

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn-Badis
Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

ABOURA Manel

BELGUENDOZ Aziza

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des Plantes

THÈME

Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Rosmarinus sp.* et *Myrtus sp.* vis-à-vis du champignon *Fusarium sp.*

DEVANT LE JURY

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

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

En premier lieu et avant tout, merci à DIEU tout puissant ALLAH de nous avoir donné le courage, la patience pour et la force pour achever 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} BERGHEUL S.**, maitre de conférence à l'université de Mostaganem, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury : **M^{me} SAIAH F.**, 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.

Dédicace

Je dédie mes très chers parents, Abdelkader et Fadhila, qui ont toujours été là pour moi.

Je dédie mes sœurs Abir et Marwa, Zoubida, pour leurs encouragements.

Je dédie mes cousines Zoubida hadj cherif, Zoubida Ziane Beroudja, Yousra et Malek, Alaa, Rima

Je dédie mes oncles et mes tantes

Enfin, je dédie mes amis Fella, Rihab, Khadidja, Nacera, Naïma, Houria, Imen, Malika, Aziza, Asma, Mansoriya et Khadidja qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Aboura manal

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 sœurs : Chaïmaa et Salïha

A mes frères : Hamza

A mes tantes et mon oncle et toute la famille

A mon binôme Manal

A tous ceux qui m'aidé à atteindre cette réalisation soit professeurs

Même les amies : Malika, Imane

A tous ceux que j'aime

Belgundouz Azïza

Résumé

Fusarium sp. est un champignon d'origine tellurique très ubiquiste, qui présente une très grande diversité génétique et écologique et qui a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées d'intérêt économique.

Ce travail porte sur l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques vis-à-vis du champignon *Fusarium* sp.. Il s'agit d'une Lamiacées (*Rosmarinus* sp.) de la région de Mostaganem et une Myrtacées (*Myrtus* sp.) de la région de Chlef . Cette activité a été évaluée par la méthode de contact direct sur le milieu PDA.

Les résultats du test montrent que la synergie des huiles essentielles du romarin et du myrte provoque une inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. supérieure à celle obtenue suite à l'utilisation de ces huiles de manière individuelle.

Les expériences menées indiquent que les huiles essentielles de *Rosmarinus* sp. (HE1), de *Myrtus* sp. (HE2) et de leur association (HE1+ HE2) ont un effet inhibiteur moyen qui ne dépasse pas 55% pour la plus forte dose (D1=0,1%).

Mots clés : Activité antifongique, huiles essentielles, *Rosmarinus* sp., *Myrtus* sp., croissance mycélienne, *Fusarium* sp..

Abstract

Fusarium sp. is a very ubiquitous fungus of terrestrial origin, which presents a very high genetic and ecological diversity and has the capacity to cause diseases on many cultivated plant species of economic interest.

This work deals with the evaluation of the antifungal activity of essential oils of two aromatic plants against the fungus *Fusarium* sp. These are a Lamiaceae (*Rosmarinus* sp.) from the region of Mostaganem and a Myrtaceae (*Myrtus* sp.) from the region of Chlef. This activity was evaluated by the direct contact method on the PDA medium.

The results of the test show that the synergy of the essential oils of rosemary and myrtle causes an inhibition of the mycelial growth of *Fusarium* sp. superior to that obtained following the use of these oils individually.

The experiments conducted indicate that the essential oils of *Rosmarinus* sp. (HE1), *Myrtus* sp. (HE2) and their combination (HE1+ HE2) have an average inhibitory effect that does is 55% for the highest dose (D1=0.1%).

Keywords: Antifungal activity, essential oils, *Rosmarinus* sp., *Myrtus* sp., mycelial growth, *Fusarium* sp.

ملخص

Fusarium sp. فطر موجود في كل مكان على الأرض، والذي يظهر تنوعًا وراثيًا وبيئيًا كبيرًا وله القدرة على التسبب في المرض في العديد من أنواع النباتات المزروعة ذات الأهمية الاقتصادية.

يتعلق هذا العمل بتقييم النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنباتين عطريين مقابل فطر *Fusarium sp.* وهو *Lamiaceae (Rosmarinus sp)* من منطقة مستغانم و *Myrtaceae (Myrtus sp)* من منطقة الشلف. تم تقييم هذا النشاط من خلال طريقة الاتطال المباشر على وسط PDA.

تظهر نتائج الاختبار أن تآزر الزيوت الأساسية لإكليل الجبل والياس يؤدي إلى تثبيط نمو الفطريات في *Fusarium sp* أكبر من تلك التي يتم الحصول عليها باستخدام هذه الزيوت بشكل فردي.

التجارب التي أجريت تشير إلى أن الزيوت الأساسية من *Rosmarinus sp. (HE1)*, *Myrtus sp. (HE2)* وتركيبهما (*HE1 + HE2*) لهما تأثير مثبت متوسط لا يتجاوز 55% لأعلى جرعة ($D1 = 0.1$).

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطر، الزيوت العطرية، إكليل الجبل، الريحان، نمو مسيلبون، *Fusarium sp.*

Table de matière

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Listes des figures et des planches	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : les plantes aromatiques étudiées

1. Présentation de la famille des Lamiacées.....	02
1.1 <i>Rosmarinus</i> sp.....	02
1.1.1 Présentation du romarin.....	02
1.1.2 Description botanique.....	02
1.1.3 Systématique du romarin.....	03
1.1.4 Répartition géographique.....	03
1.1.5 Principaux composition chimique.....	04
1.1.6 Propriétés biologiques du Romarin.....	04
2. Présentation de la famille des Myrtaceae.....	05
2.1 <i>Myrtus</i> sp.....	05
2.1.1 Présentation du myrte.....	05
2.1.2 Description botanique.....	05
2.1.3 Systématique de <i>Myrtus</i> sp.....	06
2.1.4 Répartition géographique.....	07
2.1.5 Principaux Composition chimique.....	07
2. 1.6 Propriétés biologiques de Myrte.....	08

Chapitre II : Les huiles essentielles

1. Historique des huiles essentielles.....	09
1. 1 Définition des huiles essentielles	09
1. 2 Localisation des huiles essentielles dans la plante	09
2. Composition chimique des huiles essentielles.....	09

2. 1 Composés terpéniques.....	10
2. 2 Mono terpènes.....	11
2. 3 Sesquiterpènes.....	12
3. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane	12
4. Techniques d'extraction.....	13
4.1 Entraînement à la vapeur d'eau.....	14
4.2 Hydro-distillation (HD).....	15
4. 3 L'extraction par enfleurage.....	15
4.4 L'extraction par les solvants volatils.....	15
4.5 Hydro distillation par micro-ondes.....	16
4. 6 Extraction au CO2 supercritique	16
5. Propriétés physico-chimiques	17
6. Les principales propriétés des huiles essentielles.....	17
6. 1 Propriétés antibactérienne.....	17
6. 2 Propriétés antivirale.....	17
6. 3 Propriétés antifongique.....	18
6. 4 Propriétés antiparasitaire	18
6. 5 Propriétés antiseptique.....	18

Chapitre III : *Fusarium* sp.

1. Présentation de champignons du genre <i>Fusarium</i> sp.....	19
1. 1. Taxonomie.....	19
1. 2 Caractères cultureux généraux.....	19
1. 3Cycle biologique.....	20

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes.....	22
1.1 Matériels biologique.....	22
1.1.1 Matériel végétal.....	22
1.1.2 Matériel fongique.....	23

1. 2 Extraction des huiles essentielles.....	23
1. 2.1 Détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles.....	24
1.3 Evaluation de l'activité antifongique " <i>in vitro</i> " des huiles essentielles de deux plantes aromatiques sur le champignon <i>Fusarium</i> sp.....	25
1.3.1 Préparation des milieux de cultures.....	25
1.3.2 Technique de repiquage.....	25
1. 3.3 Evaluation de la croissance mycélienne.....	27
1.3.4 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%).....	27
1.3.5 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM).....	28

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Paramètres organoleptiques des huiles essentielles.....	29
1.1 Rendements des huiles essentielles.....	29
2. Evaluation de l'activité antifongique " <i>in vitro</i> " des huiles essentielles de deux plantes aromatiques sur <i>Fusarium</i> sp.....	30
2.1 Effet de l'HE de <i>Rosmarinus</i> sp. vis-à-vis de <i>Fusarium</i> sp.....	30
2.2. Effet de l'huile essentielle de <i>Myrtus</i> sp. vis-à-vis de <i>Fusarium</i> sp.....	33
2.3 Effet des huiles essentielles de <i>Rosmarinus</i> sp. et de <i>Myrtus</i> sp. sur <i>Fusarium</i> sp.	35
3. Comparaison de l'effet des HEs de <i>Rosmarinus</i> sp. (HE1), de <i>Myrtus</i> sp. (HE2) et du mélange (HE1+ HE2) sur l'isolat de <i>Fusarium</i> sp	37
Conclusion.....	39
Références Bibliographiques.....	40
Annexes	

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribo nucléique.

AFNOR: Association française de normalisation.

APG III: Angiosperm Phylogeny Group.

CO₂: Dioxyde de carbone.

et *al* : et collaborateurs.

Listes des figures et des planches

Figure 01 : Aspect morphologique de <i>R. officinalis</i>	03
Figure 02 : Distribution de <i>Myrtus communis</i>	06
Figure 03 : Distribution de <i>Myrtus communis</i>	07
Figure 04 : Représentation des structures des terpènes et des terpénoïdes.....	11
Figure 05 : Différentes structures des mono terpènes.....	11
Figure 06 : Différentes structures des sesquiterpènes.....	12
Figure 07 : Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane.....	13
Figure 08 : Extraction par entraînement à la vapeur.....	14
Figure 09 : Appareillage type Clevenger utilisé pour l'hydro distillation d'huile essentielle.....	15
Figure 10 : Principe schématisé de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes.....	16
Figure 11 : Terminologie pour décrire la morphologie du genre <i>Fusarium</i> sp.....	20
Figure 12 : Cycle de <i>Fusarium</i> sp. Illustration des différents modes d'action.....	21
Figure 13 : Plantes aromatiques utilisées pour l'extraction des HEs.....	22
Figure 14 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de l'isolat <i>Fusarium</i> sp.....	23
Figure 15 : Montage d'extraction des HEs « entraînement à la vapeur ».....	24
Figure 16 : HEs extraites de <i>Rosmarinus</i> sp.....	29
Figure17 : Histogramme comparatif des rendements des deux plantes aromatiques <i>Rosmarinus</i> sp. et <i>Myrtus</i> sp.	30
Figure 18 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus</i> sp. (HE1) sur <i>Fusarium</i> sp.	30
Figure 19 : Effet de l'HE de <i>Rosmarinus</i> sp. sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp.	31
Figure 20 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet d'HE de <i>Rosmarinus</i> sp.....	31
Figure 21 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus</i> sp.....	32
Figure 22 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Myrtus</i> sp. (HE2) sur <i>Fusarium</i> sp.....	33
Figure 23 : Effet de l'HE de <i>Myrtus</i> sp. sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp.....	33
Figure 24 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet d'HE de <i>Myrtus</i> sp.....	34
Figure 25 : Vitesse de la croissance de <i>Fusarium</i> sp. sous l'effet d'HE <i>Myrtus</i> sp.	34

Figure 26 : Effet synergique des différentes concentrations des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i> (HE1 +HE2) sur le champignon <i>Fusarium sp.</i>	35
Figure 27 : Effet synergique des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i> (HE1 +HE2) sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium sp.</i>	35
Figure 28 : Taux d'inhibition de <i>Fusarium sp.</i> sous l'effet du mélange des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i> (HE+HE2)	36
Figure 29 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Fusarium sp.</i> sous l'effet du mélange des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i>	36
Figure 30 : Histogramme comparatif des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium sp.</i> sous l'effet des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i>	37
Figure 31 : Histogramme comparatif de la vitesse de croissance mycélienne de <i>Fusarium sp.</i> sous l'effet des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et de <i>Myrtus sp.</i>	38
Planche 01 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.....	10
Planche 02 : Mode d'extraction des huiles essentielles.....	13
Planche 03 : Protocole expérimental de l'activité antifongique des HEs de <i>Rosmarinus sp.</i> et <i>Myrtus sp.</i> sur le champignon <i>Fusarium sp.</i>	26

Liste des tableaux

Tableau 01: Caractéristiques des HEs du romarin et du myrte.....	29
--	----

Introduction

Introduction

Les plantes sont des usines biologiques naturelles. Elles produisent des substances biochimiques actives : huiles essentielles (HE), flavones, alcaloïdes, tanins,...et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (Croteau et *al.*, 2000).

Actuellement la recherche sur les bienfaits des plantes aromatiques voit son développement s'accroître, notamment avec les HE dont les domaines d'application sont nombreux aussi bien en médecine, en pharmacie ainsi que dans d'autres domaines tels que l'agroalimentaire, les industries chimiques, etc.

