

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

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N°...../SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

**FLITI Kheira ET MAMAD Saida**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité : Protection des cultures**

**THÈME**

Etude de l'effet de l'extrait méthanoïque et de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur les deux séquences biologiques du *Fusarium* sp., agent de la pourriture sèche des agrumes.

Soutenue publique le 03/07 /2018

DEVANT LE JURY

Président	Mme BERGHEUL S.	MCB	Université de Mostaganem
Encadreur	M <sup>me</sup> . SAIAH. F.	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	Mme BADAOUI .MI	MCB	Université de Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de protection des végétaux*

## *Remerciements*

*Nous remercions Tout d'abord notre **Grand Dieu** tout puissant qui nous a comblé de ses bienfaits et nous a donné assez de force pour achever ce travail et de venir au bout de cette formation.*

*Nous exprimons nos profondes reconnaissances à notre promotrice **M<sup>me</sup> Saïah Farida** pour nous avoir guider, conseiller et prêter assistance tout au long de notre travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à **Mme BERGHEUL** d'avoir accepté de présider le jury de ce modeste travail.*

*Nous présentons également toutes nos reconnaissances et gratitudees à **Mme BADAOU**, qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*

*Nous profitons pour témoigner toute notre gratitude aux enseignants du département d'Agronomie, tout particulièrement les enseignants de la spécialité protection des cultures.*

*Nous n'oublierions surtout pas de remercier les membres du laboratoire de protection des végétaux, pour tous leurs conseils durant la période de stage*

*Enfin, nous remercions également tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Avant tout, je tiens à remercier le bon dieu et l'unique qui m'a offert le courage et la volonté nécessaire pour affronter les différentes épreuves de la vie.*

*Je dédie ce travail à mes chers parents pour leurs sacrifices et leurs encouragements durant toutes mes études.*

*À tous mes très chers frères : Abd Elmalek, Oussama, Yassine.*

*À mes très chères sœurs :*

*Sarah et son mari Ibrahim.*

*Nadjat et son mari et leurs enfants Abir et Rayan.*

*À mes très chères amies : Halima et Saïda.*

*À tous mes chers amis : Sarah, Fatiha, Zahra, Ahmed Hicham, Youcef, Hamza, Aymen et Malik.*

*À tous ceux qui sont proches de mon cœur.*

*Et dont je n'ai pas cité les noms.*

*Je dédie ce modeste travail.*

*Kheïra*

# Dédicace

Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), le créateur du tout, pour m'avoir donné la vie, la force pour accomplir ce travail *que je dédie :*

*À Mes très chers parents pour leurs soutiens, leurs amours, leurs compréhensions, leurs patiences, leurs sagesses, et leurs tendresses qui sont toujours pour moi sans limite.*

*À Mes beaux-frères : Mohamed et Abd El Hamid*

*À Mes belles-sœurs : Fatiha et Fatima*

*Pour leurs soutiens infinis et leurs aides incessantes, à qui je souhaite un meilleur avenir.*

*À ma grande famille, À mes très chers amis(es) : Ahmed, Bachir, Hayet, Fouzia, Kheira, Fatima, Abir, Ayda ...*

*À tous ceux que j'aime et qui je respecte*

*À ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Sans oublier maman M<sup>me</sup> Saiah et tous les professeurs que ce soit ceux du primaire, du moyen, du secondaire, ou de l'enseignement supérieure.*

*Saida*

## Résumé

Le *Fusarium* sp. est l'agent causal de la pourriture sèche racinaire des agrumes qui provoque la mort brutale des arbres.

La sauge *Salvia officinalis* est une plante médicinale et aromatique de la famille des Lamiaceae, qui contient des phénols possédant un effet sur les champignons. Sur ce, on a effectué un test « *in vitro* » de l'huile essentielle et de l'extrait méthanoïque sur le *Fusarium* sp.

Les résultats du test « *in vitro* » de l'effet des feuilles de la sauge *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne et la sporulation, montre une corrélation entre les doses des deux extraits (l'huile essentielle et extrait méthanoïque) et les taux d'inhibition, en effet, plus la dose est élevée plus la croissance mycélienne est faible.

**Mots clés :** *Fusarium* sp, *Salvia officinalis*, croissance mycélienne, sporulation, huile essentielle, extrait méthanoïque.

## Abstract

The *Fusarium* sp. is the causal agent of root dry rot of citrus fruits that causes the sudden death of trees.

The sauge *Salvia officinalis* is a medical and aromatic plant of the Lamiaceae family, which contains phenols acting with an effect on fungus. On that we make an "in vitro" test of the essential oil and methanoid extract on the *Fusarium* sp.

The results of "in vitro" test of the effect of *salvia officinalis* sage leaves on myceliense growth and sporulation, show a correlation between the doses of the two extracts (essential oil and methanoid extract) and the Inhibition rates, indeed, in fact the most the extract is high, the more the growth of myceliense is weak.

**Key words :** *Fusarium* sp. , *Salvia officinalis*, myceliense growth, sporulation, essential oil, methanoid extract.

## Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale	

### Donnée bibliographique

#### Chapitre I : Généralité sur les agrumes

I.1- Historique et diffusion des agrumes dans le monde .....	3
I.2- Généralité : .....	3
I.2- La production des agrumes : .....	4
I.3.1- Dans le monde : .....	4
I.3.2- La production en Algérie : .....	5
I.3.3- La production à Mostaganem : .....	6
I.4- Systématique : .....	7
I.5- Les exigences de l'espèce : .....	8
I.5.1- Les exigences climatiques : .....	8
I.5.1.1- La température : .....	8
I.5.1.2- La Pluviométrie : .....	8
I.5.1.3- L'humidité de l'air : .....	9
I.5.2- Les Aléas climatiques : .....	9
I.5.2.1- Le vent : .....	9
I.5.2.2- Les gelées : .....	9
I.5.3- Les exigences pédagogiques : .....	9
I.6- Description et cycle phénologique de la plante hôte : .....	10
I.6.1- Description botanique: .....	10
I.6.2- Les différentes espèces de Citrus commercialisées : .....	11
I.6.3- Le cycle de développement : .....	13
I.6.3.1- La croissance végétative : .....	13
I.6.3.2- Développement floral : .....	13
I.6.3.3- Développement des fruits : .....	14
I.7- Les problèmes phytosanitaires des agrumes : .....	14

I.7.1- Les maladies des agrumes :.....	15
I.7.1.1- Les maladies bactériennes :.....	15
I.7.1.2- Les maladies à virus ou viroïdes :.....	15
I.7.1.3- Les maladies d'origine cryptogamique :.....	15
I.7.2- Les principaux ravageurs des agrumes :.....	16

## **Chapitre II : La Fusariose des agrumes**

II.1- Introduction :.....	18
II.2- Caractéristiques générales des <i>Fusarium sp</i> :.....	18
II.3- Classification :.....	19
II.4- Fusarium des agrumes ou pourriture sèches des racines : .....	20
II.4.1- Description de la maladie :.....	21
II.4.2- Epidémiologie :.....	21
II.4.3- Symptômes et dégâts:.....	22
II.4.4- Biologie :.....	22
II.4.5- Moyens de lutte :.....	23

## **Chapitre III : Les extraits de plante**

III.1-Les composés phénoliques:.....	24
III.1.1- La structure chimique :.....	24
III.1.2- Les composés phénoliques de défense constitutive:.....	24
III.1.3- Les composés phénoliques de défense induite:.....	25
III.1.4- Classification des polyphénols:.....	25
III.1.4.1- Les acides phénoliques:.....	25
III.1.4.2- Les Flavonoïdes:.....	26
III.1.4.3- Structure et classification des flavonoïdes:.....	27
III.2- Les huiles essentielles :.....	27
III.2.1- Répartition botanique :.....	28
III.2.2- Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles dans la plante:.....	28
III.2.3- Propriétés physico-chimiques :.....	29
III.2.4- Rôle physiologique :.....	29
III.2.5- Composition chimique :.....	30
III.2.5.1- Les terpènes :.....	30
III.2.5.2- Les composés aromatiques :.....	32
III.2.5.3- Les composés d'origines diverses :.....	32
III.2.5.4- Notion de chémotype :.....	33

III.2.6- Domaines d'application :	33
III.2.7- Méthodes d'extraction des huiles essentielles :	34
III.3- La sauge:	34
III.3.1- Historique :	34
III.3.2- Description morphologique :	35
III.3.3- Nomenclature:	36
III.3.4- Classification taxonomique:	36
III.3.5- Production :	36
III.3.6- Usage thérapeutique de la sauge:	37
III.3.6.1- Usage interne:	37
III.3.6.2- Usage externe :	37
III.3.6.3- Toxicologie:	37
III.3.7- Composition chimiques:	38

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : matériels et méthodes**

I.1- Objectif de travail :	39
I.2- Matériel fongique :	39
I.2.1- Repiquage de l'agent pathogène <i>Fusarium solani</i> sp des agrumes :	39
I.2.2- Identification :	40
<b>I.3- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque et l'huile essentielle de la sauge (<i>Salvia officinalis</i>) vis-à-vis de <i>Fusarium</i> sp des agrumes</b>	
I.3.1- Matérielle végétale :	40
I.3.2- Procédés d'extraction méthanoïque :	41
I.3.2.1- Extraction par le dispositif Soxhlet :	41
I.3.2.2- Préparation des dilutions des composés phénoliques :	42
I.3.2.3- Conduit de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'extrait méthanoïque de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis de <i>Fusarium</i> sp :	42
I.3.3- Procédés l'huile essentielle :	43
I.3.3.1- La distillation par entraînement à la vapeur d'eau :	43
I.3.3.2- Calcul du rendement d'huile essentielle :	44
I.3.3.3- Préparation des dilutions :	44
I.3.3.4- Conduit de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> vis-à-vis de <i>Fusarium</i> sp :	44

I.5- Evaluation de la croissance mycélienne : .....	45
I.6 Analyse statistique : .....	45

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

II.1- Caractères morphologiques d'isolat de <i>Fusarium</i> sp : .....	46
II.1.1- Etude de l'aspect macroscopique : .....	46
II.1.2- Etude de l'aspect microscopique : .....	47

### **II. 2- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* sur *Fusarium* sp. Agents de pourriture sèche des racines des agrumes.**

II.2.1- Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne : .....	47
II.2.2- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque des feuilles de la sauge sur la sporulation de <i>Fusarium</i> sp : .....	50

### **II.3- Evaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur *Fusarium* sp. Agents de pourriture sèche des racines des agrumes.**

II.3.1- Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne : .....	51
II.3.2- Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle des feuilles de la sauge sur la sporulation de <i>Fusarium</i> sp : .....	53

### **II.4- Discussion : .....**

### **Conclusion générale : .....**

### **Référence bibliographique : .....**

### **Annexes : .....**

### **Résumé : .....**

Liste des figures

<b>Figure N°01</b> : Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde :.....	4
<b>Figure N° 02</b> : feuille et branche d'orange :.....	10
<b>Figure N° 03</b> : Fleur d'orange :.....	11
<b>Figure N° 04</b> : Les fruits d'orange :.....	11
<b>Figure N° 05</b> : la structure chimique de phénole :.....	24
<b>Figure N° 06</b> : exemples de quelques acides phénols :.....	26
<b>Figure N° 07</b> : Structure générale du noyau des flavonoïdes :.....	27
<b>Figure N° 08</b> : Formule de l'isoprène :.....	30
<b>Figure N°09</b> : Représentation de molécules caractéristiques des différentes structures rencontrées chez les mono- et sesquiterpénoïdes :.....	31
<b>Figure N°10</b> : Exemples de composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentielles :.....	32
<b>Figure N°11</b> : Exemples de composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les huiles essentielle :.....	32
<b>Figure N° 12</b> : Aspect de <i>Salvia officinalis</i> :.....	35
<b>Figure N°13</b> : Aspect macroscopique d'isolat de <i>Fusarium</i> sp cultivé sur milieu P.D.A après 8jours :.....	39
<b>Figure N° 14</b> : feuilles séchées et la poudre de la sauge:.....	41
<b>Figure N°15</b> : dispositifs d'extraction :.....	41
<b>Figure N°16</b> : les différentes dilutions du composé phénolique :.....	42
<b>Figure N° 17</b> : l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge vis-à-vis le <i>Fusarium</i> sp. :.....	43
<b>Figure N°18</b> : Hydro distillateur de type entraînement à la vapeur d'eau pour l'extraction de l'huile essentielle :.....	43
<b>Figure N° 19</b> : l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de la sauge vis-à-vis le <i>Fusarium</i> sp. :.....	44
<b>Figure N°20</b> : Aspect macroscopique de l'isolat de <i>Fusarium</i> sp cultivé sur milieu P.D.A :....	46
<b>Figure N°21</b> : Aspect microscopique GX40 des colonies de l'isolat de <i>Fusarium</i> sp en suspension :.....	47
<b>Figure N° 22</b> : l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol pure) de <i>Salvia officinalis</i> sur l'isolat de <i>Fusarium</i> sp. :.....	47

## Liste des figures

<b>Figure N°23</b> : représente les résultats du test de l'effet de l'extrait (extraction par méthanol pure) sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. :.....	48
<b>Figure N° 24</b> : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol pure) des feuilles e <i>Salvia officinalis</i> :.....	48
<b>Figure N° 25</b> : l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dulée) de <i>Salvia officinalis</i> sur l'isolat de <i>Fusarium</i> sp. :.....	49
<b>Figure N° 26</b> : représente les résultats du test de l'effet de l'extrait (extraction par méthanol dulée) sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. :.....	49
<b>Figure N° 27</b> : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dulée) des feuilles e <i>Salvia officinalis</i> :.....	50
<b>Figure N° 28</b> : Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol pure) des feuilles de la sauge :.....	50
<b>Figure N° 29</b> : Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dulée) des feuilles de la sauge ( <i>Salvia officinalis</i> ) :.....	51
<b>Figure N° 30</b> : représente les résultats du test de l'effet de l'huile essentielle des feuilles de la sauge sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. :.....	52
<b>Figure N° 31</b> : l'effet de l'huile essentielle des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp. :.....	52
<b>Figure N° 32</b> : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles e <i>Salvia officinalis</i> :.....	53
<b>Figure N° 33</b> : Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de <i>Fusarium</i> sp sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de la sauge :.....	53

### Liste des tableaux

<b>Tableau N°01</b> : La surface cultivée, le rendement et la production des agrumes dans le monde :.....	5
<b>Tableau N° 02</b> : La surface cultivée, le rendement et la production des agrumes en Algérie :...6	6
<b>Tableau N°03</b> : La production des agrumes par variété dans Wilaya de Mostaganem :.....6	6
<b>Tableau N°04</b> : Les ravageurs des agrumes en Algérie :.....	16
<b>Tableau N° 0 5</b> : Nomenclature des sections et espèces de <i>Fusarium</i> sp. :.....	20

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage

**°C** : degré Celsius

**cm** : centimètre

**D** : diamètre de la colonie.

**d**: diamètre de l'explant.

**DSA** : direction des services agricole

**FAO** : food agriculture organisation

**g** : gramme

**Ha** : hectare

**ITAFV** : Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne

**Kg** : kilogramme

**L** : croissance mycélienne.

**M** : Masse de la plante en gramme

**m** : mètre

**M'**: Masse d'huile essentielle en gramme.

**ml** : millilitre

**mm** : millimètre

**Mt** : millions de tonnes

**P.D.A** : Potato dextrose agar

**RHE** : Rendement en huile essentielle

**Ti%** : taux d'inhibition de la croissance mycélienne

# Donnée bibliographique

# Introduction générale

### Introduction

Parmi toutes les cultures arboricoles dans le monde, l'agrumiculture constitue l'un des plus importants secteurs de l'économie internationale. Elle constitue par son tonnage l'une des trois premières productions fruitières mondiales devant les groupes des bananes et du raisin (Loeillet, 2008). Les besoins des populations en ce produit ne cessent de croître à cause de sa valeur nutritionnelle.

