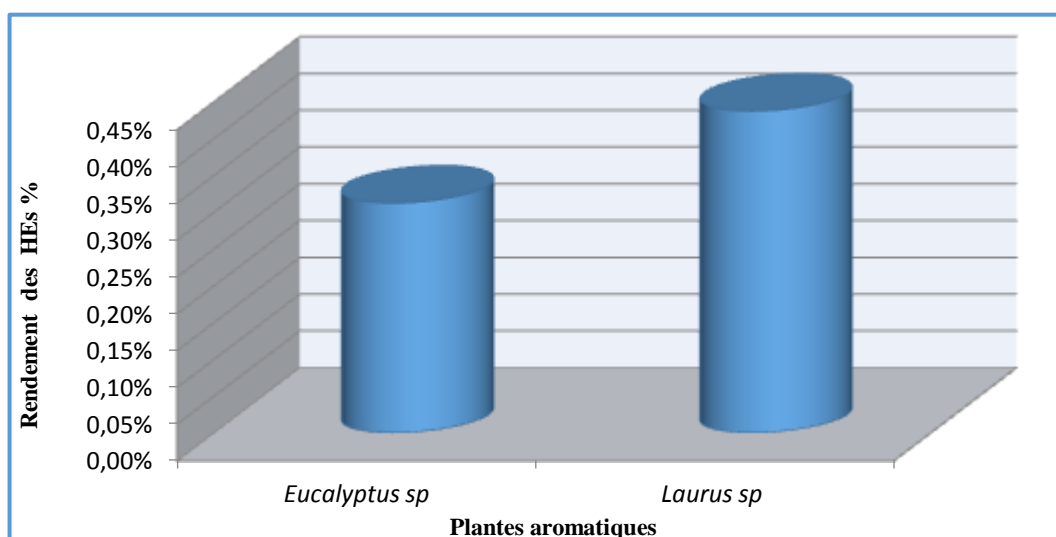


Figure 18: Histogramme comparatif des rendements des HEs de deux plantes aromatiques *Eucalyptus* sp. et *Laurus* sp.

2. Evaluation de l'activité antifongique "in vitro" des huiles essentielles de deux plantes aromatiques sur *Fusarium* sp.

2.1 Effet de l'HE de *Eucalyptus* sp. vis-à-vis de *Fusarium* sp.

La figure 19, montre l'effet des différentes concentrations (D1=0.1%, D2=0.05 %, D3=0.025% , D4=0.0125% et D5=0.0062%) de l'huile essentielle de *Eucalyptus* sp. sur l'isolat de *Fusarium* sp.

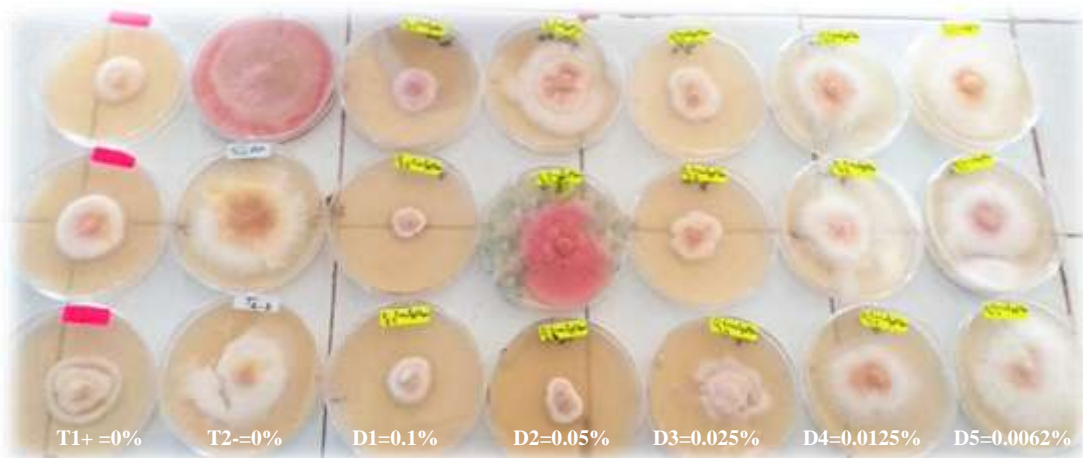


Figure 19: Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Eucalyptus* sp. (HE1) sur l'isolat de *Fusarium* sp. (Originale, 2021)