Les huiles essentielles des plantes des familles des Lamiacées et des Myrtacées sont très recherchées, car elles sont généralement dotées des propriétés biologiques intéressantes. Les effets bioactifs des HEs et des extraits se sont largement avérés être liés à leurs grande richesse en composés terpéniques et aromatiques dont les structures chimiques sont très diversifiées (Merghache et *al.*, 2016).

Le genre *Fusarium* est bien connu pour son rôle important en phytopathologie, il regroupe un grand nombre d'espèces qui ont a la capacité de provoquer des maladies sur de plantes cultivées, d'intérêt économique (Armstrong et Armstrong, 1981).

La plupart des huiles essentielles sont antiseptiques, antiviral, anti infectieuse et anti fongique c'est pour cette raison notre objectif, était de vérifier la possibilité d'utiliser les huiles essentielles de deux plantes aromatiques locales (*Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp.) comme bio-pesticide et cela par l'étude de leur pouvoir antifongique sur *Fusarium* sp..

Notre étude comporte deux parties, dont la première est consacrée à la synthèse bibliographique, elle est divisée en trois chapitres qui portent sur :

1. Aperçu bibliographique sur les plantes aromatiques étudiées (*Rosmarinus* sp. et *Myrtus* sp.)
2. Généralité sur les huiles essentielles
3. Aperçu bibliographique sur *Fusarium* sp.

La partie pratique est consacrée à l'évaluation de l'activité antifongique "*in vitro*" des HEs du romarin et du myrte sur le champignon *Fusarium* sp..

Elle finira par une conclusion résumant les résultats obtenus.

Partie

Bibliographique

Chapitre I:

Les plantes aromatiques étudiées

1. Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiaceae ou Labiatae communément appelées Lamiacées, Labiacées ou Labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin (Botineau, 2010). Cette famille est l'une des plus importantes de la flore en Algérie (Battandier et Trabut, 1988). Les Lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal (Botineau, 2010).

1.1 *Rosmarinus* sp.

1.1.1 Présentation du romarin

Le nom latin *Rosmarinus* est interprété, comme dérivé de "ros" rosée et "marinus" appartenant à la mer autrement rosée marin, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée (Guinochet, 1973). Le romarin est une plante aromatique originaire du littoral méditerranéen. Elle est prisée pour ses propriétés curatives depuis l'antiquité. Les médecins arabes tenaient le romarin en grande estime et l'utilisaient pour soigner un grand nombre de maladies.

La classification complète du genre *Rosmarinus* n'a été achevée qu'au début de ce siècle. Trois espèces ont été décrites : *Rosmarinus officinalis* L., *Rosmarinus eriocalyx* et *Rosmarinus tomentosus* (Maire, 1932, Garcia-Granados, 1987).

1.1.2 Description botanique

Le romarin est un arbrisseau de 50cm à 2m de haut, très répandu dans tout le bassin méditerranéen, il affectionne particulièrement les terrains calcaires retrouvés dans les garrigues. Il est aussi connu sous les noms de Rose marine, ou Encensier (Andrade, 2018). Il possède des feuilles persistantes, sessiles, étroites à bords retournés (Figure 01). Elles sont vertes chagrinées sur la face supérieure et tomenteuses blanchâtres sur le dessous. Les fleurs bleu clair ou lilas sont maculées de taches violettes et forment des inflorescences spiciformes (Bruneton, 2008).



Figure 01 : Aspect morphologique de *R. officinalis*. (Köhler, 1897 in Ouibrahim 2015).

1.1.3 Systématique du romarin

Selon Croquist (1981), la classification du romarin est comme suit :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida / Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Noms communs : Romarin, encensier, herbe aux couronnes, rose des marins, rose de la mer, Rose-Marie

Nom vernaculaire : Azir, barkella, haselban, Aklil, ikilil ljabal, klile (Algérie, Maroc, Tunisie) (Bellakhdar, 2006)

1.1.4 Répartition géographique

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (Quezel et Santa., 1963), le romarin est originaire du bassin méditerranéen (Iserin, 2001). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (Schauenberg et Paris, 1977).

1.1.5 Principaux composition chimique

La chimie du romarin est largement étudiée dans le monde entier mentionnant ici quelques études sur la composition de l'HE de *R. officinalis* L.

En 2010, Zaouali et ses collaborateurs ont identifié 25 composants représentant 93,6-97,5% du total de l'huile de romarin cueillie dans la région de Korbos, dont le 1,8 Cinéole (40 %), Camphre (17.9%), α -pinène (10.3%), Camphène (6.3%). Cette analyse de composition est cohérente avec ceux trouvé par d'autres chercheurs sur des échantillons méditerranéens de *R. officinalis* (Ayadi et al., 2015; Gharib et al., 2012).

Cependant l'HE de romarin de l'Italie et de la Turquie est riche principalement en α -pinène puis le camphre, le 1,8-cinéole et le verbanone (Celiktas et al., 2007). Alors que le verbanone était le composé majoritaire de l'HE de romarin de Portugal (Mata et al., 2007).

1.1.6 Propriétés biologiques du Romarin

À l'heure actuelle, la demande de romarin augmente en raison de son utilisation dans la médecine traditionnelle, les industries pharmaceutiques, les domaines cosmétiques et l'agro-industrie, pour la qualité de leur HE.

En raison de son activité antioxydant et antimicrobienne, l'HE de romarin est capable de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires et de maintenir leur qualité pendant le stockage (Zaouali et al., 2010). Outre, l'HE de *R. officinalis* possède une activité antibactérienne surtout contre les bactéries alimentaires pathogènes potentielles tels que la *Staphylococcus aureus* et l'*Escherichia coli* (Haida et al., 2015).

En plus d'agir comme un agent antioxydant, l'HE isolée de romarin possède divers avantages pour la santé et des effets thérapeutiques en traitant les problèmes gastriques et les troubles respiratoires (Ema , 2010). Les expériences menées avec l'HE de romarin ont démontré des effets pharmacologiques notables, tels que les effets anti-inflammatoires, antidépresseurs (Machado et al., 2013), améliorent la cognition (Moss et al., 2003), protecteur d'ADN (Slameňová et al., 2011)et anticancéreux(Wang et al., 2012).

2. Présentation de la famille des Myrtaceae

Les Myrtaceae ou Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de 5650 espèces (Govaerts et *al.*, 2008).

Selon Quezel et Santa (1963), les Myrtacées sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques. Elles sont des plantes à feuilles entières et opposées. Les fleurs axillaires sont hermaphrodites, à calice cupuliforme. Les étamines sont très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calicinal. Le gynécée est infère ou semi-infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux et à placentation axile. Les fruits sont bacciformes bleuâtres globuleux, de 5-8 mm de diamètre.

Le genre *Myrtus* Arbuste à feuilles ovoïdes, 2 à 3 fois plus longues que large, à nervation pennée. Fleurs grandes 10-15 mm, blanches, pourvues à la base de 2 bractées très petites, rapidement caduque. Baie ovoïde 6-8 mm. Rameaux pubescents dans leur jeunesse (Quezel et Santa, 1963).

2.1 *Myrtus sp.*

2.1.1 Présentation du myrte

Le myrte est une plante annuelle qui a été utilisée à des fins médicinales et alimentaires. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits ont été utilisés comme agent antiseptique et pour la cicatrisation des plaies ainsi que dans le traitement des maladies urinaires (Baytop, 1999).

2.1.2 Description botanique

C'est un arbuste de 1 à 3 mètres de haut, à tiges très ramifiées, dès la base. Ses buissons touffus et aromatiques portent des feuilles ovales lancéolées, luisantes, coriaces, opposées, par deux ou quelquefois par trois. Fleurs blanches odorantes solitaires à l'aisselle des feuilles, axillaires (figure 02). Périanthe à cinq sépales et cinq pétales; nombreuses étamines et un stylé saillant ; baies ovoïdes de couleur bleu-noir, couronnées par le calice (Quezel et Santa, 1963).



Figure 02 : Distribution de *Myrtus communis* (Martin, 2018)

2.1.3 Systématique de *Myrtus* sp.

D'après la classification de Croquist en 1981, la taxonomie de *Myrtus* sp. est la suivante:

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida / Dicotylédones

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Myrtus*

La classification APGIII (2009) ou classification phylogénétique, classe la famille des Myrtaceae au sein des clades suivants: les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales. Au sein des Myrtaceae, on trouve des arbres et des arbustes très fréquemment producteurs d'huiles aromatiques (Eucalyptus, Melaleuca, Myrtus...) à usage thérapeutique

Le myrte est connu sous différentes dénominations selon les pays :

Arabe : Riḥane arrayan, A'as, الریحان, أس

Berbère: Tarihant

Français : Myrte

2.1.4 Répartition géographique

Le myrte pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude (Rameau et *al.*, 2008), il se développe au sein des matorrals thermophiles. Il se trouve à l'état sauvage en Corse, au Maroc, en Tunisie et dans les Balkans (Figure 03). Les feuilles de myrte sont récoltées de mai à septembre en laissant les deux tiers sur l'arbre pour préserver sa productivité.



Figure 03 : Distribution de *Myrtus communis* (Migliore, 2011).

2.1.5 Principaux Composition chimique

Aidi et ses collaborateurs (2010), ont étudié la composition chimique de l'HE de Myrte (*Myrtus communis*) de différentes parties de la plante (feuille, fleurs et tiges) cueillie de la région de la Houaria (Nord-est de la Tunisie). Ils ont rapporté que la composition de l'HE extraite des feuilles et des fleurs de myrte était caractérisée par de fortes proportions en α -pinène de l'ordre 58 de 58,05%, 17,53%, respectivement. Alors que le 1, 8-cinéole (32,84%) était le composé majoritaire de l'HE extraite des tiges.

D'autres études ont montré que l'acétate de myrte était le principal composant des HES obtenues à partir de différentes parties du myrte du Portugal et de la Croatie (Jerkovic et *al.*, 2002). La composition chimique de l'HE de myrte de la Turquie a été étudiée par GC-MS ; les composants majoritaires identifiés étaient 1,8-cinéole (50.13%), Linalool (12.65%), α -terpineol (7.57%), limonène (4.26%) (Akin et *al.*, 2010).

L'HE de *Myrtus communis* de l'Algérie a révélé une teneur de 95.98% de la totalité de l'huile dont le 1,8-cinéole (46.98%) et le Cis-géranol (25.18%) sont les principaux composants.

2. 1.6 Propriétés biologiques de Myrte

L'HE de myrte a montré une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *S. épidermoïdes*, *E. coli*, *Serratia marcescens* et *Candida albicans* (Salvagnini et al., 2008). Cette activité est due principalement à la présence des composés actifs dans l'huile tels que 1,8-cinéole, Linalool et le α -terpinéol (Jerkovic et al., 2002 in Yahyaoui, 2020).

Des auteurs ont montré que l'HE de *Myrtus communis* a une activité antifongique importante contre *Aspergillus niger*, dont α -pinène et le limonène sont parmi les composants majoritaires qui contribuent à cette forte activité (Rasooli et al., 2010). Même aussi ses constituants minoritaires tels que : Myrténol, Linalol, et l'Eugénol peuvent contribuer à cet effet en fonctionnant en synergie (Derwich et al., 2010).

Chapitre II:

Les huiles essentielles

1. Historique des huiles essentielles

Les essences parfumées connues dès l'origine des civilisations, furent d'abord utilisées pour des usages sacrés. Rites funéraires, embaumement des morts, onctions des élus, sacrifices aromatiques aux ancêtres et aux divinités apparaissent comme une constante des mondes antiques (Sangwan *et al.*, 2001), de la Chine à la Perse et de l'Arabie à la Grèce (Blanc-Mouchet, 1987). Le nom huile essentielle a été inventé au 16^{ème} siècle par le réformateur suisse de la médecine, Paracelsus von Hohenheim qui a appelé le composant efficace essentiel de Quinta de drogue (Guenther, 1948). Trois milles huiles essentielles environ sont connues, dont environ 300 sont destinées à un usage commercial (Van de Braak et Leijten, 1999).

1. 1 Définition des huiles essentielles

L'huile essentielle est définie comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro-distillation » (AFNOR, 1980).

1. 2 Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que les Lamiacées, les Conifères, les Rutacées, les Apiacées, les Myrtacées et les Poacées (Lakhdar, 2015). Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal (Lamendin, 2004) comme les sommités fleuries (ex : Lavande, Menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex : Vétiver, Gingembre), dans les écorces (ex : Cannelles), le bois (ex : Camphrier), les fruits (ex : Citron), les graines (ex : Muscade). Elles sont contenues dans des structures spécialisées, à savoir, les poils, les canaux sécréteurs et les poches (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). présente dans (Planche 01)

2. Composition chimique des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les mono terpènes (myrcène, β -pinène, γ -terpinène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène) (Croteau *et al.*, 2000).