Les superficies agrumicoles ont atteint une superficie de 8,6 millions d'hectares (FAO, 2008). Elles ont connu une progression continue dans le monde. Parmi les 140 pays producteurs à travers le monde, 70% de ces derniers sont localisées dans l'hémisphère nord dont 20% dans la région méditerranéenne.

En Algérie, l'agrumiculture possède une collection variétale composée de 178 espèces d'agrumes qui constitue un patrimoine génétique inestimable (Karboua, 2002). Elle occupe une place importante, et représente pour le pays un intérêt économique et social.

Mais le l'aspect phytosanitaire reste un sérieux problème qui réduit la qualité commerciale des fruits destinés à la commercialisation et provoque la chute dans le rendement. En effet, au cours de leur production, les agrumes sont soumis à l'attaque d'agent phytopathogènes tels que les *Fusarium* sp. Leur développement rapide et insidieux, engendre la destruction complète de l'arbre, cet agent tellurique occasionne des dégâts avec des conséquences désastreuses sur le rendement et la qualité de la récolte. Contre ce genre de fléaux, la prévention ainsi que l'utilisation des produits chimiques représentent à l'heure actuelle la solution la plus efficace. Cependant, les inconvénients liés à l'utilisation répétée des produits de synthèse entraînent souvent la pollution de l'environnement, l'apparition des souches résistances et augmente la quantité des résidus sur les fruits (ITAFV, 2012 ; Ozbay et Newman, 2004).

Il est devenu indispensable de rechercher de nouvelles molécules en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques pouvant constituer une solution alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les extraits polyphénoliques des plantes aromatiques.

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante, dont les propriétés dépendent de la présence d'agent bioactif variés et appartenant à différentes classes chimiques (Mailhebiau, 1994).

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plante aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a

pas cessé de croître au cours de ces dernières années (Benkiki, 2006). C'est dans cette optique, qu'on s'est intéressé à une espèce qui appartient à la famille des Lamiacées : *Salvia officinalis* (sauge), un arbuste indigène méditerranéen très prisé en phytothérapie.

Le présent travail, a pour objectif de mettre en évidence l'activité antifongique « *in vitro* » de l'huile essentielle et de l'extrait méthanoïque de La sauge. Il s'agit d'étudier leurs actions sur les deux séquences biologiques (croissance mycélienne et sporulation) du champignon phytopathogène *Fusarium* sp., agent de la fusariose sur agrumes.

Ce travail est réparti en deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur quatre chapitres ; le premier traite des généralités sur la plante hôte agrumes, le second présente la maladie fongique et son agent causal, et le troisième chapitre est consacré aux composés phénoliques, l'huile essentielle et quelques données sur *Salvia officinalis*.

La deuxième partie est divisée en deux chapitres, le premier présente le matériel et méthodes alors que le deuxième expose les résultats et discussions.

# Chapitre I : généralités sur les agrumes

## I- Généralité sur agrumes

### I.1-Historique et diffusion des agrumes dans le monde

Les agrumes sont originaires du Sud-est de l'Asie, bien que leur culture ait probablement commencée en Chine (Pena et *al.*, 2007). Avec le rayonnement des civilisations chinoises au cours du premier millénaire avant notre ère, La culture des agrumes commence à se propager dans les pays avoisinants : sud du Japon et archipel de Malaisie (Praloran, 1971).

D'après une carte de diffusion des agrumes de Praloran (1971), La zone méditerranéenne n'a connu cette culture qu'au 7<sup>ème</sup> siècle avant notre ère. Les cédratiers sont les premiers agrumes cultivés sous le nom de pomme de Médie. Mais ce n'est qu'aux alentours de l'an 1400, bien après le voyage de Marco Polo en Chine en 1287, que les Portugais introduisirent l'oranger en méditerranée.

Actuellement les agrumes occupent la première place de productions fruitières dans le monde avec 120 millions de tonnes et une superficie de 8,6 millions d'hectares (FAO, 2008). Elle constitue, par son tonnage, l'un des principaux secteurs de l'économie internationale.

L'essentiel de la production est concentré dans le nord de l'hémisphère. Le bassin méditerranéen représente à lui seul 20% de la production avec un producteur majeur qu'est l'Espagne.

### I.2- Généralités

**Praloron (1971)** souligne que les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées, d'origine de la Chine, Inde et Indonésie, la période de floraison est entre mars et juillet. Pour ce qui est de la couleur des fleurs est blanche, l'exposition est vers le soleil, le type de sol est un mélange de terreau et de terre de jardin, léger et drainé, l'acidité du sol est neutre à légèrement acide. L'humidité du sol est fraîche, l'utilisation est isolée, bac et verger. La hauteur des arbres est de 500 cm, le type de plante est un arbre fruitier de type agrume, le type de végétation est vivace, le type de feuillage est persistant. Pour ce qui est de la méthode de multiplication est semis au chaud, greffe en fente sur citronnier ou bigaradier en août ou en Septembre, ou greffe en écusson en mai ou en août, généralement il est intéressé de greffer un rameau de 2 ans. La taille est à l'intérieur, pincez les extrémités en mars des rameaux pour limiter le développement.

### I.3- La production des agrumes

#### I.3.1-Dans le monde

La production des agrumes est très diversifiée avec 68 Mt d'oranges ; 29 Mt des petits agrumes ; 14 Mt de citrons et de limes et 5 Mt de pomelos en 2009 (Loeillet, 2010).

Elle provient essentiellement des régions méditerranéennes et tropicales. En 2012, la superficie totale plantée en agrumes a été évaluée à plus de 7431787 d'hectares répartie sur une aire très large située approximativement entre les 40° de latitudes Nord et Sud tout autour du monde (FAO, 2015). Les agrumes sont donc de nos jours implantés dans toutes les zones du monde où leur production est possible. Les pays producteurs forment une ceinture terrestre entre le 40<sup>ème</sup> parallèle nord et sud.



**Figure N°01** : Principaux pays producteurs d'agrumes dans le monde (Cassin, 1984).

Les agrumes sont économiquement importants. En valeur monétaire, ils représentent le groupe de fruits le plus important du commerce international.

La FAO distingue quatre groupes de productions d'agrumes ; le groupe des oranges, le groupe des pamplemousses et pomélos, le groupe des limes et citrons et les derniers groupes des mandarines et clémentines.

**Tableau N°01** : La surface cultivée, le rendement et la production des agrumes dans le monde en 2012 (FAO, 2015).

	<b>Surface cultivée (ha)</b>	<b>Rendement (kg /ha)</b>	<b>Production (tonnes)</b>
<b>Oranges</b>	3816 692,06	178 751,02	68 223 758,8
<b>Pamplemousses et pomélos</b>	2 89 126,00	2 78 080,77	8 040 0338,82
<b>Citrons et Limes</b>	980 949,10	154 120,76	15 118 462,20
<b>Mandarines et Clémentines</b>	2 345 020,00	115 396,70	27 060 756,00

### I.3.2- La production en Algérie

L'Algérie disposait d'une superficie de 45.000 ha en agrumes à l'indépendance. Certes en 2011, la superficie en agrumes s'étalait sur 63.323 ha, actuellement, seuls 55.000 ha sont productifs sur 63.323 ha. Le centre du pays compte 56% de cette surface d'agrumes, 30% se trouvent à l'Est du pays, et 14% à l'Ouest.

Houaoura (2013), insiste sur les bonnes pratiques utilisées dans les vergers par nos aînés dans le passé. D'ailleurs, le goût des oranges Algériennes était très apprécié indique-t-il.

Les principales wilayas agrumicoles sont : Blida (15809 ha), Chlef (5777 ha), Alger (5065ha), Relizane (4417 ha), Mascara (4232 ha), Mostaganem (4079 ha), Tipasa (3725Ha). En fin juillet 2011, il a été créé le premier Club des agrumiculteurs en Algérie à Tipasa (Anonyme, 2013).

D'après (Guenouni et Kacemi, 2013), selon leurs exigences en eau et qualité des sols, les agrumes sont localisés essentiellement dans les plaines irrigables :

- La plaine de la Mitidja (44%).
- La plaine de Habra et Mascara (25%).
- La plaine de Bouna Moussa et la plaine de Safsaf (16%).
- Le périmètre de la Mina et le Bas Chéelif (14%).

**Tableau N°02** : La surface cultivée, le rendement et la production des agrumes en Algérie (2012) (FAO, 2015).

	Surface cultivée (ha)	Rendement (Kg/ha)	Production (tonnes)
<b>Oranges</b>	40 902,00	196 204,83	8 02 517,00
<b>Pamplemousses et Pomélos</b>	76,00	2 26 578 ,95	1 722,00
<b>Citrons et Limes</b>	3 897,00	1 95 232,23	76 082,00
<b>Mandarines et Clémentines</b>	12 282,00	1 68 955,38	2 07 511,00

### I.3.3-La production à Mostaganem

Mostaganem est parmi les Wilaya les plus productrices des agrumes. D'après les données statistiques reportées par la direction des services agricoles (DSA) de la wilaya de Mostaganem, différentes variétés de *Citrus* sont plantées sur une superficie totale qui est estimée à 5001 Ha, alors que la superficie en rapport est de 4480,5 Ha, avec une production de 1294860 Qx pour l'année 2018.

**Tableau N°03** : La production des agrumes par variété dans Wilaya de Mostaganem (DSA, 2018).

Variétés	2015			2016		
	Superficie	sup en rapport	production récoltée Qx	superficie	sup en rapport	production récoltée Qx
<b>Clémentine</b>	<b>673,5</b>	<b>658,5</b>	<b>178866</b>	<b>670,5</b>	<b>658,5</b>	<b>172932</b>
<b>Thomson navel</b>	<b>1289,5</b>	<b>1003</b>	<b>309040</b>	<b>1330,5</b>	<b>1089</b>	<b>300028</b>
<b>W, navel</b>	<b>1748,5</b>	<b>1257</b>	<b>376520</b>	<b>1747,5</b>	<b>1325</b>	<b>361770</b>
<b>Citronnier</b>	<b>251,5</b>	<b>246</b>	<b>66960</b>	<b>249,5</b>	<b>246,5</b>	<b>67965</b>
<b>Double fine</b>	<b>210</b>	<b>210</b>	<b>61840</b>	<b>210</b>	<b>210</b>	<b>54940</b>
<b>D F améliorée</b>	<b>350</b>	<b>350</b>	<b>101940</b>	<b>350</b>	<b>350</b>	<b>95000</b>
<b>Mandarine</b>	<b>16,5</b>	<b>16,5</b>	<b>4405</b>	<b>16,5</b>	<b>16,5</b>	<b>5080</b>
<b>Sanguine</b>	<b>270</b>	<b>265</b>	<b>83940</b>	<b>271</b>	<b>265</b>	<b>72285</b>
<b>Total</b>	<b>4809,5</b>	<b>4006</b>	<b>1183511</b>	<b>4845,5</b>	<b>4160,5</b>	<b>1130000</b>

Variétés	2017			2018		
	Superficie	sup en rapport	production récoltée Qx	superficie	sup en rapport	production récoltée Qx
Clémentine	680,5	670,5	182625	680,5	670,5	187372
Thomson navel	1416,5	1130,5	335185	1446,5	1219,5	345340
W, navel	1763,5	1420	420850	1775,5	1495	435383
Citronnier	249,5	246,5	68170	251	249,0	68860
Double fine	210	210	63425	210	210	63930
D F améliorée	350	350	97060	350	350	100300
Mandarine	16,5	16,5	4820	16,5	16,5	4710
Sanguine	271	270	88305	271	270	88965
Total	4957,5	4314,0	1260440	5001	4480,5	1294860

#### I.4- Systématique

La classification des agrumes est selon (Adjdir et Bensnoussi, 2009) comme suit :

<b>Règne :</b>	Végétale.
<b>Embranchement :</b>	Angiospermes.
<b>Classe :</b>	Eudicotes.
<b>Sous classe :</b>	Archichlomydeae.
<b>Ordre :</b>	Geniales (Rutales).
<b>Famille :</b>	Rutacées.
<b>Sous famille :</b>	Aurantoideae.
<b>Tribu :</b>	Citreae.
<b>Sous tribu :</b>	Citrineae.
<b>Genre :</b>	<i>Citrus</i> .

Les agrumes comprennent six genres appartenant à la famille des rutacées :

*Microcitrus*, *Ereocitrus*, *Clemenia*, *Poncirus* et *Formitella* et *Citrus*, ces trois derniers genres composent les agrumes proprement dits (Praloran, 1970).

Selon Loussert (1989), le genre *Poncirus* ne renferme qu'une seule espèce : *Poncirus trifoliata*, essentiellement utilisée en agrumiculture comme porte greffe, alors que ses fruits veloutés, ne sont pas comestibles.

Les *Citrus* constituent avec les 145 espèces dénombrées, le groupe le plus important de la famille des Rutacées c'est au sein de ce genre que se rencontre les principales espèces cultivées pour leurs fruits :

- Les Oranges " *Citrus sinensis* Osback "
- Les Mandariniers" *Citrus reticulata* Blanco "
- Les Clémentiniers " *Citrus clementina* Clemt' "
- Les Citronniers" *Citrus limon* Brun "
- Les Pomelos" *Citrus medica* Linn "
- Les bigaradiers" *Citrus aurantium* Linn "
- Les Pamplemoussiers" *Citrus grandis* Osback "

## **I.5- Les exigences de l'espèce**

### **I.5.1-Les exigences climatiques**

#### **I.5.1.1-La température**

Selon Mostfaoui (2009), La température représente un facteur limitant de toute première importance, car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces des communautés d'êtres vivants dans la biosphère.

Les agrumes sont considérés comme des arbres à climat chaud, néanmoins, les températures minimales et maximales constituent un facteur limitant. Le zéro végétatif des agrumes est de 8°C. La température optimale de croissance serait de 25 à 26°C ; au-delà, l'activité décroît pour s'arrêter de 38 à 40°C et peu occasionner des brûlures sur les feuilles et les fruits (Loussert, 1985 ; 1989).

D'une façon générale, la résistance au froid et aux fortes chaleurs chez les agrumes dépend de l'état de l'arbre, de l'espèce, de la variété et de la durée de chacun des deux extrêmes de la température (Robert, in Praloran, 1981).

#### **I.5.1.2- La Pluviométrie**

L'eau est un facteur écologique d'importance fondamentale pour le fonctionnement et la répartition des écosystèmes terrestres afin d'assurer un équilibre biologique (Mercier, 1999).

Les agrumes sont des arbres à feuilles persistantes à fort besoins en eau qui varient entre 900 à 1200 mm pendant la période estivale.

### **I.5.1.3-L'humidité de l'air**

Si l'humidité de l'air est insuffisante, la transpiration du végétal est élevée et ses besoins en eau augmentent. Cette faible humidité de l'air peut être amplifiée par des vents chauds desséchants pouvant provoquer des brûlures sur les feuilles et les fruits (Loussert 1985 ; 1989).

## **I.5.2- Les Aléas climatiques**

### **I.5.2.1-Le vent**

Le vent constitue l'un des facteurs climatiques déterminant dans la variation d'un milieu (Seltzer, 1946).

Par son action mécanique, il peut provoquer indirectement des blessures sur le fruit (frottement, ou par transport des grains de sable) ainsi que certaines altérations qui rendent les fruits impropres à l'exportation, exemple : le vent (sirocco) chaud et sec, provoque un dessèchement surtout au moment de la floraison (Loussert, 1989).

### **I.5.2.2- Les gelées**

Les agrumes craignent les gelées printanières et les gelées tardives d'hiver coïncidant avec les stades critiques (floraison, maturité des fruits de certaines variétés de clémentiniers et mandariniers).