2.2 Effet de l'huile essentielle de *Laurus* sp. vis-à-vis de *Fusarium* sp.

La figure 23, montre l'effet des différentes concentrations (D1=0.1%, D2=0.05 %, D3=0.025% , D4=0.0125% et D5=0.0062%) de l'huile essentielle de *Laurus* sp. sur l'isolat de *Fusarium* sp.

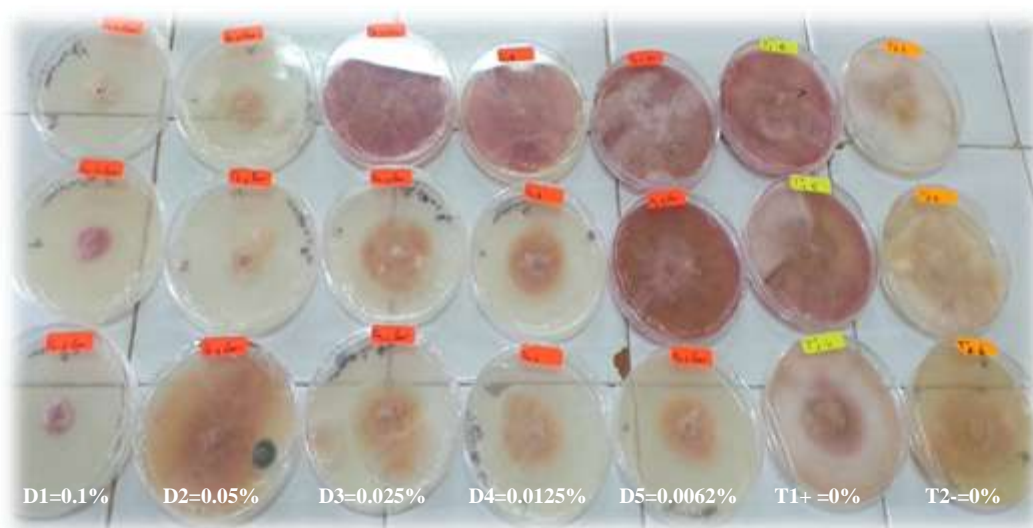


Figure 23: Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Laurus* sp. (HE2) sur l'isolat de *Fusarium* sp. (Originale, 2021)

2.3 Effet des huiles essentielles de *Eucalyptus* sp. et de *Laurus* sp. sur *Fusarium* sp.

La figure 27, montre l'effet des différentes concentrations (D1=0.1%, D2=0.05 %, D3=0.025% , D4=0.0125% et D5=0.0062%) des huile essentielle de *Laurus* sp. et de l'*Eucalyptus* sp. sur l'isolat de *Fusarium* sp.