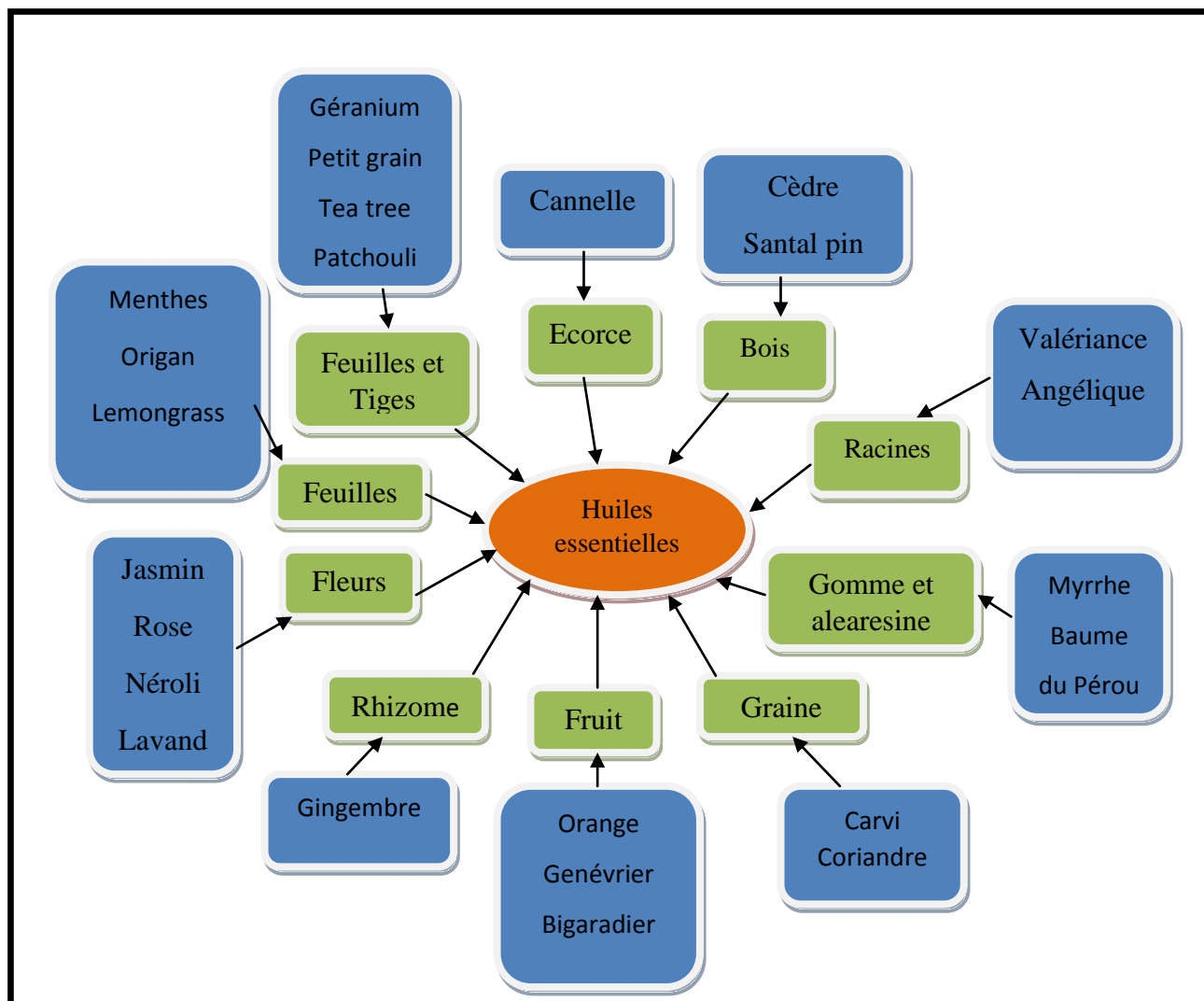


Planche 01 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes
(Deschepper, 1990).

2. 1 Composés terpéniques

Les huiles essentielles sont constituées d'un certain nombre de composés terpéniques (Figure 04), généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène (Baser et Buchbauer, 2010).

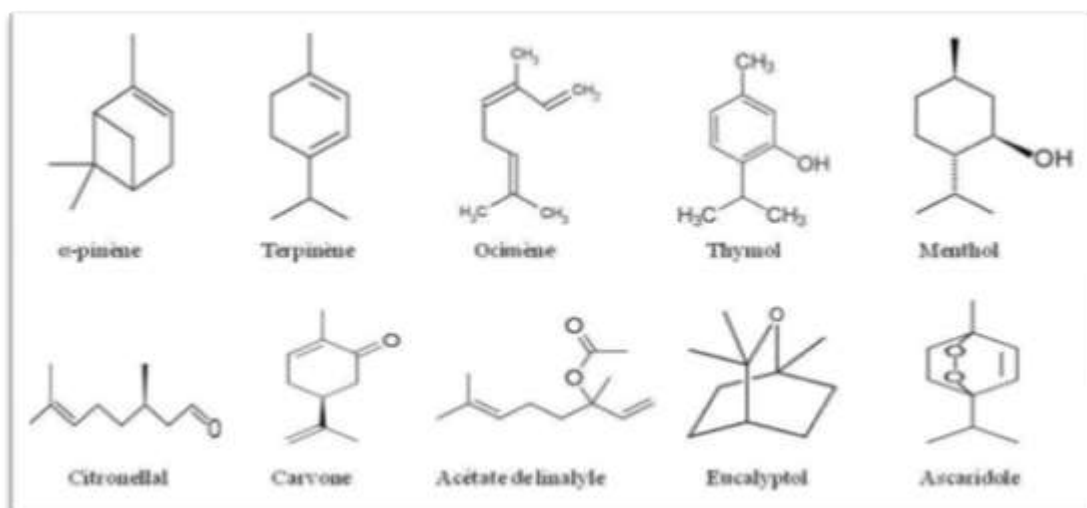


Figure 04 : Représentation des structures des terpènes et des terpénoïdes (Fillatre, 2011).

2. 2 Mono terpènes

Il existe les mono terpènes acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène) (Figure 05). Grace à la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, elles peuvent se rattache à un certain nombre de molécules (Bruneton, 2008).

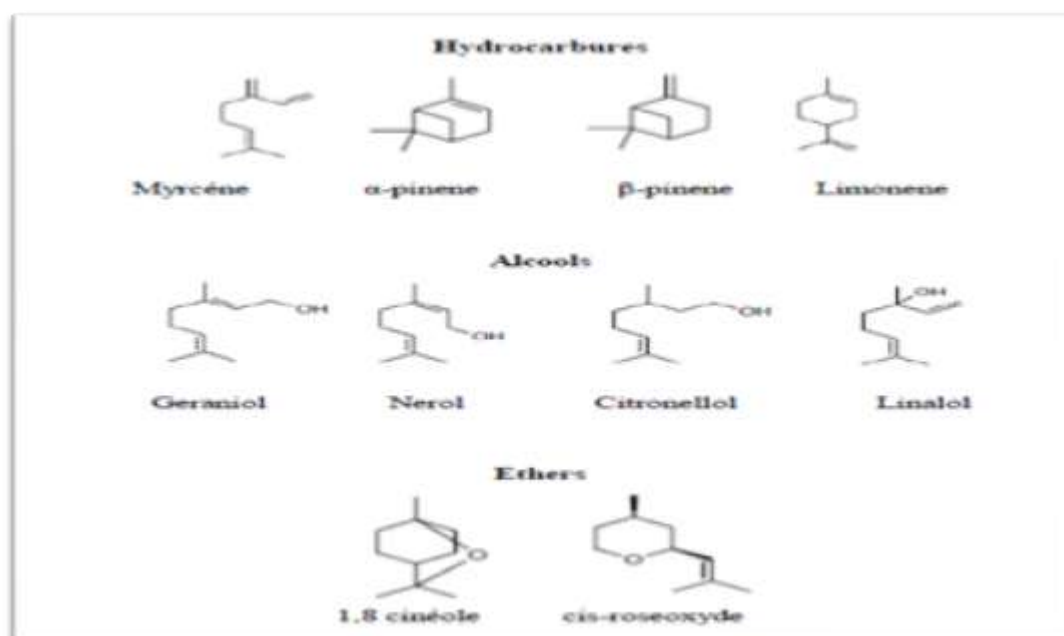


Figure 05 : Différentes structures des mono terpènes (Baser et Buchbauer, 2010 in Ouibrahim 2015).

2. 3 Sesquiterpènes

Ils sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C₅H₈), il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, ils contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol et farnésol (figure06). On trouve aussi les dérivés méthoxy comme Anéthole, Elemicine, Estragole, Methyl Eugenols et les composés dioxyméthylène (Apiole et Myristicine) (Bruneton, 2008).

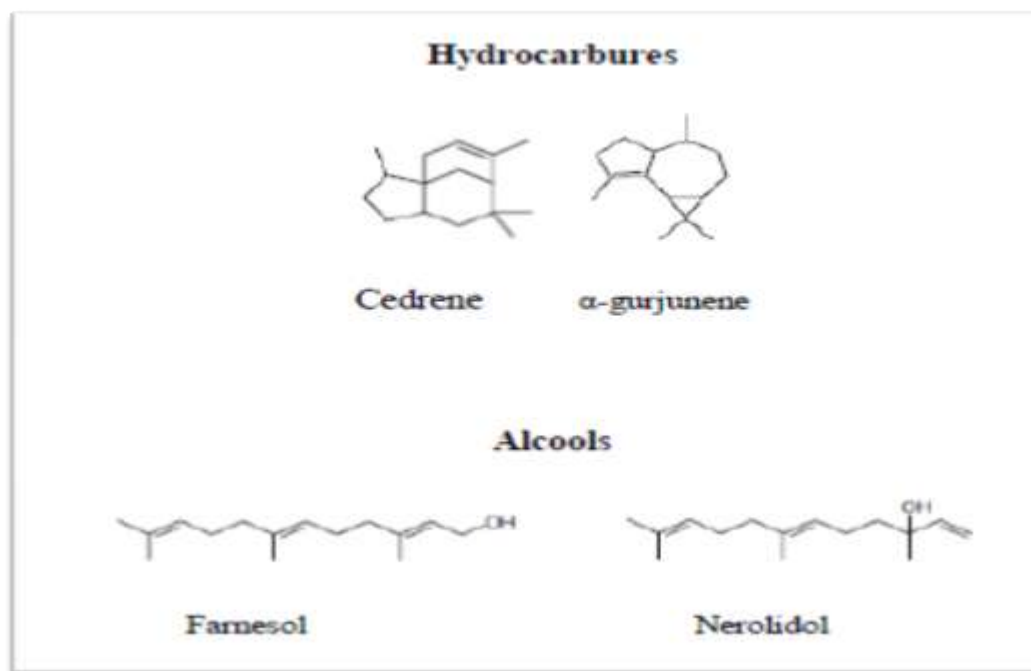


Figure 06: Différentes structures des sesquiterpènes (Baser et Buchbauer, 2010)

3 . Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃. Ils sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent comprendre des phénols (chavicol, eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrole) (Bakkali et *al.*, 2008). La structure des différentes molécules est présente dans la Figure 07.

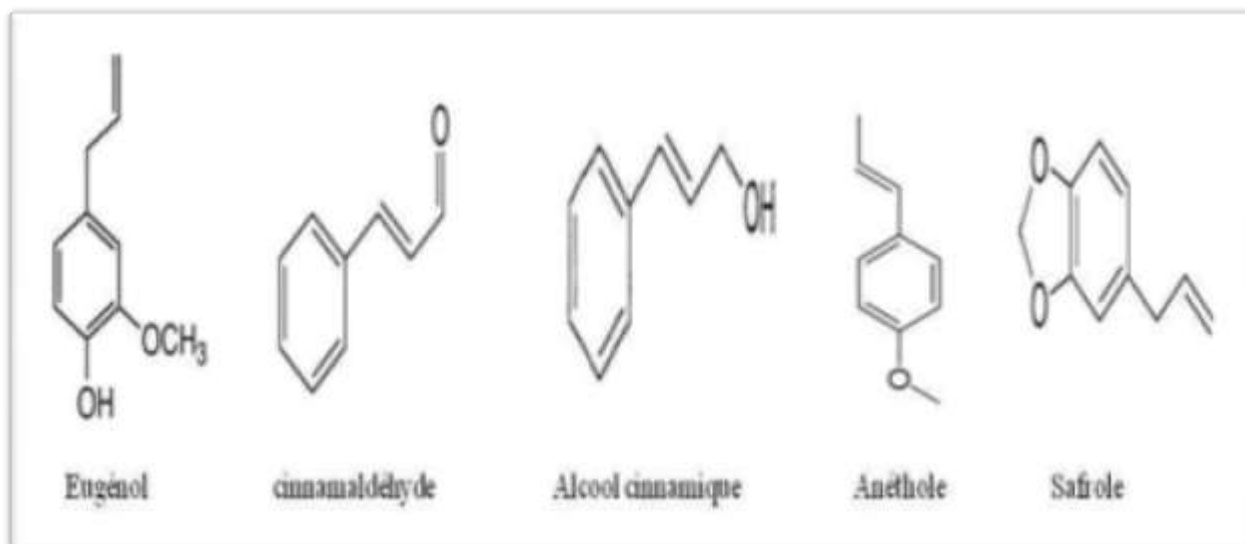


Figure 07: Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane (Fillatre, 2011)

4. Techniques d'extraction

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreuse et divers procédés basés sur des techniques anciennes (planche 02) :

Distillation ,expresion ,enflerage ou incision ou plus recents : extraction sous irradiation micro -ondes ou par ultra sons (Luque de Castro et *al.*, 1999).