A des températures inférieures à -1 et -2°C, des dégâts se manifestent sur les fruits tandis qu'à des températures inférieures à -3 et -4°C des dégâts sont visibles sur les parties aériennes apparaissent et en dessous de -8°C l'arbre dépérit (Loussert, 1989).

## **I.5.3- Les exigences pédologiques**

Le sol est le support de l'arbre qui par les racines puisent les éléments nécessaires à sa croissance. Les agrumes possèdent un système racinaire important et exigeant des sols profonds. La large gamme de porte-greffe disponible permet, avec un choix judicieux, d'implanter les agrumes dans des sols très variables en termes de pH, de texture et d'équilibre chimique. Les sols dont le pH compris entre 6 et 7 conviennent en général le mieux (Loussert, 1985 ; 1989). Sur le plan physique, il y a lieu de retenir les terrains répondant aux critères suivants :

- Sol meuble et aéré.

- Sol à texture dominante grossière : éviter les terrains répondant aux battants (riches en éléments fins).
- Sol homogène et profond (1 m au minimum), à drainage externe satisfaisant.

## I.6-Description et cycl phénologique de la plante hôte

### I.6.1-Description botanique

Swingle (1948), décrit les caractères distinctifs généraux du genre *Citrus*. Ce sont des petits arbres dont les jeunes rameaux sont cylindriques et épineux mais leurs branches âgées sont fréquemment inermes.

#### 1- Les feuilles

Les feuilles sont simples de 4 à 8 cm de longueur, unifoliées denses, avec des pétioles ailés et articulés. Elles sont oviformes, ovales ou elliptiques, avec un aigu ou obtus, et contiennent des essences dans les poches, libérées une fois écrasées (figure N°02). Les jeunes brindilles sont orientées vers le haut ; elles sont vertes axillaires et unilatérales tandis que les brindilles et les branches plus anciennes, sont de couleur terreuse (circulaire dans la section transversales) et multilatérales (Mackee, 1985).



**Figure N°02** : feuille et branche d'orange (BELAI DOUNI ,2016).

#### 2- Les fleurs

Elles sont solitaires ou en petites grappes corymbiformes. Calice à 4 ou 5 sépales, le nombre d'étamines est généralement quatre fois supérieur à celui des pétales et parfois 6 à 10 fois plus nombreux. L'ovaire est plus globuleux et bien distinct du style mince, ou tronqué, fusiforme ou subcylindrique passant progressivement à un style d'épaisseur

voisine à celle de la partie supérieure de l'ovaire. Le stylet se termine brusquement en un stigmate sub globuleux ou en sphère aplatie.



**Figure N°03** : Fleur d'orange (BELAI DOUNI ,2016).

### 3-Les fruits

Ils sont est formés de segments contenant des graines placées dans l'angle intérieur. Les segments sont entourée d'un endocarpe blanc à l'extérieur du quel se trouve une écorce à très nombreuses glandes à essences, devenant jaune ou orange à maturité.



**FigureN°04** : Les fruits d'orange (BELAI DOUNI ,2016).

#### I.6.2-Les différentes espèces de Citrus commercialisées

Les espèces et variétés commerciales bien connues des agrumicultures appartenant à ce genre sont décrites comme suit (Sadok, 1983)

##### 1) L'oranger (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)

Plus de 1000 variétés sont recensées mais les plus cultivées sont classées en : Orange blonde « Washington Navel, Hamline, Salutiana, Valencia Late, Shamouti, etc... », Orange demi sanguine (la maltaise demi sanguine ou Portugaise, la Double Fine, etc...).

### 2) Le mandarinier (*Citrus reticulata* Blanco)

Parmi les variétés de cette espèce on retiendra les « Tangerines » et la « clémentine ». Les taxonomistes modernes ont érigé au rang d'espèce *Citrus clemetinia*. Les opinions sont partagées à propos de son origine. Selon Praloran (1971), Trabut et Rebour pensent qu'elle est née en Algérie d'un croisement de mandarinier commun avec le bigaradier Granito, tandis que Webber (1943), Tanaka (1954) et Chapot (1963) estiment qu'elle est de souche orientale apparentée au mandarinier Canton.

### 3) Le citronnier (*Citrus limon* L. Burn)

Le citronnier est un arbre vigoureux qui atteint une grande taille quand il est cultivé sous des conditions de milieu qui lui sont favorables. Les fleurs teintées de pourpre et groupées en bouquets, sont remontantes et de grande taille. Un certain pourcentage d'entre elles sont mâles en raison de l'avortement du pistil. Courantes sont : Eureka ou quatre saisons et Lisbon.

### 4) Le bigaradier (*Citrus aurantium* L.)

Vulgairement appelé orange amère, le bigaradier est le plus résistant au froid, l'excès d'eau et à la gommose de *phytophthora*. Principalement pour ces qualités, il a été le plus important et le plus populaire des portes greffes jusqu'à l'apparition de la Tristeza (Praloran, 1971).

### 5) Le pomelo (*Citrus paradisi* Macfayden)

Grapefruit en anglais, c'est la seule espèce qui ne soit pas originaire du Sud-Est asiatique car elle est apparue aux Antilles. Elle provient d'une mutation de bourgeon d'une hybridation du pamplemousse (Praloran, 1971).

### 6) Le pamplemoussier (*Citrus maxima* ou *Citrus grandis* L. Osbeck)

Bien qu'ils forment deux espèces différentes, le pamplemoussier et le pomelo sont assez étroitement apparentés et plusieurs auteurs considèrent que le pomelo n'est qu'une sous espèce ou une variété botanique de *Citrus grandis*.

### 7) Le cédratier (*Citrus medica* L.)

Les fruits de cette espèce sont habituellement de très grande taille et de forme oblongue terminée par un mamelon. Les pépins sont monoembryonnés. Le cédratier est la seule espèce d'agrumes qui se multiplie par bouturage (Praloran, 1971). Les variétés les plus connues sont le cédratier de corse et le cédratier diamante.

### 8) Le limetier (*Citrus aurantifolia* Swingle)

Les fruits très petits de couleur jaune verdâtre sont de forme sphérique à ovale et se terminent par un court mamelon. Ils présentent une peau lisse très mince à coriace et la pulpe juteuse. Les variétés les plus connues sont la lime mexicaine appelée citron vert ou lime à petits fruits et la lime à gros fruits dont le type est la variété Bears.

#### I.6.2- Le cycle de développement

Le cycle de développement des agrumes se caractérise par la succession de deux phénomènes : la croissance végétative et la fructification (Rebour, 1950).

##### I.6.2.1- La croissance végétative

Les agrumes sont des arbres à feuillages persistants sauf pour *P. trifoliata* qui perd son feuillage en hiver (Loussert, 1989), sont caractérisés par une émission régulière de feuillage durant l'année. Représentés par l'apparition des jeunes ramifications dites poussées de sève au cours de trois périodes distinctes de l'année :

##### A. Première poussée de sève (poussée de printemps)

De fin février jusqu'au début Mai, les ramifications s'allongent et développent des jeunes feuilles de coloration verte-claire, sur ces nouvelles pousses apparaissent en Avril et Mai les oranges fructifères.

##### B. Deuxième poussée de sève (poussée d'été)

De juillet à Août, se développent de nouvelles pousses qui sont en général moins importantes que celles de printemps et d'automne.

##### C. Troisième poussée de sève (poussée d'automne) :

D'octobre à fin Novembre, elle assure le renouvellement du feuillage. Ces trois poussées sont le résultat de trois flux de sève qui assurent le développement végétatif de l'arbre. Les arbres ne subissent pas le phénomène de dormance mais seulement un ralentissement de l'activité végétative (Loussert, 1989).

##### I.6.2.2- Développement floral

Les principales étapes du développement floral sont : la floraison, la pollinisation et la fécondation.

### A. La floraison

Elle s'étale de fin Mars au début Mai : chez certaines espèces, la floraison peut être échelonnée durant toute l'année. C'est le cas des limettiers et des cédratiers. Praloran (1971) rapporte que la production des fleurs qui donnent des fruits atteignant la maturité est faible, en effet 1% des 60 000 fleurs suffisent pour assurer une récolte de 100kg /arbre.

### B. Pollinisation

Lors de la pleine floraison, les anthères des étamines s'ouvrent et laissent échapper les grains de pollen, ces derniers sont transportés par le vent ou par les insectes, particulièrement les abeilles. Le développement parthénocarpique du fruit est déclenché par la germination de la graine de pollen sur le stigmate sans qu'il ait fécondation complète (Ghelamallah, 2005).

### C. Fécondation

Les espèces et les variétés riches en pépins assurent la fécondation complète.

Après que la germination du pollen est réalisé, le stigmate, le germe de pollen se développe dans le stylet et se termine par la fusion des deux gamètes (Anthérozoïde, Oosphère), c'est la phase ultime de la fécondation (Matmati, 2005).

## I.6.2.3-Développement des fruits

Les étapes du développement sont : la nouaison, le grossissement et la maturation.

**A. La nouaison** : C'est la première étape du développement du fruit juste après la fécondation.

**B. Le grossissement** : Etape rapide (Mai-Juin) qui nécessite de l'eau et des éléments nutritifs (N) afin d'obtenir un bon calibre et une bonne qualité du fruit (Matmati, 2005).

**C. La maturation** : cette étape s'effectue pendant la période échelonnée entre Juillet et Septembre, le fruit poursuit son développement en grosseur pour atteindre en Octobre son calibre définitif (Loussert, 1989 ; Praloran, 1971 in Berrighi, 2007).

## I.7- Les problèmes phytosanitaires des agrumes

La culture des agrumes revêt une importance économique et stratégique pour le pays, pour cela, il serait utile d'améliorer et de protéger cette culture contre tous les ravageurs et les maladies.

### I.7.1-Les maladies des agrumes

#### I.7.1.1- Les maladies bactériennes

La bactériose des agrumes est provoquée par la bactérie *Pseudomonas syringae* Vanhall. Cette maladie se manifeste surtout sur les feuilles et les rameaux. Les attaques sur fruits sont observées, sur citronnier. De nombreuses maladies bactériennes présentant des aspects très divers peuvent se développer sur agrumes, parmi lesquelles, nous citons le cancer des *Citrus* dont l'agent causal est *Phytoplasma citri* Hass (Loussert, 1987).

#### I.7.1.2- Les maladies à virus ou viroïdes

Les maladies virales importantes et qui touchent les agrumes un peu partout dans le monde sont :

Le Greening qui est transmise par deux espèces de psylle *Diaphorina citri* et *Trioza erythrae*. Le Stubbon causé par un mycoplasme le bois de greffé et des cicadelles.

L'*Exocortis* cachexie (xyloporose) causé par un viroïde et se transmet par voie mécanique, le complexe de la Psorose causé par *Citricolpox* est souvent une maladie latente sur la plupart des espèces des agrumes, elle se diffuse par greffage,

La Tristeza causé par *Citricolpox* (Loussert, 1987).

#### I.7.1.3- Les maladies d'origine cryptogamique

- **La Pourriture sèche racinaire**

C'est une maladie qui est causé par *Fusarium* sp., dont les symptômes sont, une mort brutale des arbres. Un dépérissement unilatéral des arbres. Et une pourriture sèche des racines avec une coloration brune ou marron (ITAFV, 2012).

- **Gommose à *Phytophthora***

Le champignon responsable est localisé à la base des charpentières, il provoque un craquellement de l'écorce avec exsudation de gomme et entraîne un flétrissement annonçant la mort de l'arbre au moyen et à long terme (ITAFV, 2012).

- **Pourridié (pourriture des racines)**

A la suite d'une blessure ou sur certaines variétés sensibles, le mycélium de différents Champignons peut envahir les racines, provoquant l'arrêt de la circulation de la sève et par suite la mort de l'arbre (ITAFV, 2012).

- **La fumagine**

Cette maladie est généralement la conséquence d'une forte attaque de cochenille et de puceron, ou d'aleurode. En effet, ces insectes rejettent sur les feuilles et la rameaux, un miellat

sur lequel le champignon responsable de la fumagine (*Capnodium citri*) trouve un milieu favorable à son développement (ITAFV, 2012).

- **L'antracnose**

Cette maladie connue sous le nom de « flétrissure des rameaux » est causée par *Colletotrichum gloeosporioides*. Elle sévit au début de l'automne elle affecte les arbres affaiblis souffrant des déséquilibres hydriques ou minérales. Elle provoque des dessèchements très caractéristiques des jeunes rameaux sur la cime des arbres.

- **Le mal secco**

Cette maladie cryptogamique est causée par *Phoma tracheiphilia* ; champignon qui se développe dans les tissus conducteurs et entrave la circulation de la sève causant un dessèchement des grosses branches et dépérissement total de l'arbre en un ou deux ans. L'espèce la plus sensible est le citronnier, mais on peut aussi l'observer sur clémentinier.

- **L'alternariose**

Causé par *Alternaria citri* et *Alternaria pierca*, elle est appelée pourriture noire, car elle est à l'origine d'une pourriture spécifique sur les fruits. Ses dégâts sont localisés dans la zone de l'ombilic, atteignant également une partie de la pulpe qui se transforme en amas poudreux de couleur noir mate.

### I.7.2- Les principaux ravageurs des agrumes

**Tableau N°04** : Les ravageurs des agrumes en Algérie (Bich,2012).

Ravageurs	Noms		Dégâts
	Scientifique	Commun	
<b>Insectes</b>	<i>Aonidiella aurantii</i>	Pou de Californie	Attaquent les feuilles, les rameaux, et les fruits. Développement de la fumagine, chute des feuilles et dépérissement des fruits.
	<i>Lepidosaphes beckii</i>	La cochenille moule	
	<i>Lepidosaphes glowerii</i>	La cochenille virgule	
	<i>Chrysomphalus dictyspermi</i>	Pou rouge de Californie	
	<i>Parlatoria ziziphi</i>	Pou noir de l'oranger	
	<i>Parlatoria pergandei</i>	Cochenille blanche	
	<i>Saissetia oleae</i>	Cochenille H	
	<i>Icerya purshasi</i>	La cochenille australienne	
	<i>Coccus hesperidum</i>	Cochenille plate	

	<i>Ceroplastes sinensis</i>	Cochenille chinoise	Avortement des fleurs et déformation des très jeunes feuilles. Développement d'abondantes colonies des pucerons sur les parties jeunes des arbres	
	<i>Pseudococcus citri</i>	Cochenille Farineuse		
	<i>Aphis spiraecola</i>	Puceron vert des citrus		
	<i>Aphis gossypii</i>	Puceron vert du cotonnier		
	<i>Toxoptera aurantii</i>	Puceron noir des agrumes		
	<i>Myzus persicae</i>	Puceron vert de pêcher		
	<i>Aleurothrixus floccosus</i>	L'aleurode floconneux		Provoque des souillures importantes ainsi que le développement de la fumagine
	<i>Dialeurodes citri</i>	L'aleurode des citrus		Provoque des nuisances et développement de la fumagine
	<i>Phyllocnistis citrella</i>	Mineuse des agrumes		Attaque les feuilles et les jeunes pousses
	<i>Ceratitis capitata</i>	Mouche méditerranéenne des fruits	Provoque la pourriture des fruits	
<b>Nématode</b>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Nématode des agrumes	Croissance ralentie des arbres ; pas de symptômes spécifique de cette espèce	
<b>Acarien</b>	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	Acarien tisserand	Provoquent des ; nécroses, décoloration et chute des feuilles, des fruits et des bourgeons.	
	<i>Hemitarsonemus latus</i>	Acarien ravisseur		
	<i>Aceria sheldoni</i>	Acarien des bourgeons		

# Chapitre II : La *fusariose* des agrumes

## II.1- Introduction

Parmi les champignons agents de maladie vasculaires, ceux appartenant au genre *Fusarium* sont les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures (Nelson et *al.*, 1981). Depuis la description du genre *Fusarium* par Link en 1809, de nombreux travaux ont été consacrés à la taxonomie de ce champignon (Booth, 1971 et Booth, 1977). Selon la classification de Wollenweber et Reinking (1935) (in Nelson, 1983), le genre *Fusarium* est subdivisé en 16 sections regroupées en 9 espèces phytopathogènes.