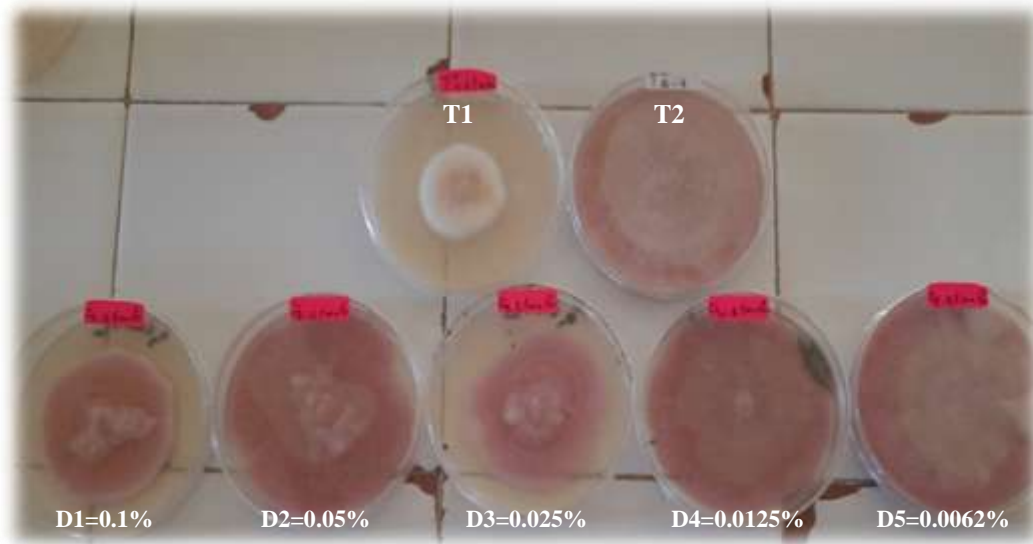


Figure 27: Effet synergique des différentes concentrations des HEs de l'*Eucalyptus* sp. et de *Laurus* sp. (HE1 +HE2) sur le champignon *Fusarium* sp. (Originale 2021)

3. Comparaison de l'effet des HEs de *Eucalyptus* sp. (HE1), de *Laurus* sp. (HE2) et du mélange (HE1+ HE2) sur l'isolat de *Fusarium* sp.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a été consacrée à l'évaluation des propriétés antifongiques de deux huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur, réalisée au laboratoire de biochimie. Les HEs utilisées ont été extraites à partir de deux plantes médicinales récoltées de la région de la Mostaganem. Dans cette collection figurent deux espèces végétales, il s'agit de l'*Eucalyptus* sp. de la famille des Myrtacées et *Laurus* sp. pour les Lauracées. Le rendement était de 0,31% et 0,44% respectivement pour les feuilles à l'état frais de l'eucalyptus et de laurier.

Les résultats enregistrés montrent que les huiles essentielles de *Eucalyptus* sp. (HE1), de *Laurus* sp. (HE2) et du mélange (HE1+ HE2) sont dites actives présentant une inhibition de la croissance mycélienne comprise entre 59 et 71 % à la dose D1=0,1%. La souche fongique testée (*Fusarium* sp.) est dite sensible.

D'après ces résultats, on peut penser que les huiles essentielles de ces espèces méritent une étude plus approfondie pour exploiter leurs propriétés antifongiques dans le domaine de phytosanitaire. Il serait nécessaire donc, de relancer ces tests en utilisant des doses plus importantes pour déterminer la CMI.

Références

Bibliographiques

- Afnor, 2000** : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- Anonyme , 2018.** Comment traiter efficacement les mycoses avec les huiles essentielles ? Laboratoire Dumani. [En ligne]. <https://laboratoiredumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/>
- Barla , A., Topçu, G., Öksüz ,S., Tümen G. et Kingston D.G.I., 2007.** Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., Food chemistry 104 : p 1487-1484.
- Battache ,1996** .la fusariose vasculaire de la région d'Orane, thèse de magistare en microbiologie, option phytopathologie
- Beirão ARB. et Bernardo-Gil MG., 2006.** Antioxydants from Lavandula luisieri. 2 nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal. 8p
- Belaiche P., 1979.** Traité de phytothérapie et l'aromathérapie. Tome I: L'aromatogramme. Ed.maloine S., Paris, p. 204.
- Beloued A., 2005.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. 124p.
- Beyould Si Said, Z., 2014.**Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus. Thèse de Magister. Université du Bejaia. Algérie.
- Botton B. Breton A., Fevre M., Guy P.H., Iarpent J.P., Sanglier J.J., Vayssier V. et Veau,P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielle. Masson 1990; pp. 20-191.
- Bruneton J, 1999.** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3 ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p
- Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
- Cahagnier B. et Molard R.D., 1998.** Moisissures des aliments peu-hydratés, les moisissures. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Ed. : Lavoisier. p :39- 4
- Capo M., Courilleau V. et Valette C., 1990.** Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, p. 204.
- Carson C.F., Riley T.V. et Bosque F., 2002.** Antimicrobial activity of the major components of essential oil of Malaleuca alternifolia. Journal of Applied Bacteriology. 78, p:264-269
- Castegnaro M., et Pfohl-Leszkowicz A., 2002.** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc
- Castellana, R. et Jama , S., 2012.** Floriculture et parfumerie: les origines de l'acclimatation végétale sur la cote d'azur. P.7