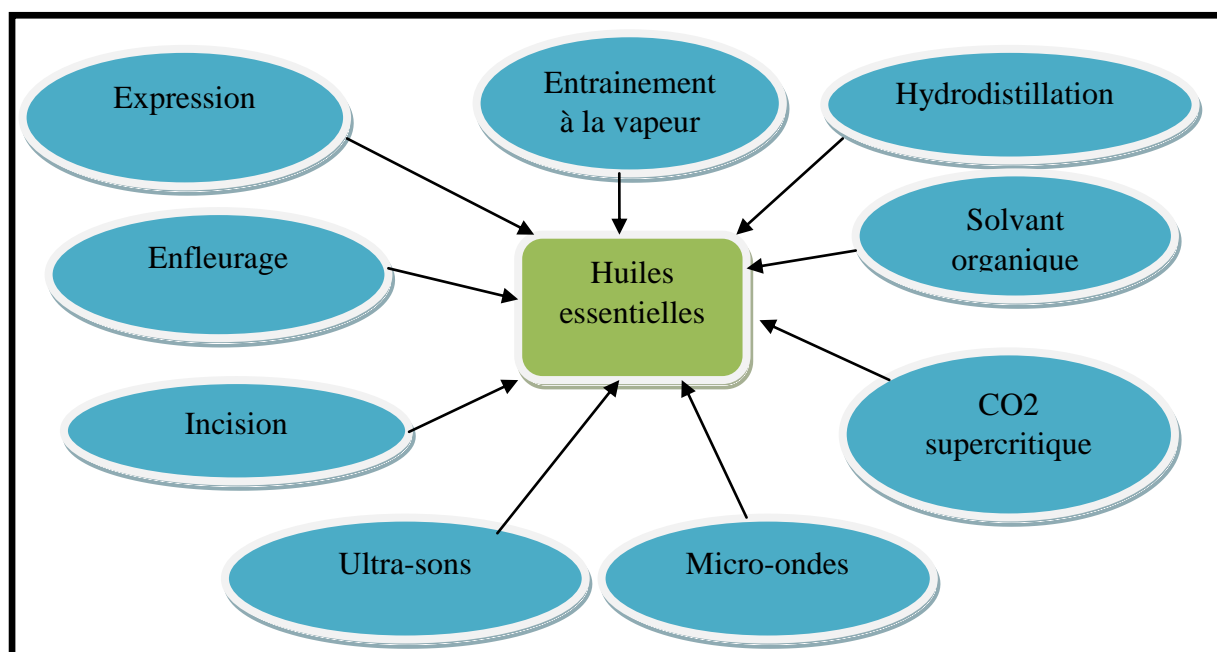


Planche 02: Mode d'extraction des huiles essentielles (Lupus de Castro et *al.*, 1999).

4.1 Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (figure 08).

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)

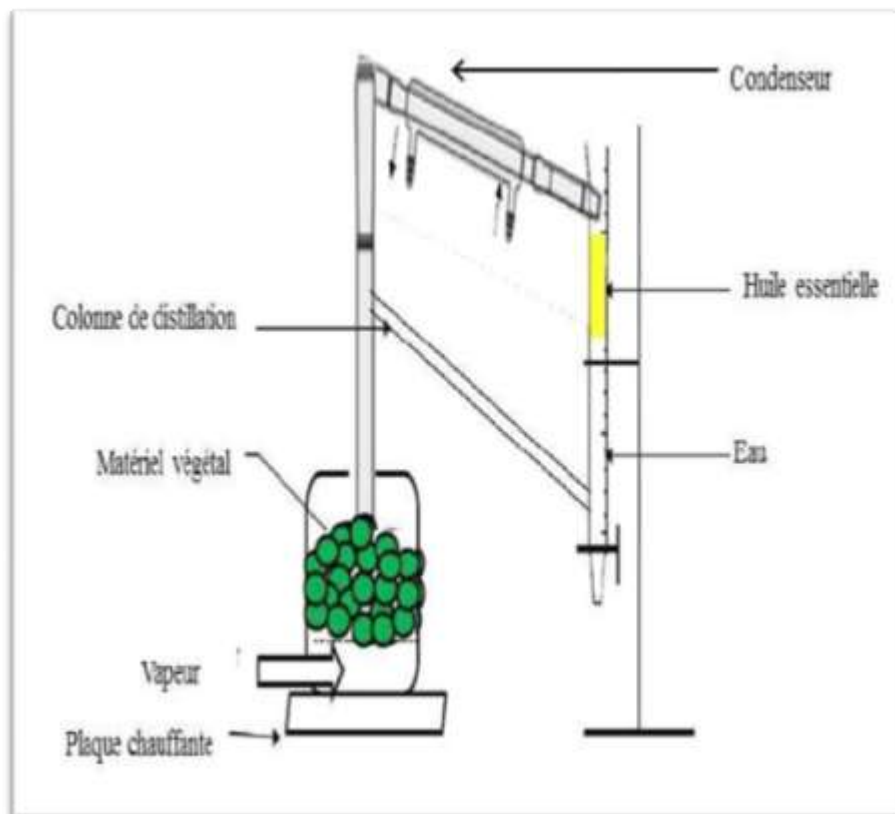


Figure 08 : Extraction par entraînement à la vapeur (Mnayer, 2014).

4.2 Hydro-distillation (HD)

Elle est réalisée dans un appareil dit de Clevenger et elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (entier, coupé ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide (Figure 09). En effet, les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic ou du réacteur progressent puis se condensent. Le condensat est récupéré dans la partie où l'huile se sépare de la phase aqueuse. L'eau en excès retourne dans l'alambic (Belaïche, 1979).

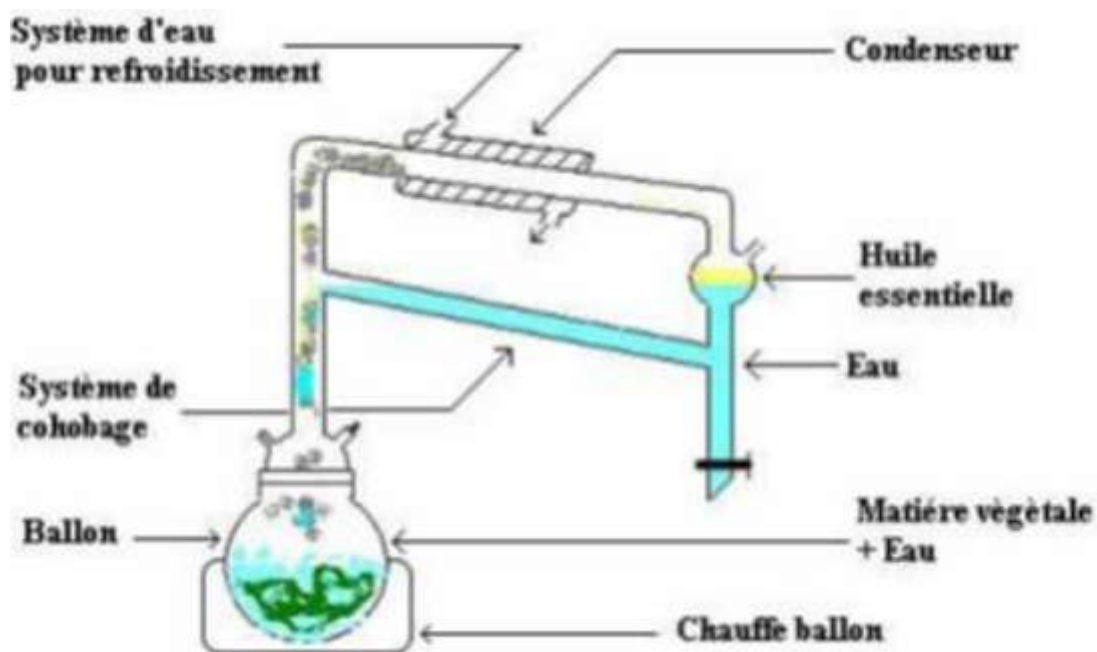


Figure 09: Appareillage type Clevenger utilisé pour l'hydrodistillation d'huile essentielle (El Kalamouni, 2010).

4.3 L'extraction par enfleurage

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par d'autres fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les H.E sont séparés (Moro-Buronzo, 2008).

4.4 L'extraction par les solvants volatils

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles.

Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue » (Duraffourd et *al*, 1990).

4.5 Hydro distillation par micro-ondes

Méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydro distillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie (température plus basse) et de qualité supérieure à l'hydro distillation traditionnelle (Figure10). Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle : l'HE est alors entraîné dans un mélange azéotrope formé par la vapeur d'eau de la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) (Skaria , 2007).

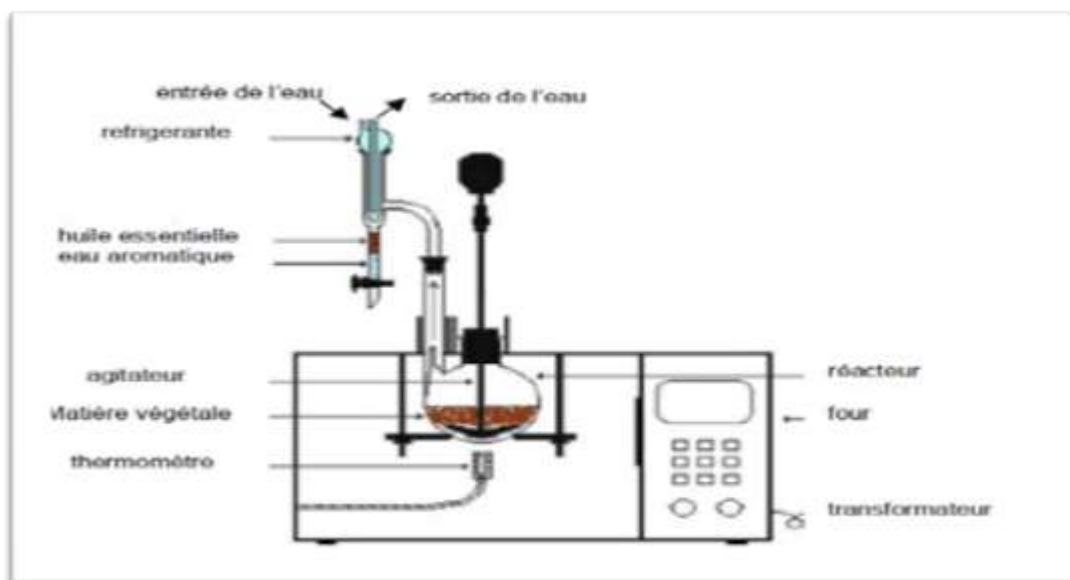


Figure 10 : Principe schématisé de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes (Lagunez-Rivera, 2006).

4.6 Extraction au CO₂ supercritique

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO₂ à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO₂ car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux. Le CO₂ a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. Tous ces avantages permettent à ce procédé de se développer malgré un investissement financier important (Baysal et Starmans, 1999).

5. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Rakotonanahary, 2012), qui a des propriétés communes représentées dans les points suivants :

- Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes.
- Elles sont plus ou moins colorées et peuvent conférer leur odeur à l'eau. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.
- Leur indice de réfraction et pouvoir rotatoire sont très élevés.
- Elles sont entraînaibles par la vapeur d'eau et solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau.
- Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux. Il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

6. Les principales propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés

6.1 Propriétés antibactérienne

Les H.E les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à HE riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autre préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E.coli*, *S.aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* sp. et *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

6.2 Propriétés antivirale

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales, comme l'HE de Ravintsara, l'HE de Bois de Hô, ou l'HE de Cannelle de Ceylan (Willem, 2002)

6. 3 Propriétés antifongique

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (Kalemba et Kunicka, 2003).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge. Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Voukou et *al*, 1988).

Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique phénols> Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actifs (Yen et Chang, 2008).

En général, les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique sont rapides, moins coûteuses et facile à réaliser. L'activité contre les mycètes filamenteux peut être évaluée par la méthode de diffusion et de la dilution avec les mêmes inconvénients et avantages pour les analyses antibactériennes (Wilkinson, 2006). L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles peut être effectuée par la méthode de micro atmosphères (Mohammedi et *al*, 2010).

6. 4 Propriétés antiparasitaire

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires (Willem, 2002).

6. 5 Propriétés antiseptique

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (Willem, 2002).

Chapitre III:

Fusarium sp.