D'après Galinas (1995), le nom *Fusarium* vient de « fusus » qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées. Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivants en saprophytes. Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Chabasse et *al.*, 2005).

Les infections dues aux *Fusarium spp* sont collectivement regroupées sous le terme de « fusariose ». Les fusarioses sont des maladies redoutables, le champignon qui se présente dans le sol peut pénétrer très tôt dans la plante et provoquer des fontes de semis, si la plantule résiste, il envahit les vaisseaux et finit par provoquer la mort de la plante suite à la production des mycotoxines (Merouane et Hammou, 2005).

Sur le plan économique le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes. De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaire sur des tissus végétaux sénescents. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), des légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers tels que les agrumes.

## II.2- Caractéristiques générales des *Fusarium sp.*

La température optimale de croissance des *Fusarium* 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 ; Ferry, 2005).

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (le nom *Fusarium* vient du latin « fusus » car les spores de ces moisissures sont en forme de fuseau).

Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores. Les phialides, plus ou moins allongées, présentent, le plus souvent, un site de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé (*F. solani*) ou court et trapu (*F. oxysporum*). Chez d'autres espèces comme *F. proliferatum*, les phialides présentent plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides). Les phialides produisent deux types de conidies :

Micro conidies-uni- ou bicellulaires, piriformes, fusiformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées, disposées en verticille ou plus rarement en chaînettes

(*F. verticilloides*) ; macroconidies-conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, souvent groupées en paquets.

Les macroconidies sont fusiformes, souvent courbées, avec une cellule basale pédicellée, formant une sorte de talon plus ou moins visible.

Les chlamydospores, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (Roquebert, 1998).

### II.3-Classification

Les *Fusarium* sont les formes asexuées de plusieurs espèces d'Ascomycètes. Leur position systématique est :

**Règne**.....*Fungi*  
**Division**.....*Ascomycota*  
**Subdivision**..... *Pezizomycotina*  
**Classe** ..... *Sordariomycetes*  
**Sous classe** .....*Hypocreales*  
**Ordre** ..... *Nectriaceae*  
**Genre** ..... *Fusarium*

Le classement actuel utilisé pour le genre *Fusarium*, dérive de celui de Nelson et *al.* (1983), lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été corrigé par Burgess et *al.*, (1994), puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006). Ces techniques ont permis notamment de reclasser certaines variétés dans de nouvelles espèces (Carter et *al.*, 2000 ; Aoki et O'Donnell, 1999 ; Benyon et *al.*, 2000) (tableauN°5).

**Tableau N°5** : Nomenclature des sections et espèces de *Fusarium* (Rossman et al., 1999 ; Schroers et al., 2011 ; Grafenhan et al., 2011).

Section selon Wollenweber & Reinking (1935)	Section actuelles	Principales espèces	Téléomorphes connus
Eupionnotes		<i>F.dimerum, F.merismoides</i>	<i>Nectria</i> *
Macronia	Macronia		<i>Nectria</i> *
Spicarioides	Spicarioides		<i>Albonectria</i>
Submicrocera	Retirée des <i>Fusarium</i>		
Pseudomicrocera	Retirée des <i>Fusarium</i>		
Arachnites	Retirée des <i>Fusarium</i>		
Sporotrichiella	Sporotrichiella	<i>F.poa</i> , <i>F.tricinatum</i> , <i>F.sporotrichioides</i>	Non connu
Roseum	Roseum	<i>F.avenaceum</i>	<i>Gibberella</i>
Arthrosporiella	Arthrosporiella	<i>F.semitectum</i>	Non connu
Gibbosum	Gibbosum	<i>F.equiseti, F.acuminatum</i>	<i>Gibberella</i>
Discolor	Discolor	<i>F.culmorum</i> , <i>F.graminearum, F.sambucinum</i>	<i>Gibberella</i>
Lateritium	Lateritium	<i>F.lateritium</i>	<i>Gibberella</i>
Liseola	Liseola ou complexe <i>G.fujikuroi</i>	<i>F.verticillioides, F.proliferatum</i>	<i>Gibberella</i>
Elegans	Elegans	<i>F.oxysporum</i>	Non connu
Martiella	Martiella-	<i>F.solani</i>	<i>Haematonectria</i>
	Ventricosum		

#### II.4-Fusarium des agrumes ou pourriture sèches des racines

La pourriture sèche des racines d'agrumes ou "**dry root rot**" est une maladie qui se manifeste actuellement dans plusieurs pays provoquant, parfois, des dégâts considérables. Elle a été signalée aux Etats-Unis, en Afrique du Sud, en Argentine, au Brésil, et en Grèce (Mathioudi et al., 1987). Selon ces auteurs, cette maladie serait à l'origine de la destruction de plus de 30% des arbres d'une région agrumicole en Grèce.

#### II.4.1- Description de la maladie

Le nom *Fusarium* est donné à un genre de champignons imparfaits (*Deutéromycètes*), qui comprend plus de 100 espèces. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fusus* car ses spores sont en forme de fuseau. A l'heure actuelle nous utilisons principalement un classement dérivé de celui de Nelson et al (1983). Lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections, dans chaque section on trouve aux moins une espèce.

L'espèce *Fusarium solani* est toujours associée à la maladie de la pourriture sèche des agrumes. Toutefois, d'autres espèces telles le *F. oxysporum* et le *F. proliferatum* sont aussi observées dans la rhizosphère et dans les tissus infectés des agrumes.

Cette affection, décrite la première fois par Fawcett (1936), a été observée en Californie, à Cuba, en Australie, en Italie, au Sud de la Russie et en Rhodésie (Vanderweyen et Serrhini, 1981). Il a été constaté que certaines espèces de *Fusarium* sont toujours associées à la pourriture sèche des racines (Dry Root-Rot) (Bender et al., 1982). L'écorce de la racine est désagrégée et le bois au-dessous du collet de l'arbre est attaqué. L'écorce est d'abord molle, puis elle devient dure. Les feuilles se dessèchent plus ou moins rapidement et tombent. Si l'arbre malade est abandonné à lui-même, la mort ne tardera pas à venir.

#### II.4.2- Epidémiologie

La maladie se manifeste uniformément dans toutes les catégories du sol. Les dégâts les plus importants sont observés sur des sols lourds, mal drainés et peu profonds. De plus, la maladie est favorisée par l'acidité du sol ainsi que par une fumure ammoniacale excessive et par tout facteur provoquant des blessures au niveau du collet ou des racines (techniques culturales, attaques par les nématodes, *Phytophthora* sp., rongeurs) (Bender et al., 1982).

Ces espèces présentes des formes phytopathogènes hautement spécifiques sur des hôtes variables, induisant des flétrissements, unilatéralement ou généralisée, causant ainsi la mortalité des plantes hôtes parasitées (Armstrong, 1981).

Pendant les années à pluviosité importante et continue, ou d'années à température estivale élevée, la maladie se répand très vite. Par contre, pendant les années sèches et fraîches on constate une stabilisation de son évolution. On peut distinguer trois périodes pendant lesquelles les symptômes s'extériorisent fortement, à savoir au printemps (plein floraison), en Eté (températures élevées) et en Automne (début de la maladie des fruits) (Young et al., 1984).

Dans des conditions favorables à la maladie, les porte-greffes les plus couramment utilisée (*Citrus aurantium*, *poncirus trifoliata* et *citrange Troyer* (*poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis* cv, Washington Navel orange) sont également affectés.

Les arbres exposés à un excès ou un manque d'irrigation deviennent très sensibles à l'infection, surtout les jeunes sujets de moins de 5ans, ainsi que les arbres en production de 15-20 ans.

La propagation de la maladie d'une partie de la plante à l'autre peut s'effectuer, soit à partir du collet vers les grosses racines et les radicelles, soit en sens inverse (Bender et *al.*, 1982).

#### II.4.3-Symptômes et dégâts

*Fusarium solani* est un champignon du sol qui provoque selon la plante infestée un dépérissement racinaire, la formation de chancres mous brun foncé à noirs sur les tiges, soit au niveau des nœuds soit aux niveaux de plaies. Une section transversale de la tige montre au cœur une tâche noire qui peut s'étendre sur une grande longueur. A des stades avancés, il peut apparaître sur les zones de chancre de minuscules structures orangées ou brun clair : les périthèces (fructifications du champignon) ou un mycélium blanc.

Ces chancres au niveau des tiges perturbent la circulation de la sève et entraînent le flétrissement des organes touchés ou le flétrissement complet de l'individu.

Sur fruits, les symptômes peuvent être la présence au niveau du calice de tâches aqueuses noires ou bien le développement de mycéliums dans le fruit.

#### II.4.4- Biologie

Le développement de ce champignon se fait par reproduction sexuée ou asexuée. La reproduction sexuée traduit la forme parfaite du champignon. C'est le stade *Nectria haematococca*. Les spores, les ascospores se forment dans les périthèces. Ces périthèces se forment lors des derniers stades de la maladie. Les spores produites dans ces fructifications peuvent être projetées jusqu'à 2 m. Les ascospores sont formées lors de périodes prolongées de forte humidité. Ils peuvent survivre plusieurs jours à la surface des plantes dans l'attente de conditions favorables.

La reproduction asexuée est assurée par la formation de conidies qui ne sont pas projetées mais disséminées passivement (eaux de pluies, outils de taille mal désinfectés, ...). C'est le stade *Fusarium solani*. Ce stade est présent dans le sol, il est saprophyte (il se

retrouve fréquemment dans les tissus végétaux morts). Ce stade peut former des spores hivernantes ou chlamydo-spores qui peuvent rester viables pendant des années.

**II.4.5- Moyens de lutte**

*Fusarium solani* est un champignon du sol. Lorsque les plantes sont atteintes, il faut enlever l'intégralité de la plante de son système racinaire pour ne pas laisser de tissus végétaux contaminés dans le sol et brûler le tout. Des produits de désinfection des sols peuvent être appliqués mais sans certitudes d'une désinfection totale.

# Chapitre III : Les extraits de plante

### III-les extraits de plante

#### III.1-Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ce sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction (Fleuriet, 1982 ; Yusuf, 2006).

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe ou d'un tissu particulière (Nkhili, 2009).

##### III.1.1- La structure chimique

La structure chimique des polyphénols est comparable à tous les polyphénols. Ils sont caractérisés par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relie (Manallah, 2012).

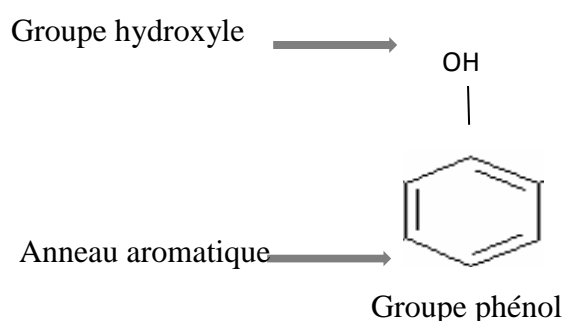


Figure N° 05 : la structure chimique de phénole.

##### III.1.2- Les composés phénoliques de défense constitutive

Les systèmes de défense préventifs sont des barrières préformées qui peuvent être de nature physique ou chimique. Les défenses constitutives physiques constituent une barrière mécanique difficile à franchir par les micro-organismes pathogène. Dans ce cas, la morphologie de la plante limite la progression des pathogènes. La cire, la cutine ainsi que la pénétration ou empêchent efficacement la progression des micro-organismes parasites (Elmodafar, 2002). Les barrières chimiques sont généralement des molécules solubles naturellement toxiques vis-à-vis des micro-organismes et des champignons parasites. On

appelle phytoanticipine, ces molécules constitutives de faible poids moléculaires qui présente ce caractère antibactérien ou antifongique (Elmodafar, 2002).

### **III.1.3- Les composés phénoliques de défense induite**

Le terme phytoalexine désigne les métabolites secondaires de faible poids moléculaire formés par la plante suite à une infection et possédant, entre autre, une activité antimicrobienne marquée. Les composés phénoliques de défense induite sont par définition des phytoalexines, cependant toutes les phytoalexines ne sont pas des composés phénoliques. Une grande variété de métabolites secondaires, dont de nombreux alcaloïdes et terpènes, répondent à cette définition. La frontière n'est pas toujours claire et une dualité existe dans la terminologie entre phytoalexine et phytoanticipine. On distingue deux groupes principaux de phytoalexines phénoliques ; les stilbènes d'une part et les flavonoïdes d'autre part (Elmodafar, 2002).

### **III.1.4- Classification des polyphénols**

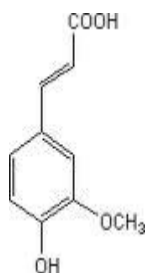
Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans fonction (alcooliques, carboxyles...) (EL Modafar, 2002).

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (Glombitza, 1985 ; Harborne, 1980 ; Goodwin, 1988 ; Porter, 1989 ; Boros, 2010).

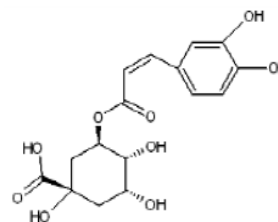
#### **III.1.4.1- Les acides phénoliques**

Ces composés sont dérivés de deux sous-groupes distincts : Les acides hydroxy cinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïque, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Ils sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Ils sont considérés comme substances photochimiques avec des effets probiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques.

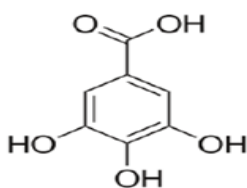
Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (Haslam, 1994).

**Acide férulique**

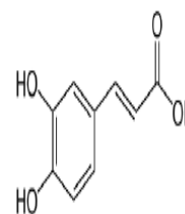
(Benaïssa, 2011).

**Acide chlorogénique**

(Benaïssa, 2011)

**Acide caféique**

(Nkhili, 2009).

**Acide gallique**

(Akroum, 2011).

**Figure N°06** : exemples de quelques acides phénols.

### III.1.4.2- Les Flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, « jaune » en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Erlund, 2004), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1993).

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Delporte *et al.*, 1999).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes. Ces molécules ont été identifiées dans presque toutes les parties de la plante : les feuilles, les racines, les tiges, les

fleurs, les graines et l'écorce (Lee et *al.*, 1994). Les flavonoïdes sont trouvés dans les fruits, les légumes, les noix, les herbes, les épices, aussi bien que dans le thé. Ils sont consommés régulièrement avec l'alimentation humaine qui nous apporte environ 75 mg de flavonoïdes par jour. En effet, le thé, les agrumes, les pommes, l'huile d'olive, les oignons, le cacao et plusieurs autres fruits et légumes sont très riches en flavonoïdes, les flavonols et les flavonols y seraient les plus abondants (Schewe et Sies, 2003).

### III.1.4.3- Structure et classification des flavonoïdes

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C<sub>6</sub>, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Figure ci-dessous) (Bruneton, 1999). La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C).

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles libres, méthyles ou glycolyses) sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central. C (Bruneton, 1999 ; Pietta, 2000 ; Heim *et al.*, 2002).

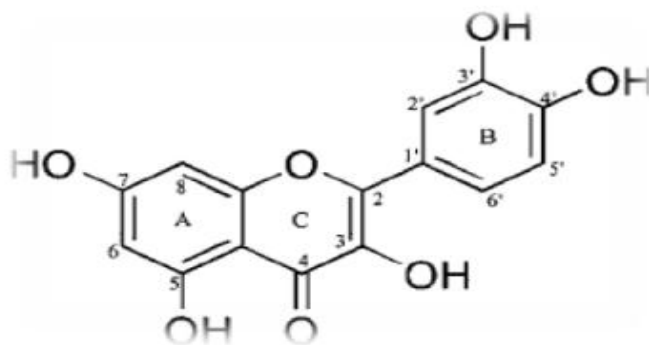


Figure N°0 7 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Heim et *al.*, 2002).