- Chaintreau, A. Joulain, D, Marin C. et Vey M., 2003.** Quantification of fragrance compound suspected to cause skin réactions. *J Agric. Food. Chem.* 51 : 398 -403.
- Chenni, M., 2016.** Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic (*Ocimum basilicum L.*) extrait par hydro distillation et par micro -ondes Spécialité : Chimie moléculaire, Analyse, Modélisation, Synthèse : Université d'Oran. P185 .
- Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G.,1991.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.
- Davidson P.M., 1997.** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*.43, p:148-155.
- Debourgogne A., 2013.** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse du doctorat ; Université de Lorraine , France, 203 p.
- Djahra A.B., 2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare L.* »
- El Modafar, C. 1994.** Aspects histologiques et biochimiques des interactions hôte-parasites *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* inducing root rot of tmato. *Proc. Kansai. Plant Prost. Soc.* 16 p:17-29.
- Emam A,Mohamed M,Diab Y, et Megally N . 2010.** Isolation and structure elucidation of antioxidant compounds from leaves of *laurus nobilis* and *Emex Spinosus*-Drug Discoveries Therapeutics .vol.4(3) .pp.202-207,Egypt
- Fandohan, P., Gbenou, J .D et Gnonlofin, B., 2004.** Effect of Essential Oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and Fumonisin Contamination in Corn *JAgric Food Chem* 52 pp .6824-6829.
- FAO, (1982) .** Les Eucalyptus dans les reboisements, collections FAO : forets p :11 –753
- Flamini G.,Tebano M.,Cioni p.I .,Ceccarini L.,Ricci A.S. et Longo I. 2007.** comparison between the conventionl method of extraction of essential oil of *laurus nobilis L.* and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven .*j.chromatofr.A1143(2007)*p : 36-40.
- France-Ida J., 1996.** Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles.* 3:p 5-6
- Géraldine C., 2013.** Myrtacées et aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université joseph fourier faculté de pharmacie.P : 42- 48.

- Hussain AI., 2009.** Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de Doctorat. Pakistan. p257 .
- Hussain AI., Anwar F., Chatha SAS., Jabbar A., Mahboob S. et Nigam PS., 2010.** Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. Brazilian Journal of Microbiology. 41 p: 1070-1078.
- Iserin P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales . 2éme Ed.larousse.londres P :143 et P. :225 – 226
- Ivan A . 2001.** Ross-medicinal plants of the world,chemical constituents,traditional and modern medicinal uses –Humana press.volume 2 . pp .261-264,united states of America
- Jammot, M., 2015.** Plantes médicinales : herbario. Madrid. Libsa. 180 P
- Jeunot, B. 2005.** Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- Khajeh M., Yadollah Yamini Y., bahramifar N., Sefidkom F., et Reza Pirmoradei M., 2005 :** comparison of essential oils compositions of ferula assa-foetida obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chemistr .
- Kurita, N., myaji, M., kurane, R., Takahara, Y. et Ichimara, K., 1979.** Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds rom oils of higher plants. Agric. Boil. Chem. 43: 2365-2371
- Lucchesi M. E., 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p
- Luicita. L.R., 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France
- Malechy M., 2008:** métabolisme des trapénoïdes chez les caprins these doctorat: l'institut des sciences et industries du vivant et de l'Environnement (Agro paris tech)
- Martin, P., 2013.** Les Familles des Plantes à fleurs d'Europe, Botanique systématique et utilitaire. 2ème édition. P.65.
- Maurice R. 2014.** livre angiospermes arbres et arbustes feuillus France.
- Merrouche, A. Touati, H. et Zemmar, K., 2016.** Etude préliminaire de l'activité insecticide des extraits des plantes (Eucalyptus globulus, Myrtus communis et Nerium oleander) à l'égard d'une espèce de moustique Culex pipiens. MASTER Spécialité : Biologie, évolution et contrôle de population d'insectes Université des Frères Mentouri Constantine P70.
- Messaoudi S., 2008 .** les plantes médicinales. Troisième édition,Dar Elfikr
- Narishetty STK. et Panchagnula R., 2004.** Transdermal Delivery of Zidovudine: Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action. Journal of Controlled Release. 95: 367-379.