1. Présentation de champignons du genre *Fusarium sp.*

Les champignons du genre *Fusarium* appartiennent aux hyalo-hyphomycètes et présentent un mycélium septé et incolore. En culture, les colonies présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes (Alves-Santos et *al.*, 1999). Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur des conidiospores courts et densément branchés. Les conidies sont de trois types : macro conidies, micro conidies et blast conidies. Les macro conidies falciformes, avec plusieurs septa transverses, une extrémité apicale crochue et une base pédicellée sont produites en basipétale (croissance à partir de la base) par les monophialides ou les sporodochia (agrégats de conidiophores) et sont accumulées en masse. Les micro conidies sont ellipsoïdes, ovoïdes, subsphériques, pyriformes, claviformes ou allantoidiennes, généralement unicellulaires et présentent une base arrondie ou tronquée. Elles sont produites en séries basipétales sur des mono ou poly phialides et accumulées en petites têtes ou en chaînes. Les blastoconidies sont produites séparément sur des cellules polyblastiques et présentent de 0 à 3 septa. Des chlamydospores, souvent présentes, sont hyalines ou pâles, intercalaires ou terminales et possèdent une paroi épaisse (De Hoog et *al.*, 2011).

1. 1. Taxonomie

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*

1. 2 Caractères culturels généraux

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C.

Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les

espèces. Le Revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993).

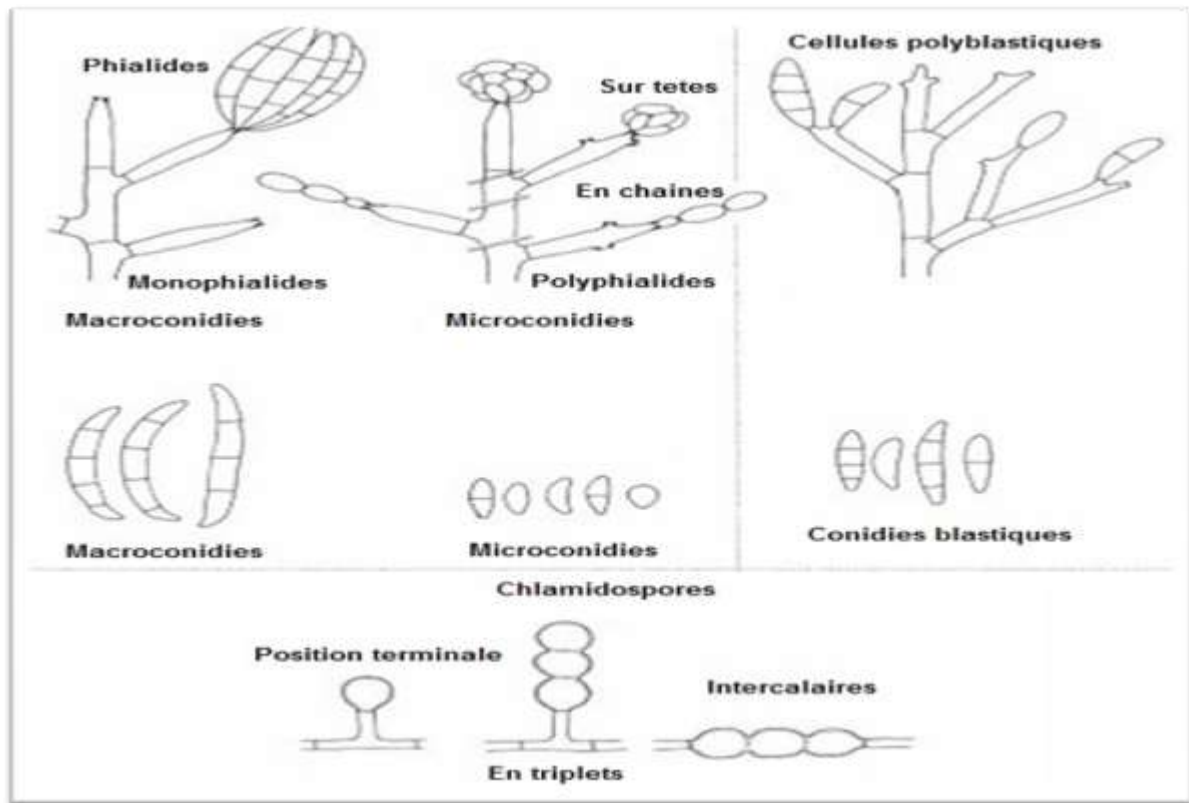


Figure 11 : Terminologie pour décrire la morphologie du genre *Fusarium* (De hoog et al., 2011).

1. 4 Cycle biologique

Le *Fusarium* responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, chez les légumineuses, est transmis essentiellement par les semences, mais peut aussi provenir du sol où il se conserve sous forme de spores durables. Parasitant les caryopses, le *Fusarium* peut être présent à la surface, soit à l'état de spores libres, soit sous forme de petites colonies mycéliennes. Plus fréquemment, il est interne et se localise dans le péricarpe ou plus profondément dans les téguments séminaux et l'embryon. Présent autour de ce dernier sous forme de mycélium, les caryopses germent et donnent des plantules qui présentent des faciès caractéristiques durant le cycle vital de la plante hôte (Champion, 1997). Les plantules détruites par le parasite, en pré-émergence comme en post-émergence, constituent une source de contamination par des plantes voisines, c'est le premier foyer infectieux. En effet, le parasite édifié sur la plantule détruite des coussinets sporifères qui sont les spores entraînés par le vent et par la pluie. Ces spores vont infecter les autres plantes ou contaminer le sol. Au cours des périodes successives de croissance jusqu'à celles de la reproduction de la plante puis la maturité des graines, le *Fusarium*, d'abord localisé au niveau des parties souterraines,

se développe et sporule abondamment (Figure 12). Il constitue ainsi un deuxième foyer d'infection qui favorise la dissémination de la maladie aux plantes voisines. La maladie se perpétue, ainsi d'une année à une autre, soit par les caryopses infectés qui hébergent le parasite, soit par les spores formées sur la plante parasitée durant tout le cycle végétatif, soit enfin par contamination du sol (Caron, 2000).

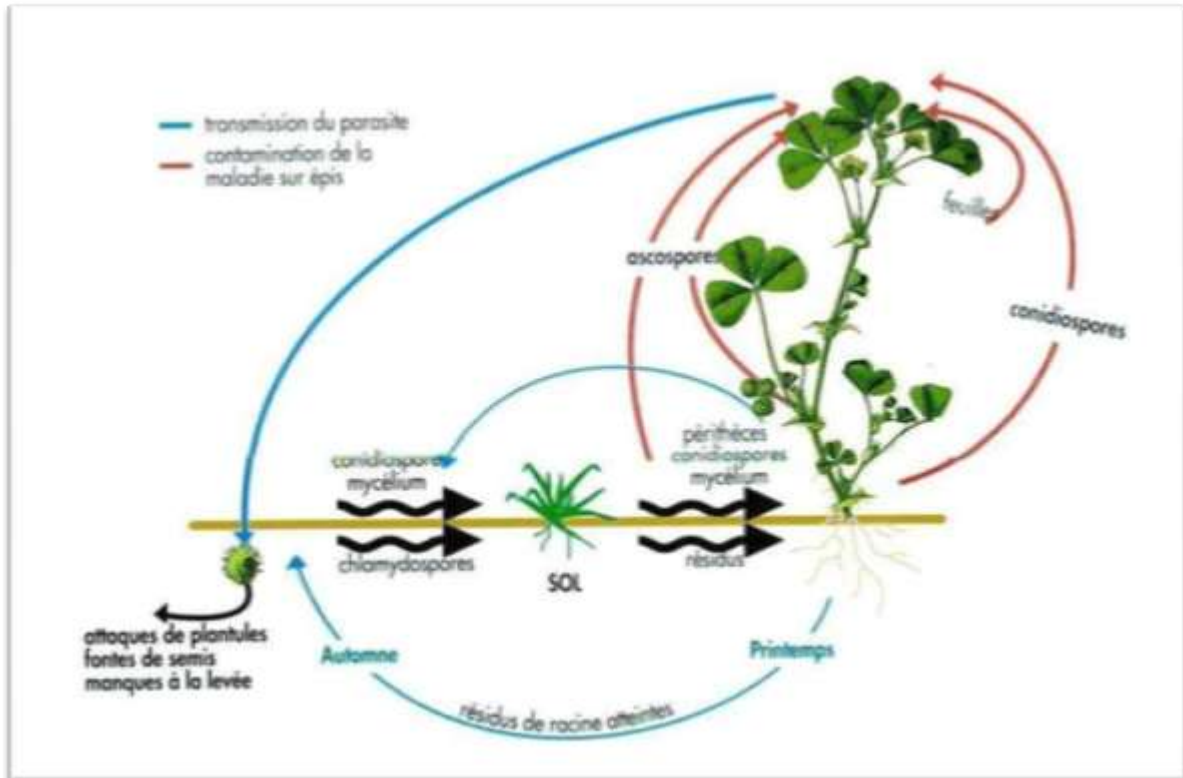


Figure 12: Cycle de *Fusarium sp.* illustration des différents modes d'action (Caron, 2000).

Partie expérimentale

Chapitre I:

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Le présent chapitre est consacré à l'évaluation de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp. sur la croissance de l'agent pathogène *Fusarium* sp.

1.1 Matériels biologique

1.1.1 Matériel végétal

Les huiles essentielles étudiées ont été extraites à partir de deux plantes aromatiques (*Rosmarinus* sp. et *Myrtus* sp.). Le romarin a été récolté le mois de Mars, du jardin de l'université Abdelhamid Ibn-Badis (l'ITA). Les feuilles sèches du myrte ont été achetées du marché local de la ville de Chlef (la plante a été préalablement récoltée dans la région de Beni Hawa).

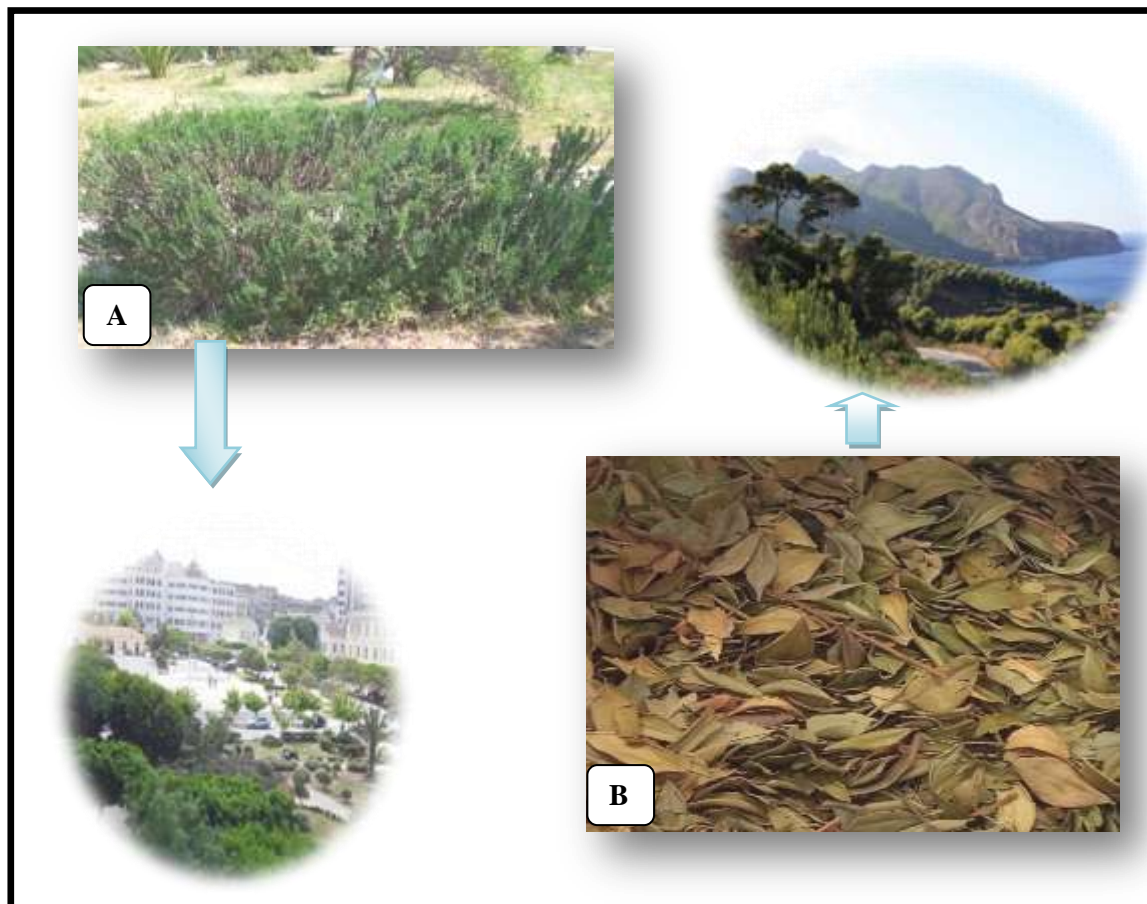


Figure 13 : Plantes aromatiques utilisées pour l'extraction des HEs. **A** : *Rosmarinus* sp. et **B** : *Myrtus* sp. (Originale, 2021)

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.