### III.2- Les huiles essentielles

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (Bruneton, 1993 ; Kalemba et Kunicka, 2003). Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, l'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation « sèche ». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques

(AFNOR, 2000). Cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais, de ce fait, elle écarte les produits obtenus en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enfleurage (Bruneton, 1999).

Il est important de distinguer huile essentielle de l'essence. Cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. En revanche, une huile essentielle est le résultat d'extraction de l'essence, autrement dit, l'essence distillée (Carette, 2000). Et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (Anton et Lobstein, 2005).

### **III.2.1- Répartition botanique**

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1500000 espèces végétales recensées, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites « aromatiques » (Bruneton, 1999 ; Degryse *et al.*, 2008). Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles regroupent, en particulier les Labiées, les Ombellifères, les Myrtacées et les Lauracées (Baser et Buchbauer, 2010).

### **III.2.2- Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles dans la plante**

Selon Vigan (2009), si la plante est douée d'un équipement enzymatique qui lui permet de produire une substance odorante, elle n'est pas équipée de la même manière de ses sommités florales à ses racines. En effet, une plante peut donner des huiles essentielles de composition chimique très différente en fonction des organes dont elle est issue (Roux-Sitruk *et al.*, 2008). Ceci dit, les huiles essentielles sont extraites soit des feuilles, des fleurs, des graines, des écorces, des racines, des bois, des rhizomes, des fruits secs, ou d'autres structures spécialisées (Desmares *et al.*, 2008). Leur qualité dépend d'un grand nombre de paramètres d'origines différentes tels que l'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques (Merghache *et al.*, 2009). Elles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (Lardry et Haberkorn, 2007).

Les huiles essentielles ont certainement un rôle dans la plante : il s'agit d'une sécrétion en réaction à l'environnement qui induit une augmentation de la biosynthèse de certains composants pour protéger la plante contre les prédateurs (insectes, champignons) ou

en favoriser la fécondation en attirant certains insectes pollinisateurs (Vigan, 2009 ; Bruneton, 2009).

### III.2.3- Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse *et al.*, 2008). Elles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, inflammables, très odorantes et ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 sauf pour les huiles essentielles de sassafras (*Sassafras. Albidum*), de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum, zeylanicum*). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (Bruneton, 1999 ; Charpentier *et al.*, 2008 ; Desmares *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol...etc.) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000).

Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais sont peu solubles dans l'eau (Bruneton, 1999). Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Martini et Seiller, 1999). Elles sont également très altérables et s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (Bruneton, 1993).

### III.2.4- Rôle physiologique

Le rôle exact des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des propriétés biologiques très variées qui leur permettent d'exercer plusieurs effets utiles pour la plante tels que repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, inhibition de la multiplication de la flore microbienne infectieuse (Mann, 1987 ; Deroin, 1988 ; Bakkali, 2008).

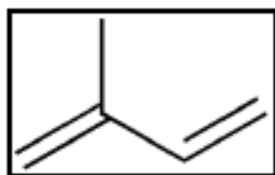
Comme source énergétique, elles facilitent certaines réactions chimiques (Bakkali *et al.*, 2008). Dans les climats désertiques, elles permettent de conserver l'humidité de la plante. De plus, elles peuvent être utilisées comme moyen de compétition aux ressources environnementales par l'inhibition de la germination des graines des autres espèces de plante ou par la limitation de la croissance de certaines espèces voisines (Fischer *et al.*, 1994 ; Bakkali *et al.*, 2008).

### III.2.5- Composition chimique

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe (Jocteur, 2007 ; Couic-Marinier et Lobsteine, 2013). Le terme « complexe » indique que ces huiles sont des mélanges de nombreux constituants à proportions très différentes (Cruz Cabral *et al.*, 2013). Ce sont des mixtures naturelles d'hydrocarbures et d'oxygène (alcools, aldéhydes, cétones, carboxyles, acides, esters et lactones) (Shirzad *et al.*, 2011). Elles sont susceptibles de s'oxyder rapidement, donc leur composition peut évoluer après extraction selon leur condition de stockage (Vigan, 2009). Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamentale, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle (Couic-Marinier et Lobsteine, 2013). La plupart des huiles essentielles sont constitués de 20 à 60 composés, dans de nombreux cas, un petit nombre de ces composés (1 à 5) sont majoritaires et représentent de 70 à 90% du mélange (Böhme *et al.*, 2014). Elles ne contiennent ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne renferment pas de minéraux ni de vitamines, elles n'ont donc aucune valeur nutritionnelle (Couic-Marinier et Lobsteine, 2013), leurs constituants moléculaires appartiennent exclusivement à deux familles chimiques : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

#### III.2.5.1- Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à cinq atomes de carbone ( $C_5H_8$ ) (figure N°08) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011).

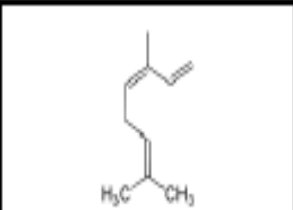
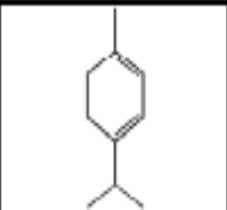
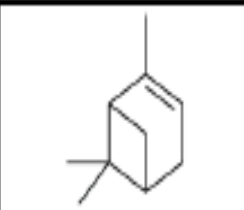
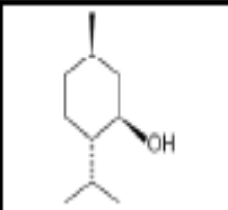
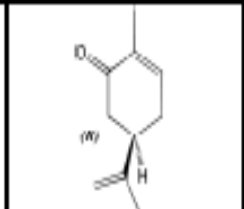
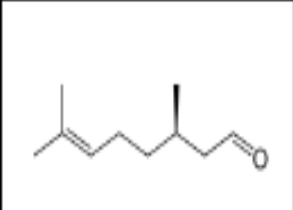
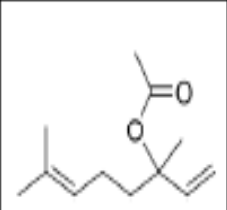

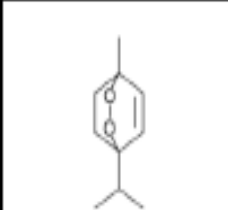
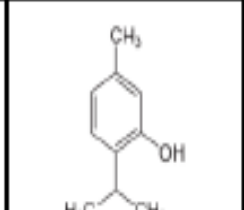
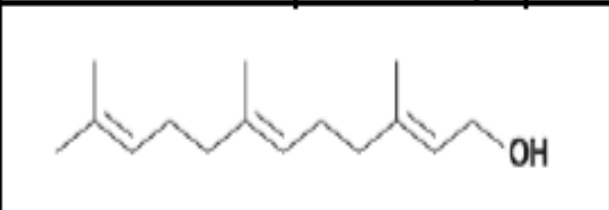
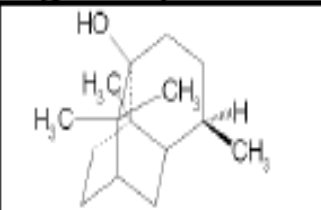
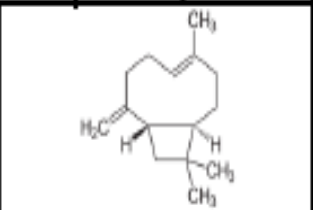


**Figure N°08** : Formule de l'isoprène (Fillatre, 2011)

Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'unités isopréniques en : hémiterpènes (1 unité :  $C_5$ ), monoterpènes (2 unités :  $C_{10}$ ), sesquiterpènes (3 unités :  $C_{15}$ ), diterpènes (4 unités :  $C_{20}$ ), sesterpènes (5 unités :  $C_{25}$ ), triterpènes (6 unités :  $C_{30}$ ), carotènes (8 unités :  $C_{40}$ ) et les polyisoprènes (n unités :  $C_{5n}$ ) (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011).

Un terpène qui possède un oxygène est un terpénoïde. A noter que le terme terpène, anciennement employé pour caractériser l'ensemble de la classe des terpénoïdes, a une définition aujourd'hui plus restreinte et ne s'adresse qu'aux (mono)-terpénoïdes hydrocarbonés (Baser et Buchbauer, 2010). Dans le cas des huiles essentielles, seuls sont rencontrés les terpénoïdes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, principalement les mono- et sesquiterpénoïdes et, beaucoup plus rarement, les diterpénoïdes. Les monoterpénoïdes représentent à eux seuls environ 90% des huiles essentielles (Richter, 1993 ; Bruneton, 1999 ; Bakkali *et al.*, 2008).

Les terpénoïdes se caractérisent par une grande variété de structures dont certaines sont regroupées dans la figure suivante (figure N°9) (Fillatre, 2011) :

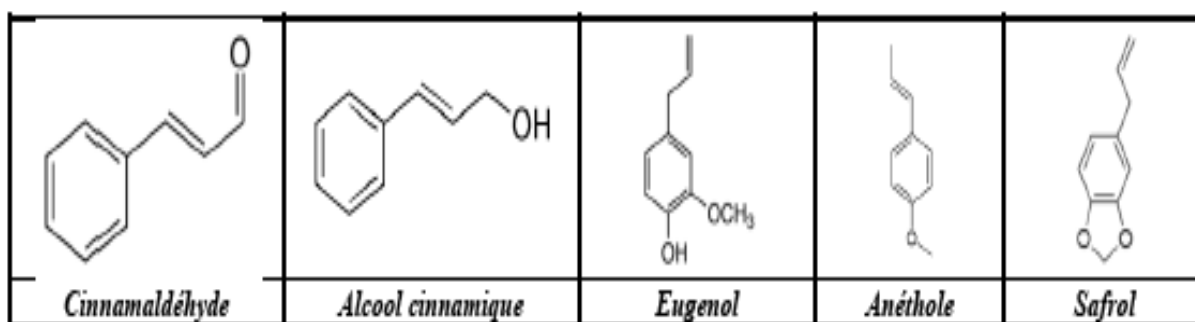
				
<i>Ocimène</i>	<i>α-terpinène</i>	<i>α-pinène</i>	<i>(+)-menthol</i>	<i>R-carvone</i>
				
<i>Citronellal</i>	<i>Acétate de linalyle</i>	<i>Eucalyptol</i>	<i>Ascaridole</i>	<i>Thymol</i>
				
<i>Farnésolle</i>		<i>Patchoulol</i>		<i>β-caryophyllène</i>

**Figure N°09** : Représentation de molécules caractéristiques des différentes structures rencontrées chez les mono- et sesquiterpénoïdes (Fillatre, 2011).

Si les composés terpéniques sont les constituants majoritaires des huiles essentielles, les molécules aromatiques n'en demeurent pas moins des composés importants, à l'exemple du cinnamaldéhyde qui représente environ 75% de l'huile essentielle de cannelle (Garnéro, 1996).

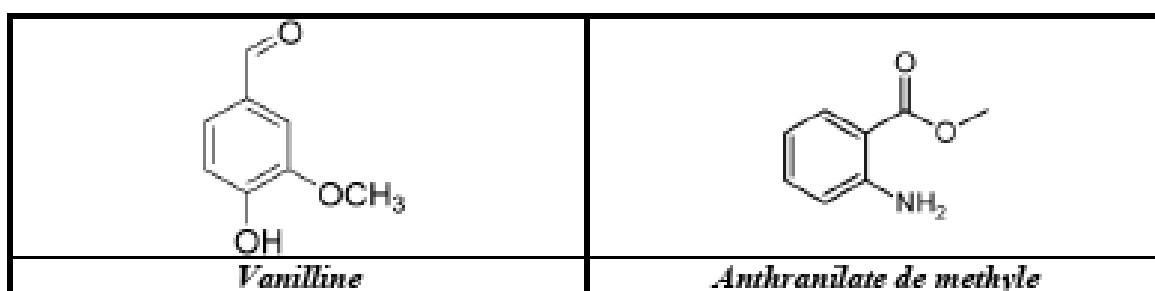
### III.2.5.2- Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C6-C3 (figure N°10), parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des phénols (chavicol, eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrol) (Bruneton, 1999).



**Figure N°10** : Exemples de composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

Il est cependant possible de rencontrer des composés C6-C1, comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (Figure N°11), ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines, par exemple) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).



**Figure N°11** : Exemples de composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

### III.2.5.3- Les composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z) - hexenol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique)

(Bruneton, 1999). Si la concentration de ces composés est généralement très faible, ils peuvent cependant avoir une influence considérable à l'exemple de la  $\beta$ -damascenone. Cette molécule, issue de la dégradation des terpènes, ne représente que 0.14% de l'huile essentielle de rose (*Rosa damascena*). Elle est pourtant un contributeur majoritaire de l'odeur de cette huile (Leffingwell, 2011).

#### III.2.5.4-Notion de chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'huile essentielle. Cet élément permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

#### III.2.6-Domains d'application

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi, les différentes utilisations possibles et du coût de production (Grysole, 2005 ; Fillatre, 2011). Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (Fillatre, 2011).

Dans le domaine de l'agriculture, la volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture moderne en faveur de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, s'est affirmée ces dernières années. Concernant les pesticides, l'un des projets de loi vise à réduire la consommation en produits phytosanitaires de 50% en dix ans, l'échéance étant 2018 (Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2008). Dans ce contexte environnemental. Les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (Isman, 2000 ; Dayan *et al.*, 2009).

Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Outre leurs activités biologiques, les huiles essentielles présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles.

### III.2.7- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (Sallé, 2004). En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Crespo et *al.*, 1991 ; Hellal., 2011).

Plusieurs techniques permettent d'extraire les huiles essentielles de végétaux :

- La distillation à vapeur d'eau
- La pression à froid
- L'extraction avec du solvant
- L'enfleurage...
- Hydro diffusion
- Extraction assistée par micro-ondes
- Extraction par fluide à l'état supercritique

## III.3-La sauge

### III.3.1- Historique

La sauge était probablement déjà employée en Egypte, environ 6000 ans avant J-C. Elle a vraisemblablement été cultivée pour la première fois en Grèce puis introduite en Europe centrale à partir du VIII<sup>e</sup> siècle ou elle était cultivée dans les monastères et les jardins. Dès le Moyen Age, elle devient une véritable panacée. Elle fait partie des plantes dont la culture était recommandée par Charlemagne dans l'ordonnancement rural. « Capitulaire de villis » (Brieskorn, et *al.*, 1991 ; Laux H.E et *al.*, 1993 ; Ruegg et *al.*, 1997).

*Salvia officinalis* L est économiquement une des espèces les plus importantes du genre *Salvia*, comprend près de 1000 espèces à travers le monde, et représente l'un des plus grands genres dans la famille des Lamiacées (Lakušić et *al.*, 2013). La sauge est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne (Djerroumi et Nacef, 2004)

En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la

nomment « essalma » qui ajoute qu'elle est appelée « salbia » par les botanistes en Espagne. L'algérien indique l'expression « souekennebi » comme synonyme de Saleme (Khireddine, 2013).



**Figure N°12** : Aspect de *Salvia officinalis* (Originale, 2018).

A : les feuilles de la sauge.

B : les feuilles et les fleurs de la sauge.

### III.3.2- Description morphologique

La sauge est un aromate réputé et une des principales plantes médicinales. Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de cette plante en phytothérapie ; la sauge vient de *salvare* qui en latin, signifie « guérir » selon un dicton « qui a la sauge dans son jardin n'a pas besoin de médecin » (Beloued, 2009).

Plante vivace à tige ligneuse formant un buisson dépassant parfois 80cm, rameaux vert-blanchâtre. Feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres, et opposées ; fleurs bleu-violacé claire en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés. Calice campanulé à 5 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée ; fruits en forme de tétrakènes (Hans, 2007).