- Ozenda, P., 1990.** les organismes végétaux, tome 1 : végétaux inférieurs, Masson.220p.
- Pariente L. 2001.** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- Paul, I., 2007.** La rousse des plants médicinaux. France .
- Penchev, P.I., 2010.** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat en : Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. P 9, P17, P19
- Pereira, S., Freire, S.R.C.; Neto, P., Silvestre, J. D., et Silva, M.S.A.2004.** Chemical Composition Of The Essential Oil Distilled From the Fruits Of Eucalyptus Globulus Grown In Portugal .Flavour And Fragrance Journal Flavour Fragr. J. 2005; 20: 407–409
- Porter N., 2001.** Essential oils and their production.Crop & Food Research, p.39.
- Quezel P. et Santa S., 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I. Ed CNRS. Paris. 565p
- Rai M., Acharya D. et Wadegaonkar P., 2003.** Plant derived-antimycotics: potential of Acteraceous plants. In: Plantb-derived antimycotics: Current trends and future prospects, HaworthPress, N-York, Londin, Oxford, p.165-185 .
- Rezzonico F., Binder C., Défago G. et Moenne-loccozy Y. 2005.** The type III secretion system of biocontrol Pseudomonas fluorescens KD targets the phytopathogenic chromista Pythium ultimum and promotes cucummbber protection. Moleculer Plant-Microbe Interaction, 18, p.
- Richter H.G. et Werff H. 1996.** « Toward An Improved Classification Of Lauraceae ». Annals Of The Missouri Botanical Garden 83: 409–418. Doi:10.2307/2399870.
- Satrani B; Farah A; Fechtal M; Blaghen M et Chaouch A., 2001.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Satureja calamintha et Satureja alpina du maroc. ann. fais. exp. chim. 94(956) :241-250.
- Steven P.S . 2001 .** Angiosperm Phylogeny Wesbsite. Botanique systématique des plantes à fleurs. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes. 413p.
- Tabuc Cristina. 2007.** Flore fongique de différents substrats et condition optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Institut polytechnique de Toulouse .
- Valnet M., 2005.**Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth International. Journal of Food Microbiology.85,p:73-8.
- Wendakoon , K. et Saguchi N.A., 1995.** Methods of asses quality and stability of oils and fatcontaining foods .AOCS. press, champaign.
- Willem J.P. 2013.** 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé.

Annexes

Annexe 01 : Fiche technique de l'*Eucalyptus* sp.

- **Français :** Eucalyptus, arbre à fièvre, gommier bleu .
- **Anglais :** blue gum tree , fevertree, tasmanian bluegum
- **Arabe :** kalitus, kalatus ,
- **Odeur :** forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- **Saveur :** chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- **Biotope :** très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- **Récolte :** en Février et en Novembre à la taille des arbres.
- **Partie à utiliser :** essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés.
- **Les noms vernaculaires :** Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions.
- **Caractères des huiles essentielles :** couleur jaune et d'odeur agréable

Annexe 02 : Fiche technique de *Laurus* sp.

- **Français :** Laurus.
- **Anglais :** luryih , bag
- **Arabe :** Rand , waraq alghar
- **Odeur :** forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- **Saveur :** laurier fait partie des plantes aromatiques utilisées dans les pays méditerranéens pour conférer aux plats une saveur inégalée
- **Biotope :** dans la région méditerranéenne
- **Récolte :** a lieu du
- mois de mars jusqu'aux premières gelées.
- **Partie à utiliser :** essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés.
- **Les noms vernaculaires :** Rand « le nom le plus connue en Algérie »,.

Caractères des huiles essentielles : incolore et son odeur un peu acre reste agréable