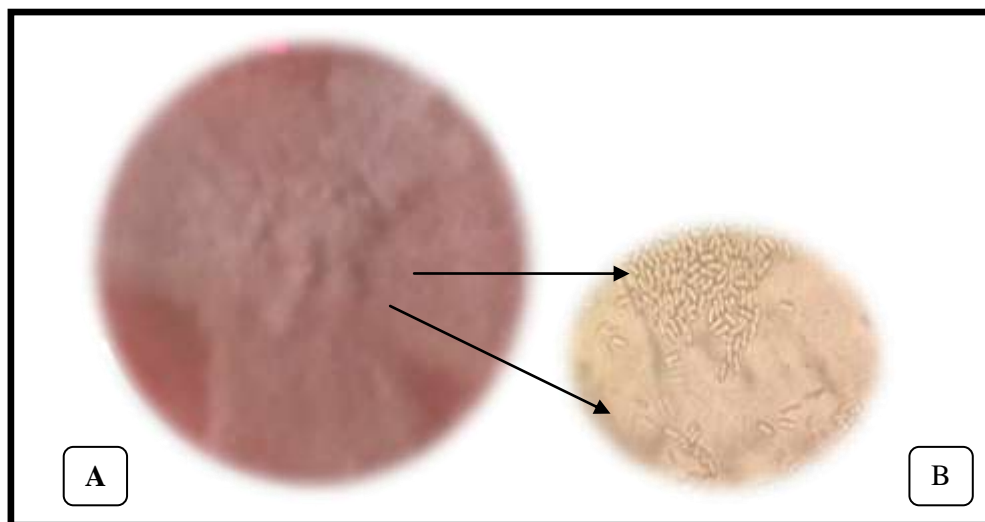


Figure 14 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de l'isolat *Fusarium* sp.

1. 2 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée dans le laboratoire de biochimie de l'université de Mostaganem à l'aide d'un dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau. Cela en triant et nettoyant 700 g de *Rosmarinus* sp. et 500g de *Myrtus* sp.. Le matériel végétal a été placé sur une grille métallique et introduit dans une cocote minute contenant de l'eau. Cet ensemble est porté à ébullition pendant deux heures et les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau (figure 15). La vapeur d'eau et les molécules aromatiques condensées ont été récupérées dans un tube gradué dans lequel la décantation a été effectuée. La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de le récupérer facilement. Après extraction, les volumes des huiles essentielles obtenus ont été mesurés puis conservés dans des flacons hermétiques (couverts avec du papier d'aluminium) dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.

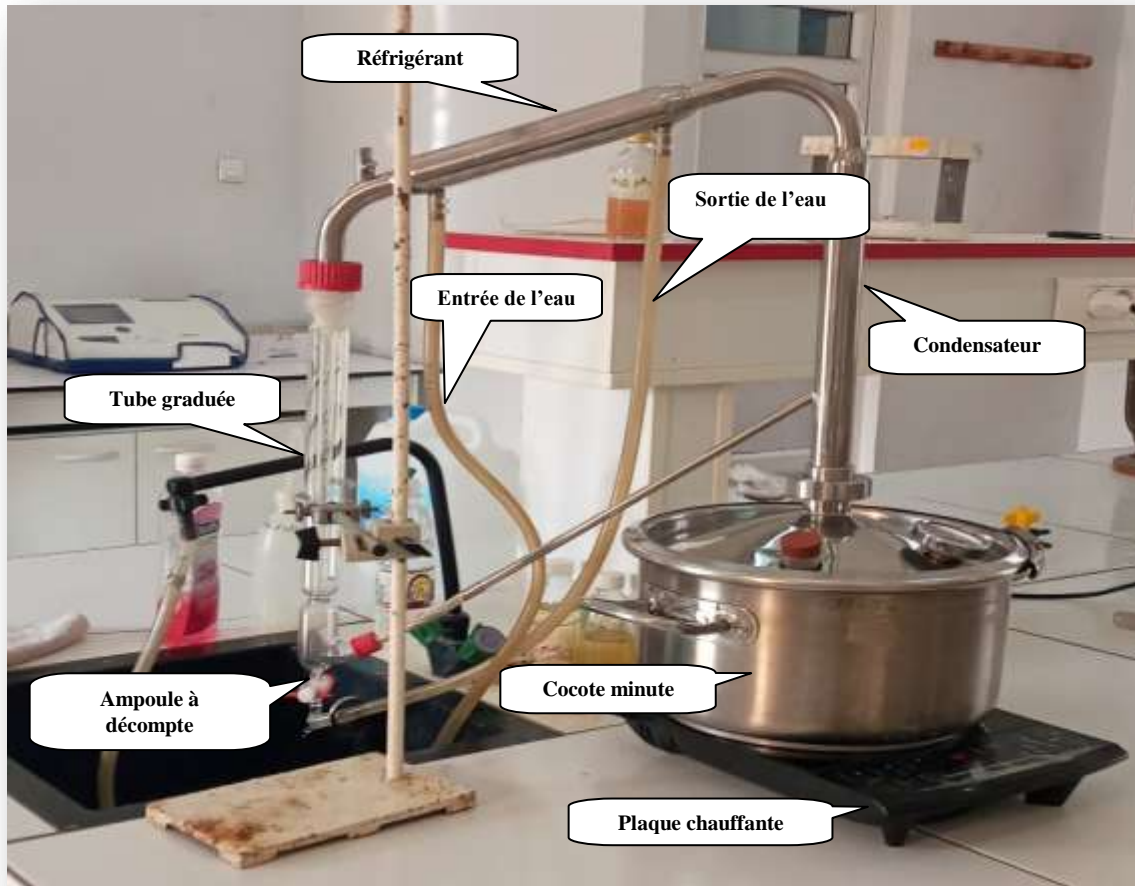


Figure 15: Montage d'extraction des HEs « entraînement à la vapeur » (Originale, 2021).

1. 2.1 Détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé en pourcentage. Après récupération des huiles essentielles, le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (Ph / PP) \times 100$$

R : Rendement en HE exprimé en pourcentage (%)

Ph : Poids de l'HE en gramme

Pp : Poids de la masse végétative en gramme

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

1.3.1 Préparation des milieux de cultures

Le milieu de culture utilisé pour le repiquage du *Fusarium* sp. est le PDA. L'huile essentielle à tester est incorporée à ce milieu pour étudier son activité antifongique sur le champignon pathogène.

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%, 0.0062%). Les HEs des deux plantes aromatiques (*Rosmarinus* sp. et *Myrtus* sp.) ont été incorporées à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Le mélange de chacun des milieux, est coulé dans des boites de Pétri étiqueté.

1.3.2 Technique de repiquage

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

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 de la souche étudiée. Les mesures sont prélevées jusqu'au remplissage des boites des témoins.

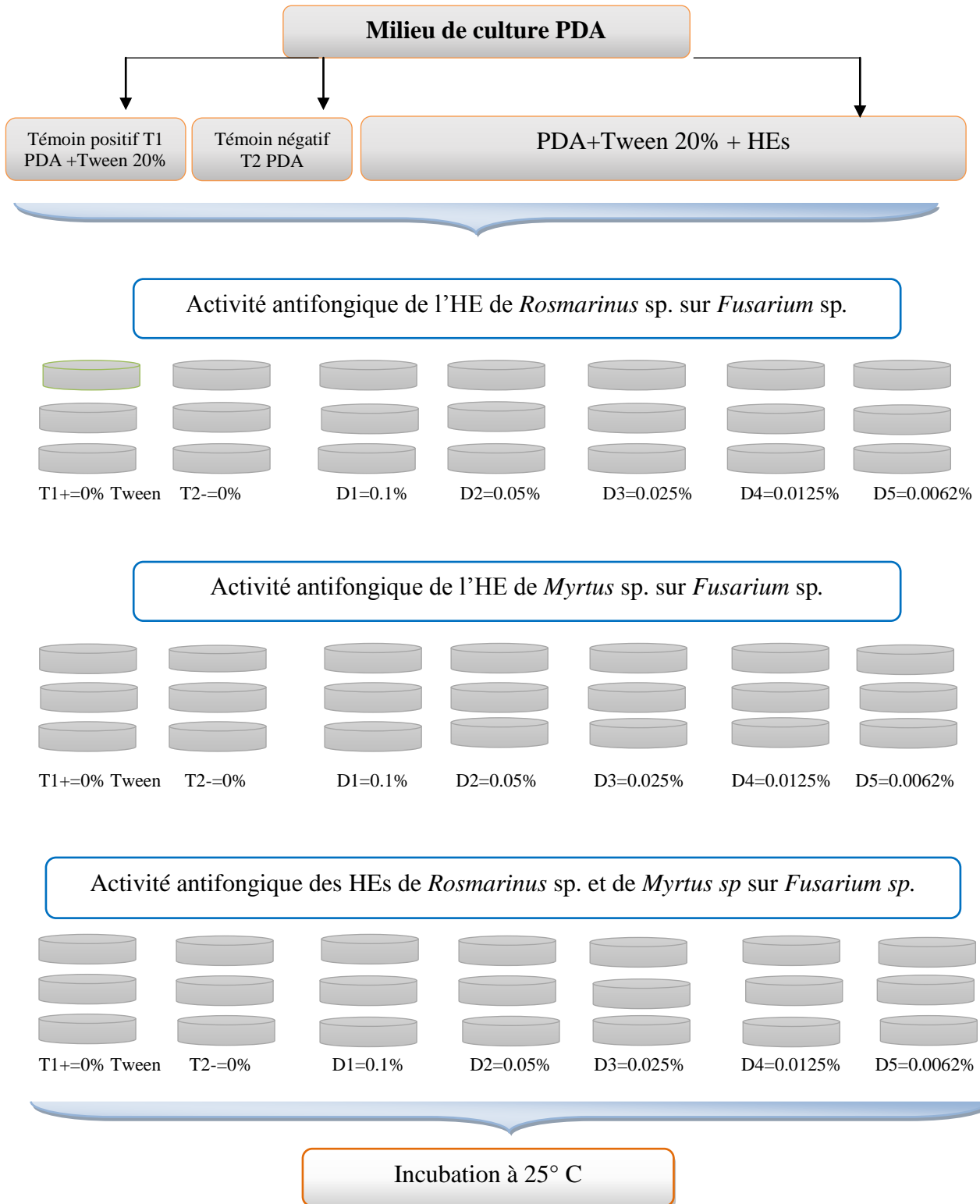


Planche 03 : Protocole expérimental de l'activité antifongique des HEs de *Rosmarinus* sp. et *Myrtus* sp. sur le champignon *Fusarium* sp.

1.3.3 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 mycéliens.

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

1.3.4 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 témoins

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.

1.3.5 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 suivante :

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

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. Paramètres organoleptiques des huiles essentielles

Les paramètres organoleptiques des huiles essentielles obtenues par entraînement à la vapeur des deux plantes aromatiques ; *Rosmarinus sp.* et *Myrtus sp.* (Figure 16) sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Caractéristiques des HEs du romarin et du myrte

Origine de l'HE	Couleur	Odeur	Aspect
<i>Rosmarinus sp.</i>	Jaune	Fort odeur	Liquide
<i>Myrtus sp.</i>	Jaune claire	Fort odeur	Liquide



Figure 16: HEs extraites de *Rosmarinus sp.* (A) et *Myrtus sp.* (B) (Originale, 2021).

1.1 Rendements des huiles essentielles

La figure 17 récapitule les résultats des rendements moyens des HEs extraites à partir de 700 g de *Rosmarinus sp.* et 500 g de *Myrte sp.*

Le rendement de l'HE de la plante aromatique *Rosmarinus sp.* est de l'ordre de 0.36%, tandis que la plante *Myrtus sp.* a fournis un rendement d'HE d'environ le double (0.64%).

Un écart entre les rendements en HEs extraite de *Rosmarinus sp.* et celle extraite de *Myrtus sp.* a été observé pour ces deux plantes aromatiques qui ne font pas partie de la même famille botanique (Lamiacée et Myrtacée). La différence est due à plusieurs facteurs comme; l'aspect de plante lors de l'extraction (fraîche ou séchée), les facteurs écologiques notamment climatiques, l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance...ect.