La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. la tige mesure de 20 à 30 cm et est très rameuse. Les feuilles, opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, rugueuses, à bord dentelé, réticulée, molles à dessus blanchâtre, persistent l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protègent. Les fleurs, sont grandes, bleu-rose lilas, visibles de mai à août, groupées à la base des feuilles supérieures, l'ensemble forme de grands épis. Commune en Algérie, elle est cependant rare à l'état sauvage.

Ces grains se cultivent en sol léger et perméable voire rocailleux, toujours à exposition ensoleillée. La multiplication se fait par bouturage ou division des touffes.

### III.3.3-Nomenclature

- **Noms communs** Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage (Fabre et *al.*, 1992).
- **Nom scientifique** : *Salvia officinalis*
- **Nom français** : *Calamenthe vulgare*
- **Nom vernaculaire** : Sâlmia ; Marimiya
- **Nom français** : Saugue
- **Nom anglais** : Garden sage (Ghourri et *al.*, 2013 ; Azzi, 2013).

### III.3.4- Classification taxonomique

Selon Ristic et *al.*, (1999) la saugue suit la classification suivante :

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : lamiales
- **Famille** : lamiaceae
- **Genre** : salvia
- **Espèce** : *Salvia officinalis* L.

### III.3.5- Production

Pour des plantations datant d'un an, la récolte se fait fin Aout, alors qu'elle est pratiquée début juillet et fin Aout lors de la 2<sup>ème</sup> année de culture. Après fauchage, le matériel végétal doit être rapidement séché à 45° C, les tiges étant éliminées avant ou après séchage. Une partie de la drogue est récoltée à l'état sauvage (Dachler et *al.*, 1999).

Pour un usage personnel, les feuilles fraîches peuvent être récoltées de Mai à Septembre. Les jeunes tiges feuillées doivent être cueillies juste avant la floraison, puis sont mises à sécher.

**III.3.6- Usage thérapeutique de la sauge****III.3.6.1-Usage interne**

En usage interne, la sauge est utilisée pour traiter toutes les faiblesses organiques, l'asthénie, la neurasthénie, les dyspepsies par atonie gastro intestinale, les digestions lentes, l'inappétence, les affections nerveuses (tremblement, vertiges, paralysies), l'apoplexie, les bronchites chroniques et l'asthme. On se sert aussi pour soigner les sueurs nocturnes des tuberculeux et des convalescents, les sueurs profuses des mains et des aisselles, les adénites, le lymphatisme, les fièvres intermittentes, la diurèse insuffisante, la stérilité, les symptômes de la ménopause, les diarrhées des tuberculeux et des nourrissons. Enfin, on s'en sert pour faire tarir la lactation (Ahami, 2007).

Elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les stressées et déprimées, et conseillée pour les étudiants en période d'examen (Djerrouni et Nacef, 2004). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs (Radulescu et Eliza, 2004).

**III.3.6.2- Usage externe**

En usage externe, la sauge est utilisée pour soigner les leucorrhées, les aphtes, les stomatites, les angines, les laryngites, les névralgies dentaires, l'asthme, les plaies atones, les ulcères, les dermatoses, la débilité infantile, le rachitisme, la scrofuleuse, l'alopecie et les piqures des guêpes et d'insectes. Enfin elle sert aussi à désinfecter les habitations (Beloued, 2009). Elle utilisé pour traiter les enfants affaiblis, les rachitiques, les scrofuleux et les rhumatisants, en ajoutant de l'infusion de la sauge à leur bain (Ahami, 2007). Avec son odeur rude et son gout puissant, légèrement amer et camphré, elle est utile partout dans la maison pour parfumer les aliments, assainir les armoires. Elle sert en gros à protéger la ligne, préserver la beauté et soigner les maladies (Duling, 2007).

**III.3.6.3- Toxicologie**

D'après nos connaissances, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée après emploi aux dose usuelles des feuilles de la sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour).

Cependant, la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption. Une consommation chronique de thuyone peut ainsi conduire à des troubles irréversibles du systèmes nerveux centrale, à des

perturbations des fonctions hépatiques, rénales et cardiaques (Rice et *al.*, 1976 ; Lewin et *al.*, 1992 ; Teuscher et *al.*, 1994).

Dans la mesure où la quantité de drogue, employée à des fins culinaires reste très faible, tout danger lié à la présence d'une forte teneur en thuyone semble exclu pour le consommateur. Cependant, des quantités importantes de drogue (dose supérieure à 15 g de drogue sèche) peuvent engendrer une sécheresse de la bouche, l'apparition de sueurs, de tachycardies et de vertiges. Un cas de toxicité aiguë après administration d'une forte dose d'huile essentielle (2g et plus) a été décrit, ainsi, la consommation régulière de sauge, même sous forme de tisane, ne paraît pas recommandée (Centini et *al.*, 1987 ; Saller et *al.*, 1996).

Le potentiel de sensibilisation est faible, des réactions allergiques restent jusqu'à présent ponctuelles et seraient liées à la présence d'acide carnosolique qui agirait comme allergène (Futrell et *al.*, 1993 ; Hjorth et *al.*, 1997 ; Hansel et *al.*, 1999).

### III.3.7-Composition chimiques

La sauge contient 5% de tanins, un principe amer 5,5% de résine, 6% de gomme du mucilage, des acides phosphoriques oxaliques, des nitrates, 9% de pentosane, des traces d'apragone et de 1,5 % à 2,5 % d'huiles essentielles dite huile de sauge, renfermant de la thuyone, du cinéole, du camphre des terpènes salive et pirosalive (Ryberg, 1991). Les principales composées phénoliques de la *salvia officinalis* sont rapportées sur le tableau N° 01 en annexe.

Plusieurs travaux récents ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen tel que, la Yougoslavie (Perry et *al.*, 1996, Putievsky et *al.*, 1992), la Bulgarie (Tsankova et *al.*, 1994), l'Italie (Place et *al.*, 1995 ; Piccaglia et *al.*, 1993), l'Égypte (Karawya et *al.*, 1981) et le Maroc (Belkamel et *al.*, 1990), etc. La composition chimique de l'huile essentielle de la sauge a été déterminée par la méthode chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG /SM), cette composition est représentée dans le tableau N°02 en annexe N°02.

**Donnée expérimentale**

# Chapitre I : Matériels et méthodes

## I- Matériels et méthodes

### I.1- Objectif du travail

Notre étude traite l'évaluation de l'effet d'un extrait méthanoïque et l'huile essentielle de *Salvia officinalis* « in vitro » sur la croissance et la sporulation de l'agent pathogène *Fusarium* sp.

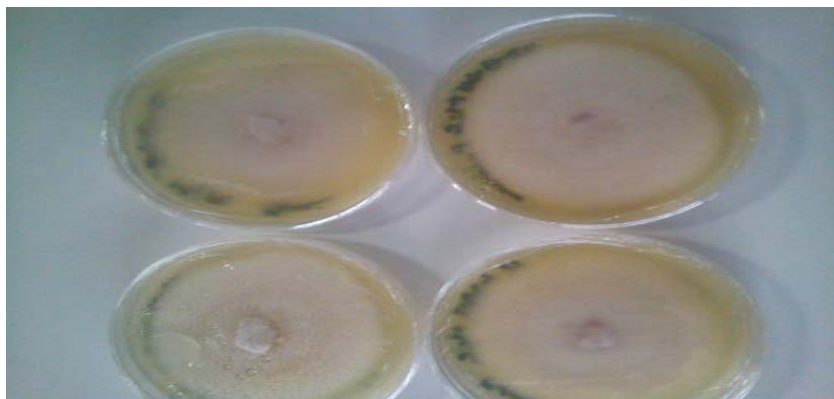
### I.2-Matériel fongique

L'isolat de *Fusarium* sp utilisée dans cette étude a été conservé au niveau du laboratoire de protection des végétaux. Il a été isolé en 2017, à partir d'un clémentinier présentant des symptômes de dépérissements, situé dans la région de Bouguirat wilaya de Mostaganem.

#### I.2.1- Repiquage de l'agent pathogène *Fusarium solani* sp des agrumes

Le repiquage correspond au prélèvement d'une partie d'une culture de champignon pour la transplanter sur un milieu neuf où il continuera sa croissance. Le choix des milieux de culture pour tous parasites dépend de ses exigences nutritionnelles (Rappily, 1969).

On a fait un repiquage de champignon sur le milieu PDA stérile dans des boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte, l'ensemencement se réalise avec des explants de 5mm de diamètre, prélevés de la périphérie d'une culture âgée de 1ans, à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Ces explants sont déposés au centre de la boîte de pétri dans des conditions de travail rigoureuses tel que la stérilisation du matériel du manipulateur pour éviter toute contamination de la souche. Les boîtes sont incubées à 25°C.



**Figure N °13 :** Aspect macroscopique de l'isolat de *Fusarium* sp. cultivé sur milieu P.D.A après 7jours.

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique employée est celle décrite par (Brewer 1960) et Leach (1962) in Loubelo (1992), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en les appliquant à la formule suivante :

$$L = D - d/2$$

Où : **L** : croissance mycélienne.  
**D** : diamètre de la colonie.  
**d** : diamètre de l'explant.

Afin d'établir la vitesse de croissance en fonction du temps, des mesures journalières du diamètre de la colonie sont effectuées (Rappily, 1969).

### I.2.2- Identification

L'identification repose sur une observation globale intégrant à la fois la morphologie des colonies et l'observation microscopique des spores ; elle s'effectue après 8j de culture. Selon Botton et *al.*, (1985), elle fait essentiellement appel aux :

Caractères culturels : vitesse de croissance apicale ; texture, marge, épaisseur et couleur de la colonie ; pigmentation de l'agar, production d'exsudat et odeur des colonies

Caractères morphologiques :

- Du mycélium : absence ou présence de cloisons, couleur, dimensions, ornementation des parois, mode de ramification.
- Des organes différenciés et de leur contenu : forme, couleur, dimensions, texture des parois et ornementation.

## I.3- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque et l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) vis-à-vis de *Fusarium* sp. des agrumes

### I.3.1- Matériel végétale

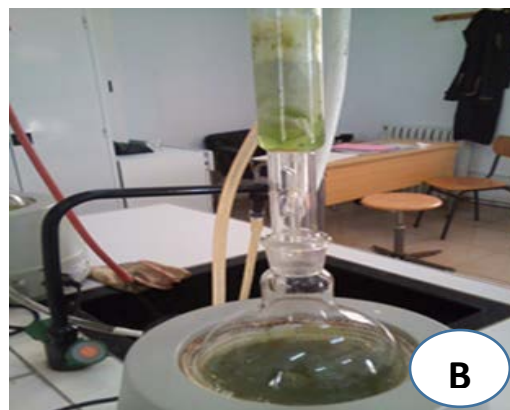
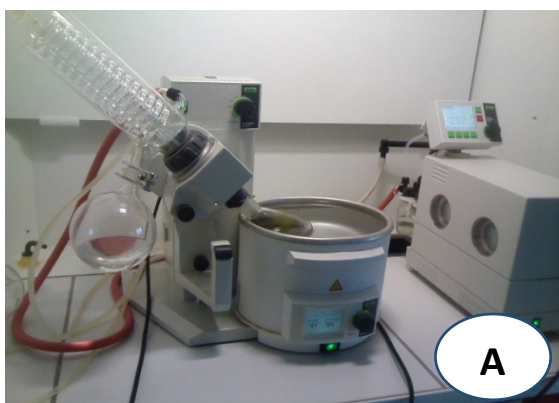
La plante *Salvia officinalis* a été récoltée du jardin du site 3 (ex : ITA) de l'Université de Mostaganem. Les feuilles de la sauge sont utilisées comme source de composés phénoliques pour évaluer un éventuel effet inhibiteur de la croissance mycélienne et sporulation de *Fusarium* sp. Les échantillons ont été mis dans l'étuve à la température de 35°C (pendant 3 jours), puis conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité ; pour une meilleure dessiccation. Après-cela, une partie des feuilles de la plante (300g) a été utilisée pour l'huile essentielle, d'autre partie (4g) a été broyée et tamisée pour obtenir une poudre fine pour l'extraction méthanoïque.

### I.3.2- Procédés d'extraction méthanoïque

#### I.3.2.1- Extraction par le dispositif Soxhlet



**Figure N°14** : feuilles séchées et poudre de la sauge (original, 2018).



**Figure N° 15** : dispositifs d'extraction (original, 2018)

A : Montage soxhlet

B : Montage rotavapeur

Un échantillon de 4g (figure N°14) de poudre est placé dans un récipient contenant 40 ml d'éther de pétrole, et laissé sous agitation à une température ambiante. La poudre sèche est ensuite transférée dans une cartouche en papier filtre épais pour être placée dans le réservoir de l'extracteur Soxhlet comme le montre la figure N°15. Au cours du premier cycle d'extraction en continu, le solvant (400ml de méthanol) contenant la matière à extraire retourne dans le ballon par déversements à travers le siphon situé dans le coude latéral. Après plusieurs cycles successifs (9 cycles) l'extrait récupéré est concentré par évaporation à sec à une température de 40°C à l'aide d'un rotavapeur. Le résidu récupéré est solubilisé dans de l'acétone 70% à raison de 1/10 (Jordan et *al.*, 2009). L'extrait obtenu est conservé à 4°C et à l'obscurité.

Nous avons procédé à deuxième extraction méthanoïque par le dispositif Soxhlet (la même méthode précédente) mais le solvant (400ml de méthanol) a été dilué ; le résidu n'a été donc pas récupérer par l'acétone.

### I.3.2.2- Préparation des dilutions des composés phénoliques

L'extrait est solubilisé dans des volumes variables d'eau distillée stérile en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% et un témoin contenant de l'eau distillée stérile Figure N°16 (A).

Pour l'extrait qui a été récupéré est solubilisé dans de l'acétone 70%, différentes concentrations 25%,50%,75%,100%. Deux témoins ont été également préparés l'un positif contenant de l'acétone à 70 % et l'autre à base d'eau distillée stérile Figure N° 16 (B).



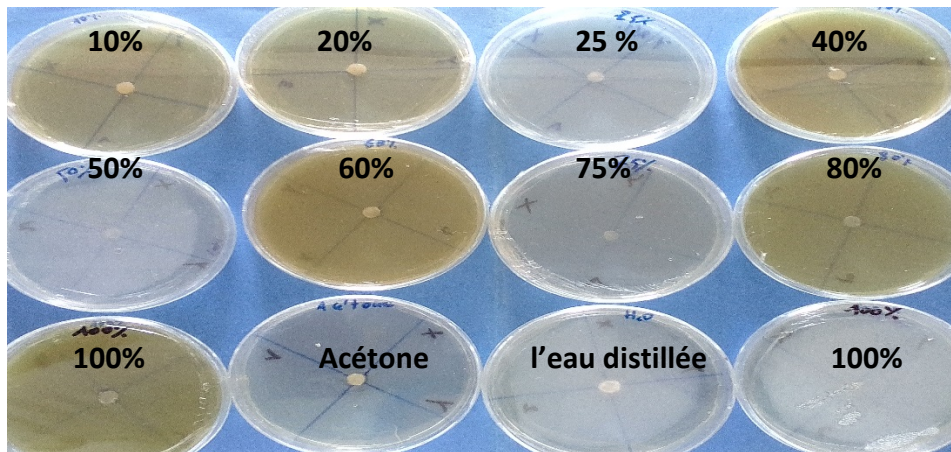
**Figure N°16:** Les différentes dilutions du composé phénolique (originale, 2018).

A : extraction par méthanol pure

B : extraction par méthanol diluée.

### I.3.2.3-Conduit de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Fusarium* sp.

1,5 ml de chaque dilution de l'extrait méthanoïque sont ajoutés aseptiquement à 13,5 ml de milieu de culture PDA. Après solidification, chaque boîte est inoculée à l'aide d'un disque mycélien de 5mm de diamètre provenant du front de croissance des cultures âgés d'une semaine. Les boîtes sont incubées à 25°C ; trois répétitions pour chaque concentration.