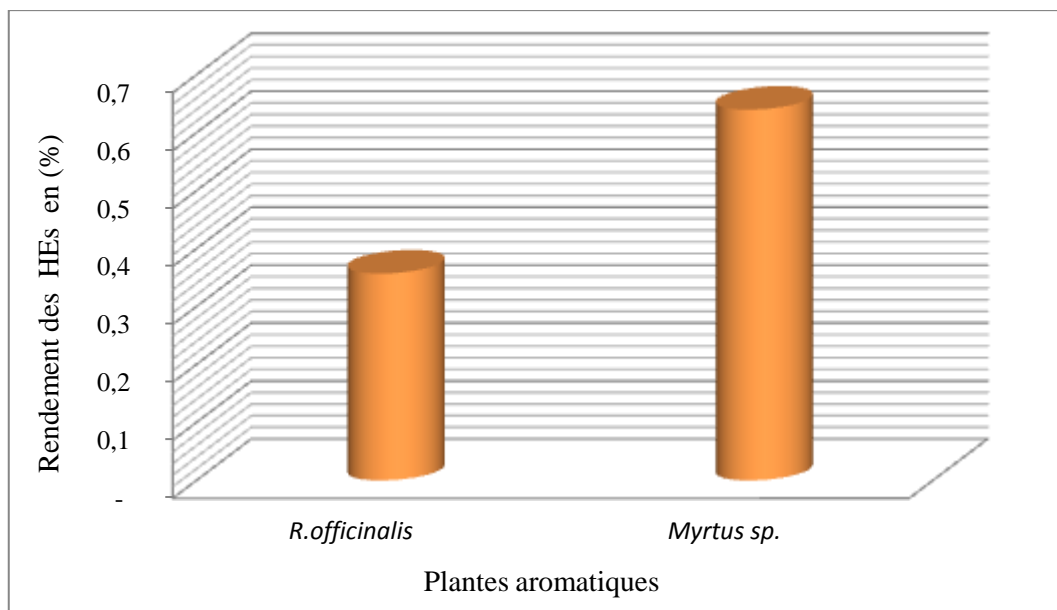


Figure 17 : Histogramme comparatif des rendements des HEs de deux plantes aromatiques *Rosmarinus sp.* et *Myrtus sp.*

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 *Rosmarinus sp.* vis-à-vis de *Fusarium sp.*

La figure 18 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 *Rosmarinus sp.* (HE1) sur l'isolat de *Fusarium sp.*

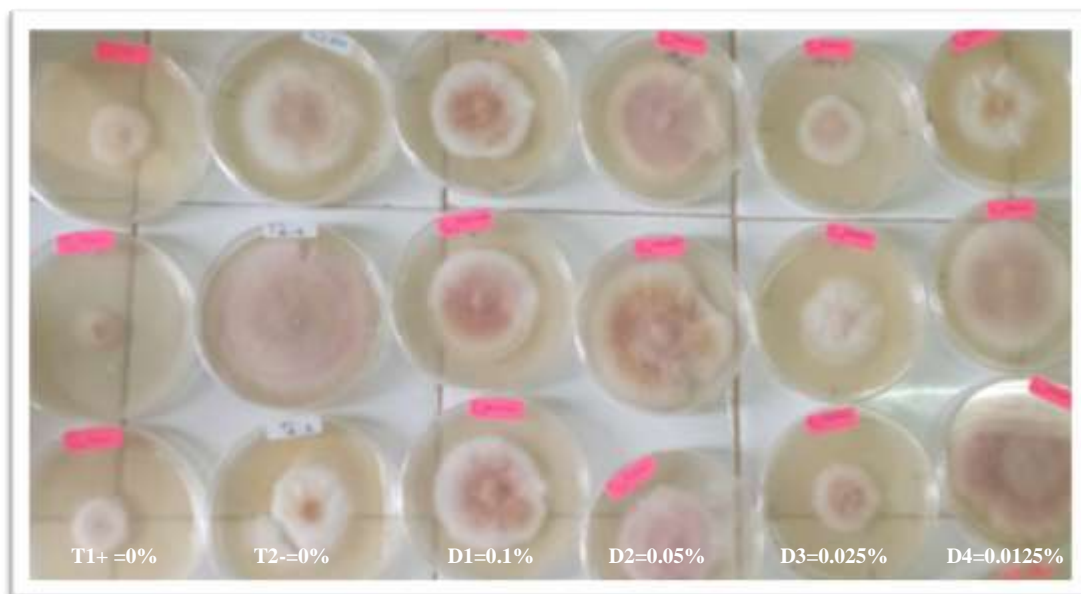


Figure 18 : Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Rosmarinus sp.* (HE1) sur *Fusarium sp.* (Originale, 2021)

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

La figure 22 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 *Myrtus* sp. (HE2) sur l'isolat de *Fusarium* sp.



Figure 22: Effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Myrtus* sp. (HE2) sur *Fusarium* sp. (Originale 2021).

2.3 Effet des huiles essentielles de *Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp. sur *Fusarium* sp.

La figure 26 montre l'effet du mélange des huiles essentielles de *Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp. (HE1 +HE2) sur le champignon *Fusarium* sp..

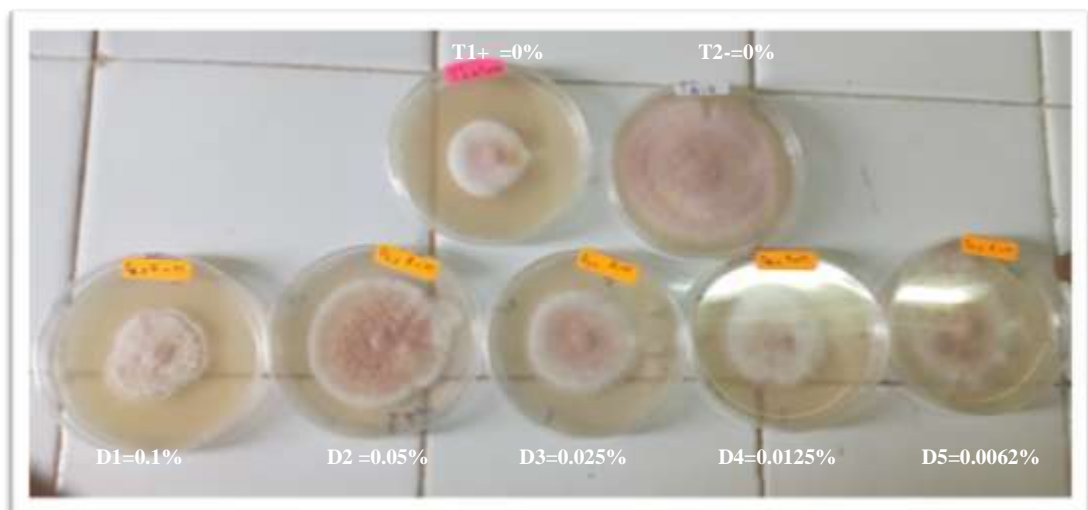


Figure 26: Effet synergique des différentes concentrations des HEs de *Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp. (HE1 +HE2) sur le champignon *Fusarium* sp. (Originale 2021)

Conclusion

Conclusion

Cette étude concerne la valorisation des substances naturelles afin de trouver des alternatives biologiques qui remplacent les pesticides chimiques. Ce travail est une contribution à l'étude de l'efficacité des huiles essentielles de deux plantes aromatiques appartenant aux familles des Lamiacées et des Myrtacées sur le pathogène *Fusarium* sp..

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur et les résultats obtenus montrent que les plantes utilisées possèdent des rendements divers en HE, qui sont de 0.36% et de 0.64% respectivement pour *Rosmarinus* sp. et *Myrtus* sp.

Les résultats de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus* sp. et de *Myrtus* sp. sur *Fusarium* sp., montrent une capacité inhibitrice moyenne de ces huiles contre la croissance mycélienne du champignon testé à la dose de 0,1%.

L'agent pathogène a présenté une résistance à l'HE de *Rosmarinus* sp. aux concentrations de 0.05%, 0.025% 0.0125% avec respectivement des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de 18,75% , 17,45% et 16,16%. Pour l'huile de *Myrtus* sp. les taux d'inhibition n'ont pas dépassé 16 ,50% pour les concentrations 0.025%, 0.0125% ,0.0062%.

Comme perspectives, il serait nécessaire de relancer ces tests en utilisant des doses plus importantes pour exploiter les propriétés antifongiques des huiles essentielles du romarin et du myrte.

Références Bibliographiques

- AFNOR, 1980.** Huile essentielle, recueil des normes françaises. NFT 75-006. Paris: AFNOR, Association française de normalisation 1980.
- Agrios, G.N., 1988.** Plant Pathology. 3e éd. Academic Press, New-York. 803 pp
- Aidi W., Mhamdi, B., Sriti, J. et Marzouk, B., 2010.** Changes in essential oil composition of Tunisian *Myrtus communis* var. *italica* during its vegetative cycle. J. Essent. Oil Res. 22, 13–18.
- Akin, M., Aktumsek, A., et Nostro, A., 2010.** Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. And *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. African Journal of Biotechnology, 9(4).
- Alves-Santos F.M., Benito E.P., Elsave A.P. et Díaz-Mínguez J.M., 1999.** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains from common bean fields in Spain. Appl. Environ. Microbiol. 65:3335-3340.
- Andrade J.M., Célia F. et Catarina G., 2018.** “*Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity”. Future Science OA, vol. 4, n°4. Avril .antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. J Appl Bacteriol.
- APG III. , 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 161, 105-121.
- Armstrong, G.N. et Armstrong, J.K., 1981.** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases, p. 391-399. In P.E. Nelson, T.A. Eds Pennsylvania State University Press, University Park.
- Ayadi, S., Jerribi, C. et Abderrabba, M., 2015.** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie.
- Bakkali F., Averbeck, S. and Averbeck, D. et Idaomar, M., 2008.** Biological effects of essential oils- A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2) 446-475.
- Baser, K.H.C. et Buchbauer, G., 2010.** Handbook of Essential oils: Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.
- Battandier J.A et Trabut L., 1988.** "Flore de l'Algérie : Les dicotylédones", Ed. Adolphe & Jourdan, Alger.
- Baysal, T. et Starmans D.A.J., 1999.** Supercritical carbon Dioxide Extraction of carvone and Lionene from caraway seeds, journal of supercritical fluids 14, p: 225-234.
- Baytop T., 1999.** Le traitement par les plantes médicinales en Turquie (Past and Present) Nobel Astuce Kitapevleri Press, Istanbul.
- Bellakhdar J., 2006.** Précis de phytothérapie moderne ; plantes médicinales au Maghreb et soin de base / Edition le Fennec 2006 Pages : 294-295.
- Blanc-Mouchet, J., 1987.** "Odeurs. L'essence d'un sens." Autrement. Paris.
- Booth C., 1985.** The genus *Fusarium*. Ed. Commonwealth Mycological Institute. p. 237.
- Botineau M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition TEC & DOC. Lavoisier. P 958.

- Bouaine, A., 2017.** Projet de fin d'étude : Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales : Lentisque et Myrte.
- Brewer. D., 1960.** Studies in Asochyta pisi .canadian journal de la végétale philosophie mathématique Classique Hachette.
- Bruneton J., 2008.** Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 2eme Ed, Paris, Tec & Doc – Edition médicales internationales. 1188p.
- Cahagnier B. et Richard-Molard D., 1998.** Moisissures des aliments peu-hydratés, les moisissures.
- Caron D., 2000.** Fusarioses des épis, Sait-on prévoir leur développement. Perspectives Agricoles janvier 2000, pp 56-62.
- Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T. et Baser, K. H. C.; 2007.** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry, 100(2), 553-559.
- Champion R., 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et Pratiques. INRA Editions p166 à 197.
- Chermette, R. et Bussieras, J., 1993 .**Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Couic-Marinier, F. et Lobstein, A., 2013.** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques, 52 (525), 22-25.
- Croquist, A., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Colombia. Univ. Press. New York. 1256 p.
- Croteau R., Kutchan T.M. et Norman G.L., 2000.** Natural products (secondary metabolites). American society of plant physiologists, Vol. 24, p.p. 1250 -1318.
- Croteau, R., Kutchan, T.M. et Lewis, N.C., 2000.** Naturel products (secondary metabolites).In: Biochemistry and Molecular Biology of plants (Ed Buchanan, B., Gruissem, W., et Jones, R), American Society of plant Biologists Rockville, M.D, USA, pp1250-1268
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van B.T.A. et Linssen J.P.H., 1998.** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journalscience food agriculture, 77, 140-146.
- Dastmalchi, K., Damien Dorman, H.J., Oinonen, P, P., Darwis, Y., Laakso, I. et Hiltunen, R., 2008.** Chemical composition and *in vitro* anti oxidative activity of a lemon balm
- De hoog S, Guarro J, Gené J, Figueras M.** Atlas of Clinical Fungi. 2011.
- 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.
- Derwich, E.; Benziane, Z. et Boukir, A., 2010.** Chemical Composition and *In Vitro* Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Cedrus atlantica*. Int J Agric Biol 12: 381-385 .
- Descheppera, 1990.**variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromatique. En vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie.

- Duraffourd C., D’Hervicourt L. et Lapraz J. C., 1990.** Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2^{ème}éd. Masson, Paris.
- Durling N.E., Catchpole O.J., Grey J.B., Webby R.F., Mitchell K.A., Foo L.Y. et Perry N.B., 2007.** Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol water mixtures, Food Chemistry, 101, 1417-1424.
- El Kalamouni C., 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d’extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat de l’université de Toulouse.
- Ema, H., 2010.** Community herbal monograph on *Rosmarinus officinalis L.*, folium. EMA/HMPC/13633/2009, 15 July.
- Fillatre, Y., 2010.** Produits phytosanitaires : Développement d’une méthode d’analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse d’Université d’Angers.
- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A., 2010.** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. Molécules, 15, 8813- 8826.
- Gharib A. E., Teixeira A. et Silva. J., 2012.** Composition, total phenolic content and antioxidant activity of the essential oils of four lamiaceae herbs. Medicinal and Aromatic plants Science and Biotechnology, 7(1), 9-27.
- Goetz P. et Ghedira K., 2012.** *Myrtus communis L.* (Myrtaceae) : Myrte, in: Phytothérapie anti-infectieuse, Collection Phytothérapie Pratique. Springer Paris, pp. 313–320.
- Govaerts R., Sobral M., Ashton P., Barrie F., Holst B.K., Landrum L.R, Matsumoto K., Mazine F.F., Nic Lughadha E., Proença C., Soares-Silva L.H., Wilson P.G et Lucas E.J., 2008.** World Checklist of Myrtaceae. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Guenther, E., 1948.** The Essential Oils: history, origin in plants, production and analysis. New York : D Van Nostrand.
- Guignard J., 2001.** Botanique systématique moléculaire, Masson, Paris, 221-225.
- Guinochet T., 1973.** Phytosociologie, Ed. Masson, France, 227p.
- Haida.S, Essadik.F.Z, Kribii.A, Habsaoui.A, Ounine.K, Benmoumen.A et Kribiia., 2015.** Study of chemical composition of rosemary essential oil from western morocco and evaluation of antioxidant and antibacterial activity of its extracts, 4(7), 307-323.
- Iserin P., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. 143-225-226p.
- Jerkovic, I., Radonic, A. et Borcic, I., 2002.** Comparative study of leaf, fruit and flower essential oils from Croatian *Myrtus communis L.* during a one-year vegetative cycle. J. Essent. Oil Res. 14, 266–270.
- Jeunot, B., 2005.** Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d’exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- Kalemba D., Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils.

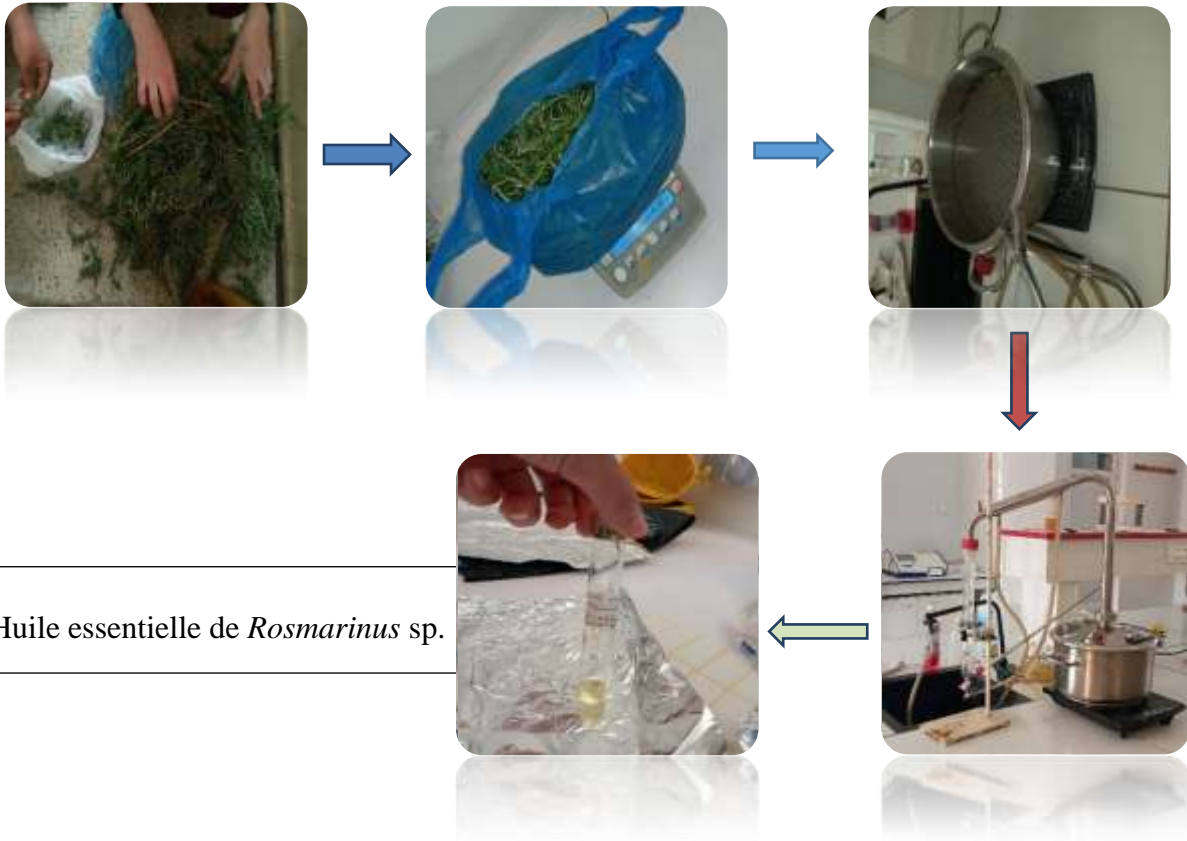
- Lagunez Rivera L., 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- Lakhdar L., 2015.** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Thèse de doctorat de la faculté de médecine dentaire de rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la sante. Rabat, Maroc.
- Lamendin H., 2004.** Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. Chir. Dent. Fr, 1185, 78-80.
- Luque de Castro, M.D, Jiménez –Carmono, M.M. et Ferandez-Pérez, V.** Tends Anal .Chem, 1999, 18708.
- Machado, D. G., Cunha, M. P., Neis, V. B., Balen, G. O., Colla, A., Bettio, L. E., et Pizzolatti, M. G., 2013.** Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. Food Chemistry, 136(2), 999-1005.
- Mata, A. T., Proença, C., Ferreira, A. R., Serralheiro, M. L. M., Nogueira, J. M. F., et Araújo, M. E. M., 2007.** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food chemistry, 103(3), 778-786.
- Merghache S., Hamza M et Tabti B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. Afrique Science 05(1). p 67-81. ISSN 1813-548X Pennsylvania State University Press, University Park.
- Migliore, J., 2011.** Empreintes des changements environnementaux sur la phytogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au sahara. Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne d'Aix-Marseille III. Pp.66-117.
- Mnayer, D.,** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. 2014, Université d'Avignon.
- Mohammedi Z., Bachik S. et Belkaroube N., 2010.** Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. Les Technologies De Laboratoire. Vol. 5, N°19, pp.10-15.
- Moro - Buronzo A., 2008.** Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, Hachette pratique. 14.
- Moss, M., Cook, J., Wesnes, K., et Duckett, P., 2003.** Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. International Journal of Neuroscience, 113(1), 15-38.
- Ouibrahim Amira, 2015,** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Thèse de doctorat , Université Badji Mokhtar – Annaba.
- Pauli A., 2001.** Antimicrobial properties of essential oil constituents. Int. J. Aromather. 11: 126-133.
- Quezel P. et Santa, S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris. 360-361 p.
- Rakotonanahary M. 2012.** Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier : 16, 19, 27, 28.

- Rameau, J. C., Mansion, D., Dume, G. & Gauberville, C., 2008.** Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne (Vol. 3) Paris : Institut pour le développement forestier. 771 p.
- Rasooli, I., Moosavi, M. L., Rezaee, M.B., & Jaimand, K., 2010.** Susceptibility of microorganisms to *Myrtus communis* L. essential oil and its chemical composition. Journal of Agricultural Science and Technology, 4, 127-133.
- Salvagnini, L. E., Oliveira, J. R. S., Santos, L. E. D., Moreira, R. R. D., et Pietro, R. C. L., 2008.** Evaluation of the antibacterial activity of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) leaves. Revista Brasileira de farmacognosia, 18(2), 241-244.
- Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., et Sangwan, R. S., 2001.** Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34, 3-21.
- 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.
- Schauenberg, O. and Paris F., 1977.** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT. Monographie des plantes aromatiques et médicinales du maroc. Mrojet pam : Intégration de la biodiversité dans la chaîne de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes au Maroc.
- Skaria, B.P., 2007.** Aromatic Plants, Ed: New India Publishing Agency, p: 37 -43.
- Slameňová, D., Horváthová, E., Kováčiková, Z., Kozics, K., et Hunáková, Ľ., 2011.** Essential rosemary oil protects testicular cells against DNA-damaging effects of H₂O₂ and DMNQ. Food chemistry, 129(1), 64-70.
- Tabuc C., 2007.** Incidence of *Fusarium* species and of their toxins in the compound feeds for poultry, International Scientific symposium: Performances and competitiveness in animal production, 26-27 avril 2007, Iasi, Roumanie.
- Van de Braak S.A.A.J. et Leijten G.C.J.J., 1999.** Essential Oils and Oleoresins : A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. (p. 116): CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam.
- Voukou D., Kokkini S. et Bressiere J.M., 1988.** *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition. Economy botanic. 42:407-412.
- Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y., et Efferth, T., 2012.** Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. Molécules, 17(3).
- Wilkinson, J. M., 2006.** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapitre VIII, pp.157-165. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p
- Willem J. P., 2002.** Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé. Editions LMV.

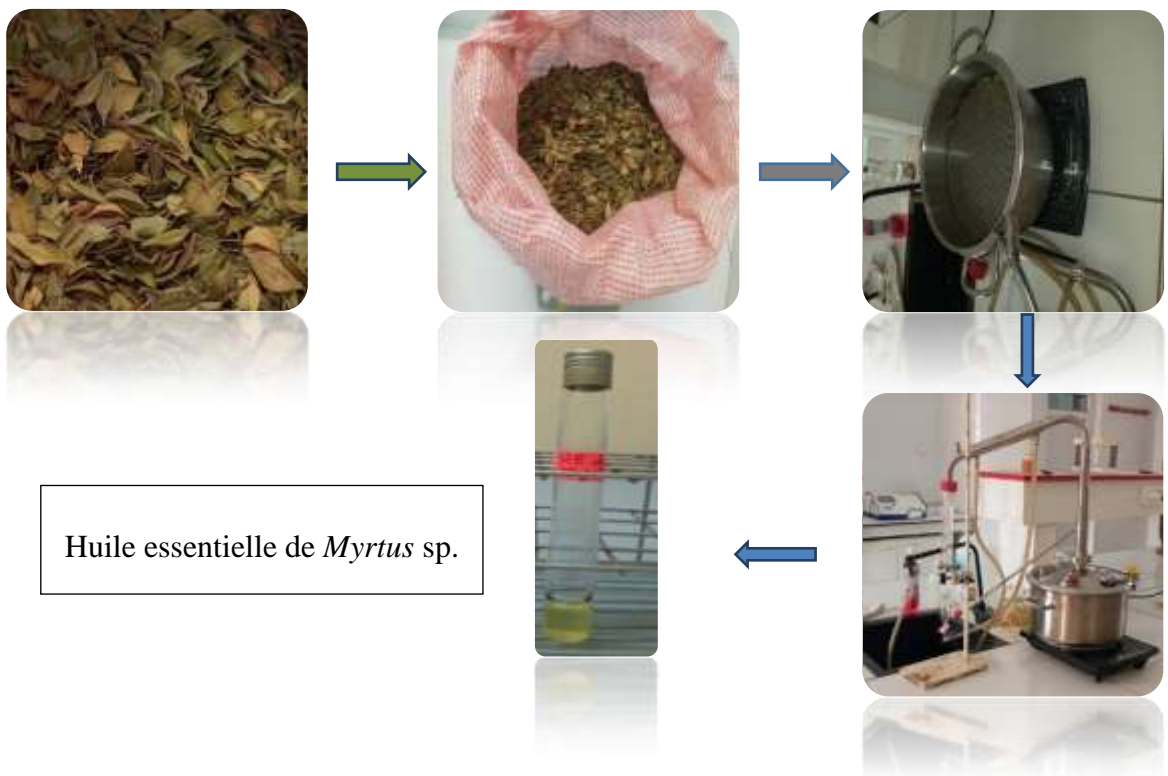
- Yahyaoui, N., 2020.** Application des huiles essentielles dans le domaine des emballages alimentaires. Thèse docteur en chimie organique. Laboratoire de Matériaux Molécules et Applications Laboratoire Bio Refinery Processes. pp.54-58.
- Yen, T.B. et Chang, S.T., 2008.** Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresource of Technology*. 99: 232-236.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T., et Boussaid, M., 2010.** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3144-3152.

Annexes

Annexe 01 : Extraction de l'huile essentielle des feuilles du *Rosmarinus* sp.



Annexe 02 : Extraction de l'huile essentielle des feuilles du *Myrtus* sp.



Annexe 03 : Préparation du milieu de culture PDA et repiquage