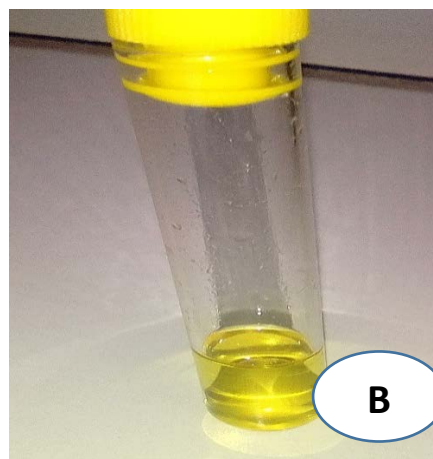


**Figure N°17 :** Essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque de la sauge vis-à-vis le *Fusarium* sp.

### I.3.3- Procédés de l'extraction de l'huile essentielle

#### I.3.3.1-La distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction (Figure N°17), le matériel végétal (480g) ne macère pas directement dans l'eau, il est placé sur une grillé perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. Cette dernière endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (pendant 3 heures). Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme *et al.*, 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005).



**Figure N°18 :** Hydro distillateur de type entraînement à la vapeur d'eau pour l'extraction de l'huile essentielle.

**A :** Dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.

**B :** l'huile essentielle de la sauge.

### I.3.3.2-Calcul du rendement d'huile essentielle

Selon la norme Afnor (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{M'}{M} \times 100$$

**RHE** : Rendement en huile essentielle en %.

**M'** : Masse d'huile essentielle en gramme.

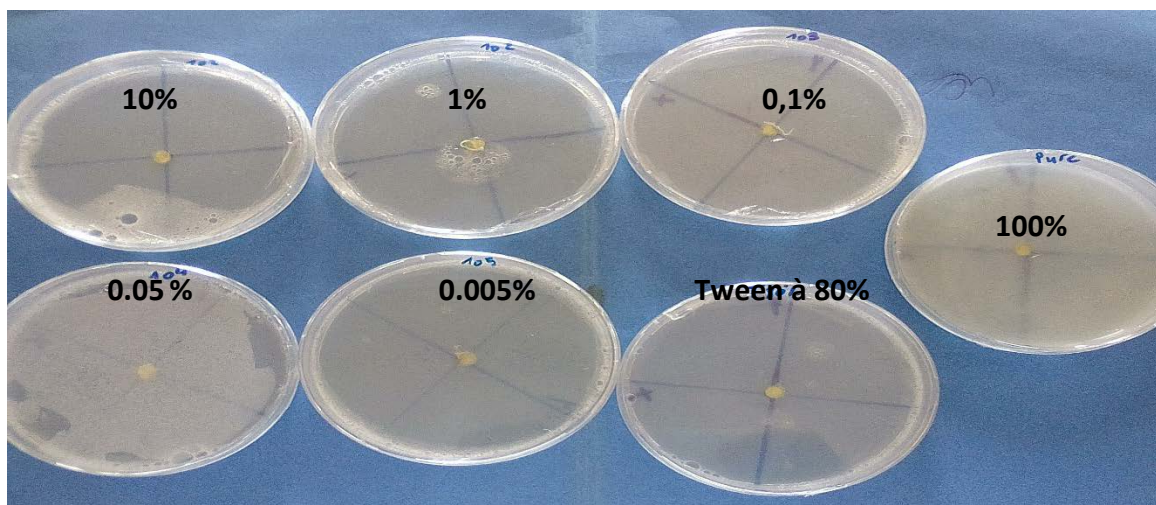
**M** : Masse de la plante en gramme.

### I.3.3.3- Préparation des dilutions

L'huile essentielle est solubilisée dans des volumes variables de Tween à 80 % en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations ; 100%, 10% ,1% ,0,1%,0,05%,0,005% et tween à 80 % comme témoin positif.

### I.3.3.4- Conduite de l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique « in vitro » de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* vis-à-vis de *Fusarium* sp.

1,5 ml de chaque dilution de l'huile essentielle sont ajoutés aseptiquement à 13,5ml de milieu de culture PDA. Après solidification, chaque boîte estensemencée à l'aide d'un disque mycélien de 5mm de diamètre provenant du front de croissance des cultures âgés d'une semaine. Les boîtes sont incubées à 25°C ; trois répétitions sont retenues pour chaque concentration.



**Figure N°19** : l'essai de l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de la sauge vis-à-vis le *Fusarium* sp.

#### I.4- Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne est estimée en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires, en utilisant la formule suivante :

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

**L** = croissance mycélienne / **D** = diamètre de la colonie / **d** = diamètre de l'explant

L'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne est obtenue à partir de la formule de Doumbouya et *al.*, (2012).

$$Ti\% = [(DT-D) / DT] * 100$$

**Ti%** : taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

**DT** : diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon (en cm) dans la boîte Pétri sans extrait (témoin)

**D** : diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon (en cm) dans la boîte Pétri qui contient la dilution préparée.

La sporulation est estimée selon la méthode décrite par Kaiser (1972) in Saiah (1994) qui consiste à broyer et à macérer dans 10 ml d'eau distillée stérile, une culture, le dernier jour du test de l'évaluation de la croissance mycélienne. Après agitation et filtration sur mousseline fine stérile, afin de retenir les fragments mycéliens, la numération des spores se fait à l'aide d'une cellule de Mallassez.

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation (Pis%) par rapport au témoin, est calculé comme suite :

$$PIs\% = [(N0 - NC) / N0] * 100$$

**PIs** : pourcentage d'inhibition de la sporulation (%)

**N0** : nombre de spores estimées chez le témoin

**NC** : nombre de spores estimées en présence de l'extrait

#### I.5- Analyse statistique

Le traitement de toutes les données a été réalisé à l'aide de Microsoft Office Excel pour le classement des données brutes et pour l'élaboration des graphes. L'analyse de variance et la comparaison des moyennes (test de Newman-Keuls) ont été effectuées par l'utilisation du logiciel Stat box version 6.4.

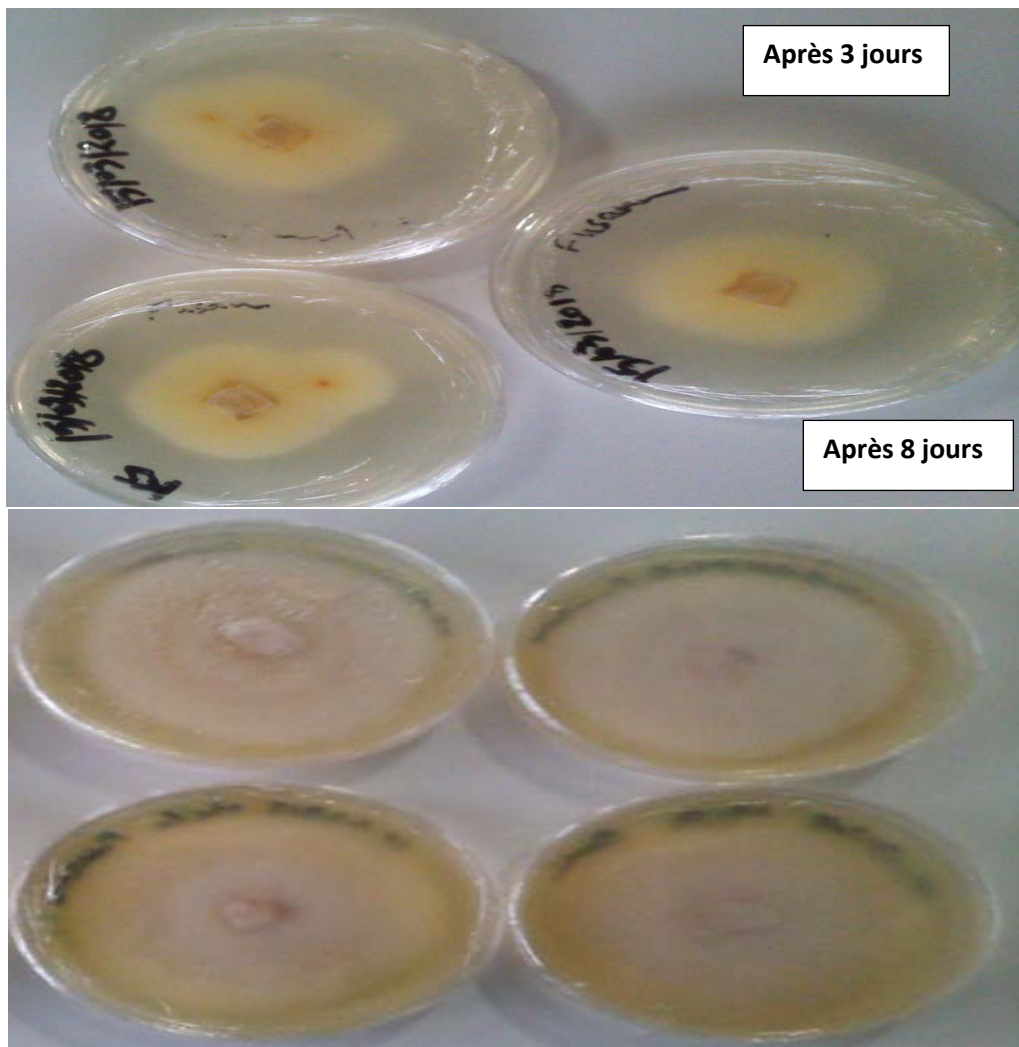
# **Chapitre II : Résultats et discussion**

## II-Résultats et interprétation

### II.1-Caractères morphologiques d'isolat de *Fusarium*

#### II.1.1-Etude de l'aspect macroscopique

Après 3 jours on observe un mycélium blanc et dense plus ou moins cotonneux sur le milieu de culture P.D.A ; après 5 à 6 jours l'isolat présente une pigmentation jaune, qui devient de couleur jaune foncé sur les côtés de la boîte et orange avec un aspect poudreux au centre après 8 à 10 jours.



**Figure N°20** : Aspect macroscopique de l'isolat de *Fusarium* sp. cultivé sur milieu P.D.A

(Originale 2018)

### II.1.2- Etude de l'aspect microscopique

Ce champignon possède uniquement des macroconidies en forme arqué et allongées, pas de cloison mais avec de fausse tête.

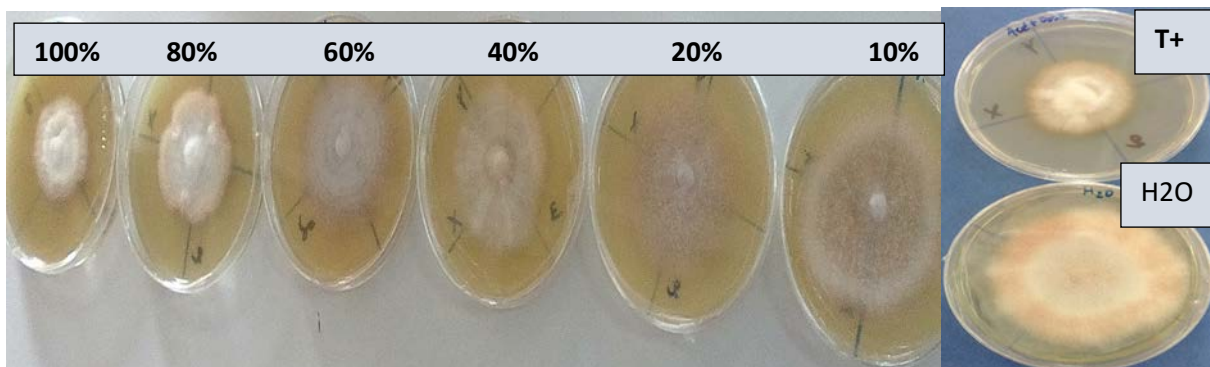


**Figure N°21** : Aspect microscopique GX40 des colonies de l'isolat de *Fusarium* sp. en suspension (Originale, 2018).

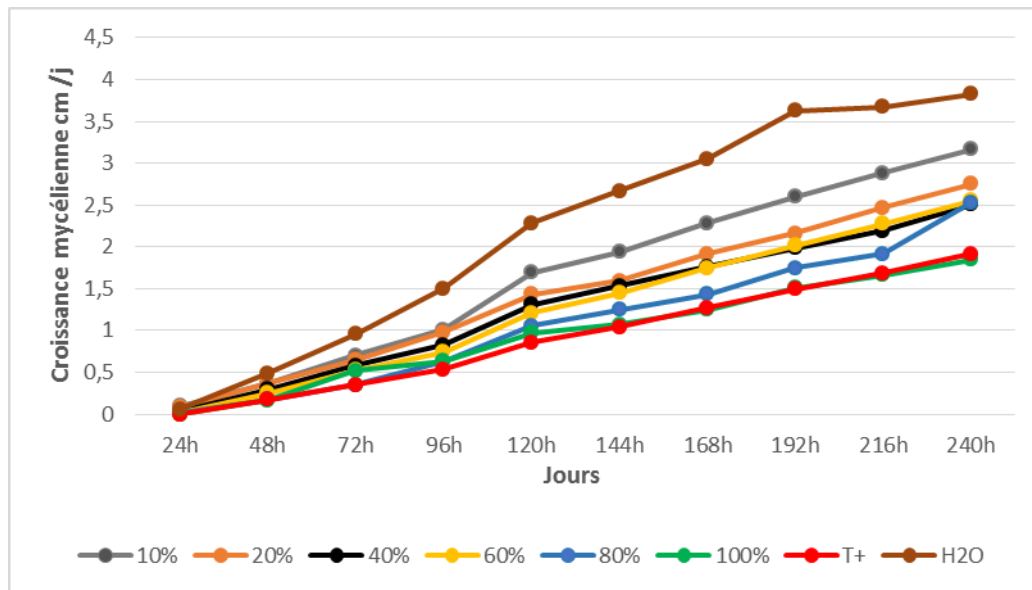
## II.2-Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* sur *Fusarium* sp. agents de pourriture sèche des racines des agrumes.

### II.2.1- Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne

#### ➤ Extraction par méthanol pur

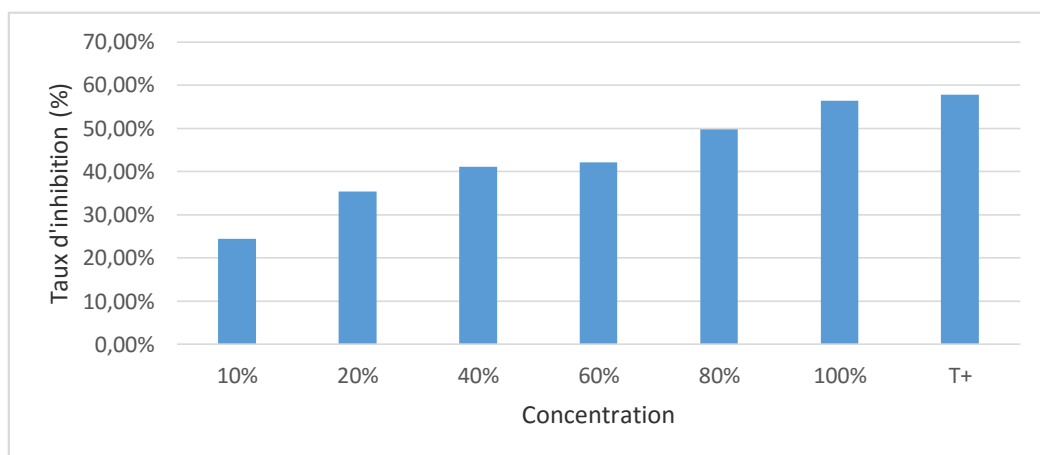


**Figure N°22** : l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol pure) de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Fusarium* sp (originale, 2018).



**Figure N°23 :** Effet de l'extrait des feuilles de *Salvia officinalis* (extraction par méthanol pure) sur la croissance mycélienne de *Fusarium sp.* (Originale, 2018).

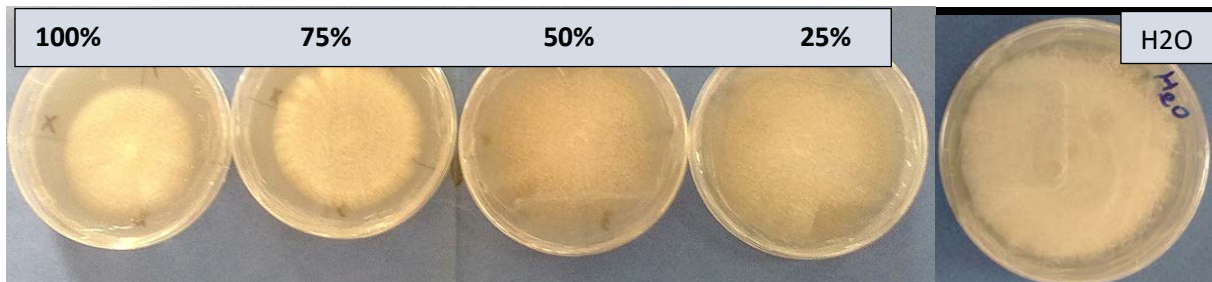
La figure N°23 représente l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (méthanol pur) des feuilles de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Fusarium sp.* L'analyse de variance des différents traitements, montre l'effet significatif des doses sur la croissance mycélienne de cet isolat. En effet, on remarque une efficacité des 7 concentrations 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, 10% et du témoin positif (acétone) à inhiber sa croissance mycélienne ; par contre la concentration du témoin négatif (l'eau distillée stérile) démontre une croissance mycélienne significativement supérieure aux différents traitements.



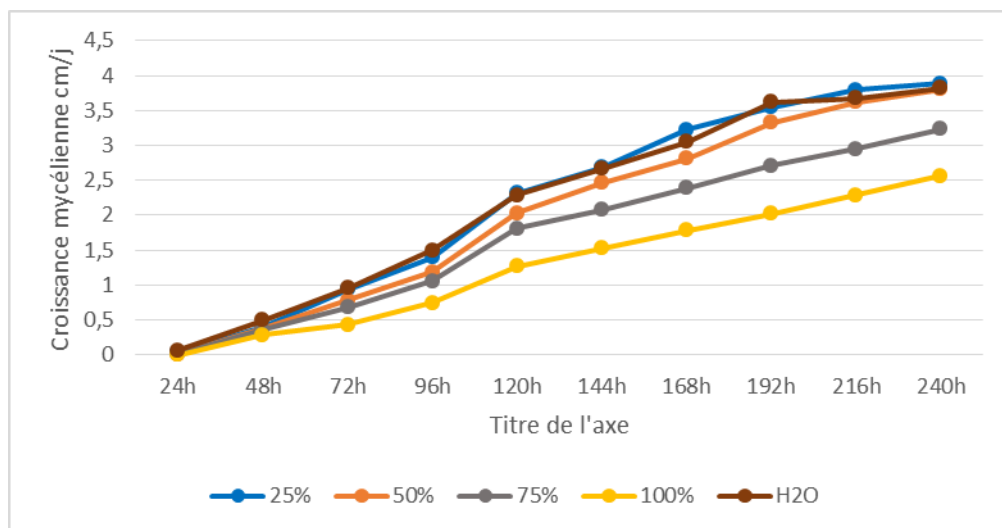
**Figure N°24 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (méthanol pure) des feuilles de *Salvia officinalis*.

La figure N° 24 ci-dessus représente les taux d'inhibitions de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (méthanol pure) des feuilles de *Salvia officinalis*. On registre une efficacité de l'extrait à contrôler la croissance mycélienne de *Fusarium* sp ; l'efficacité à inhiber la croissance mycélienne devient plus important lorsque l'extrait est plus concentré.

#### ➤ Extraction par méthanol dilué

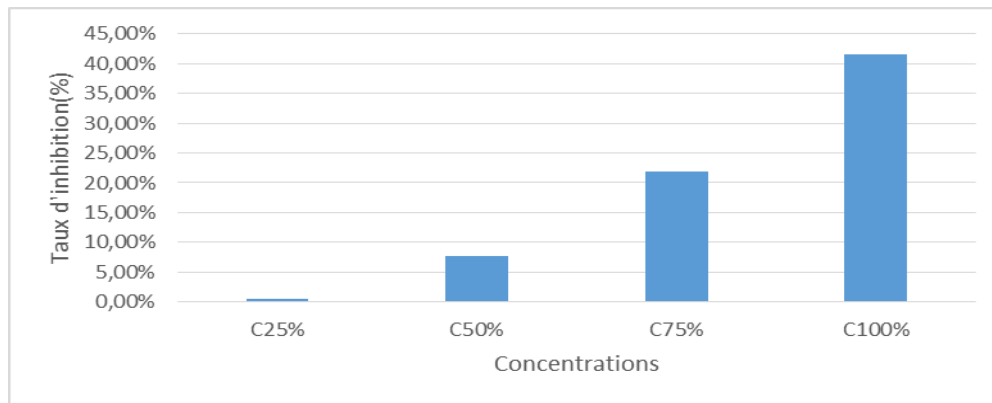


**Figure N° 25 :** l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dilué) de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Fusarium* sp (originale 2018).



**Figure N°26 :** L'effet de l'extrait (extraction par méthanol dilué) sur la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. (Originale, 2018).

Les résultats obtenus sur la figure N°26, montre un faible effet d'inhibition sur la croissance mycélienne pour les deux plus importantes concentrations 100% et 75%. D'autre part, on enregistre, un effet presque nul pour les concentrations 25% et 50%. L'analyse de variance montre l'effet significatif des doses sur le développement de *Fusarium* sp.



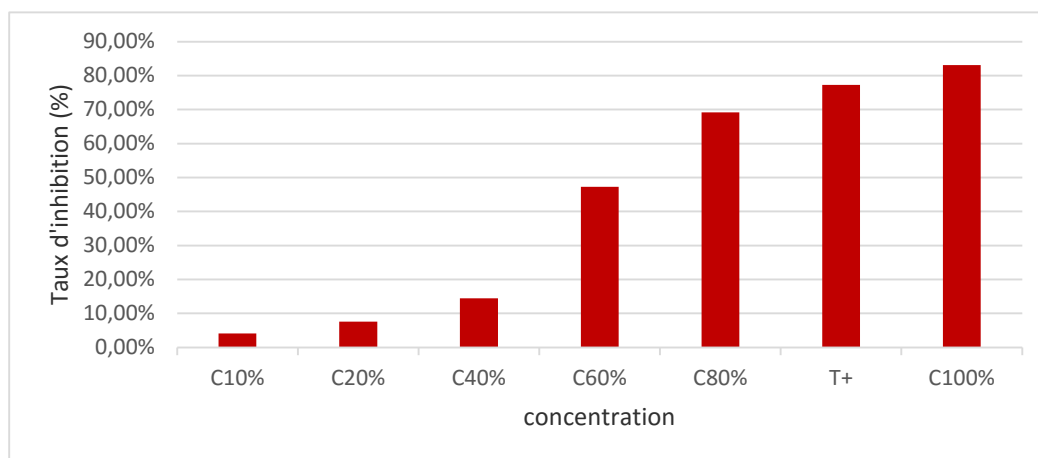
**Figure N°27** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dilué) des feuilles de *Salvia officinalis*.

La figure N° 27, représente les taux d'inhibitions de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (méthanol dilué) des feuilles de *Salvia officinalis*. On remarque que le taux d'inhibition maximum soit 40% a été enregistré dans les boites contenant l'extrait pur (100%), alors que les autres doses ont engendré des taux beaucoup moins importants. La dose 25% a donné moins de 1% d'inhibition. Il est à noter que cet extrait méthanoïque est incapable d'inhiber complètement la croissance mycélienne.

A la lumière des résultats précédent, on peut affirmer que malgré l'efficacité des deux extraits testés à inhibé la croissance mycélienne de *Fusarium* sp., ces derniers n'ont pas réussi à inhiber complètement la croissance mycélienne.

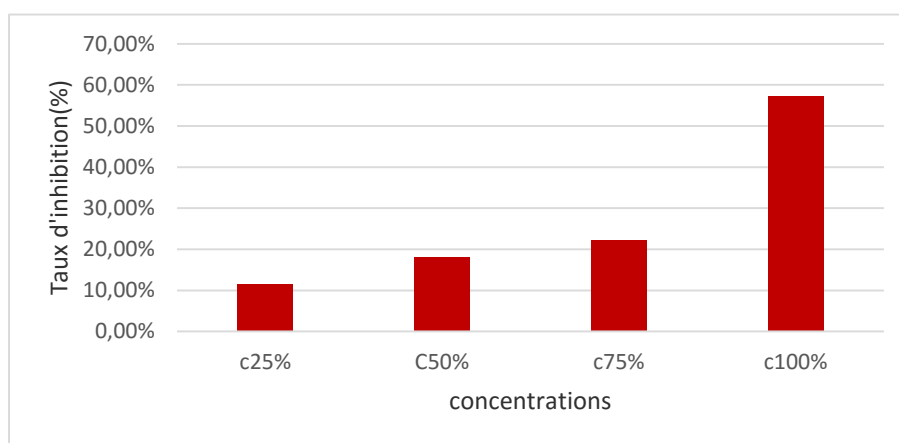
## II.2.2- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait méthanoïque des feuilles de la sauge sur la sporulation de *Fusarium* sp

### ➤ Extraction par méthanol pure



**Figure N° 28 :** Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol pure) des feuilles de la sauge.

D'après les résultats obtenus (Figure N°28), on remarque que l'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Fusarium* sp. est proportionnelle à la concentration de l'extrait, en effet, plus la concentration augmente plus l'effet d'inhibiteur augmente ; ce dernier est très important pour les différentes concentrations 60%, 80% ,100% ainsi que pour le témoin positif (acétone).

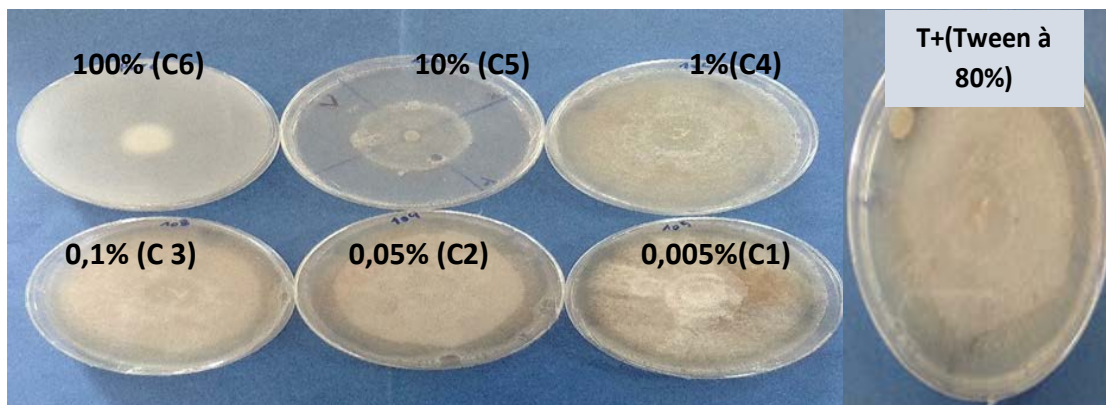


**Figure N° 29 :** Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (par méthanol dilué) des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*).

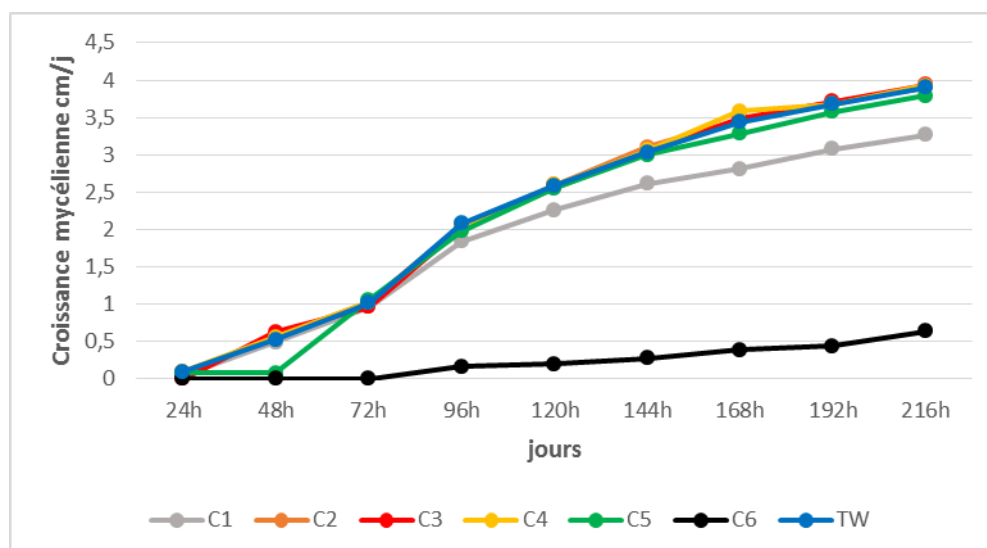
La figure N°29, représente le taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Fusarium* sp. sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque (méthanol dilué) des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*), il en ressort que le taux d'inhibition de la sporulation est de 57.27% pour la dose 100% et 11.55% pour la dose 25%.

### II.3-Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur *Fusarium* sp. agents de pourriture sèche des racines des agrumes.

#### II.3.1- Evaluation de l'activité antifongique sur la croissance mycélienne



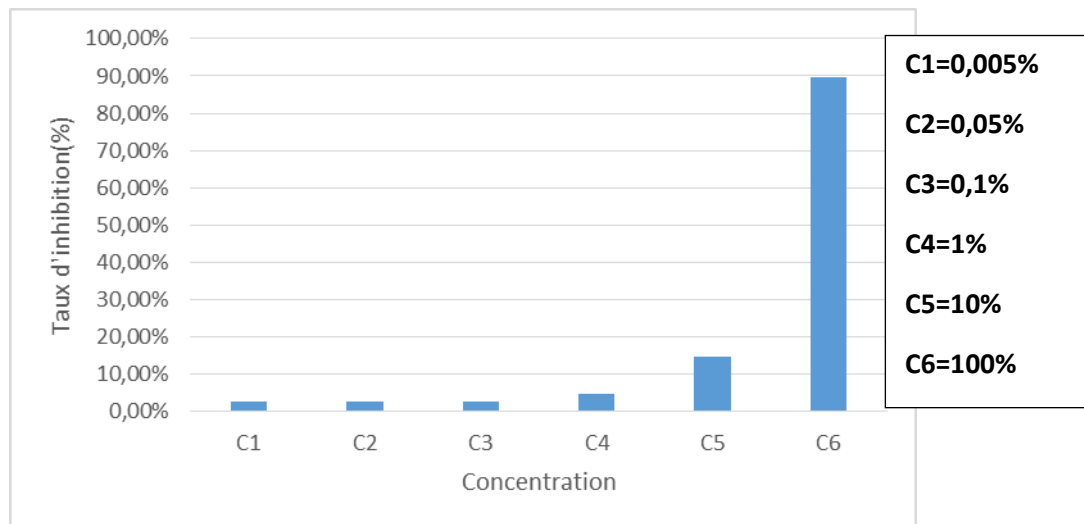
**Figure N°30** : l'effet « in vitro » des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur l'isolat de *Fusarium* sp. (Originale, 2018).



**Figure N° 31** : l'effet de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. (Originale, 2018).

La figure N°31 représente l'effet de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. On remarque que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a démontré un effet inhibiteur important de la dose 100% sur la croissance mycélienne de *Fusarium* sp ; les autres concentrations ont beaucoup moins efficace.

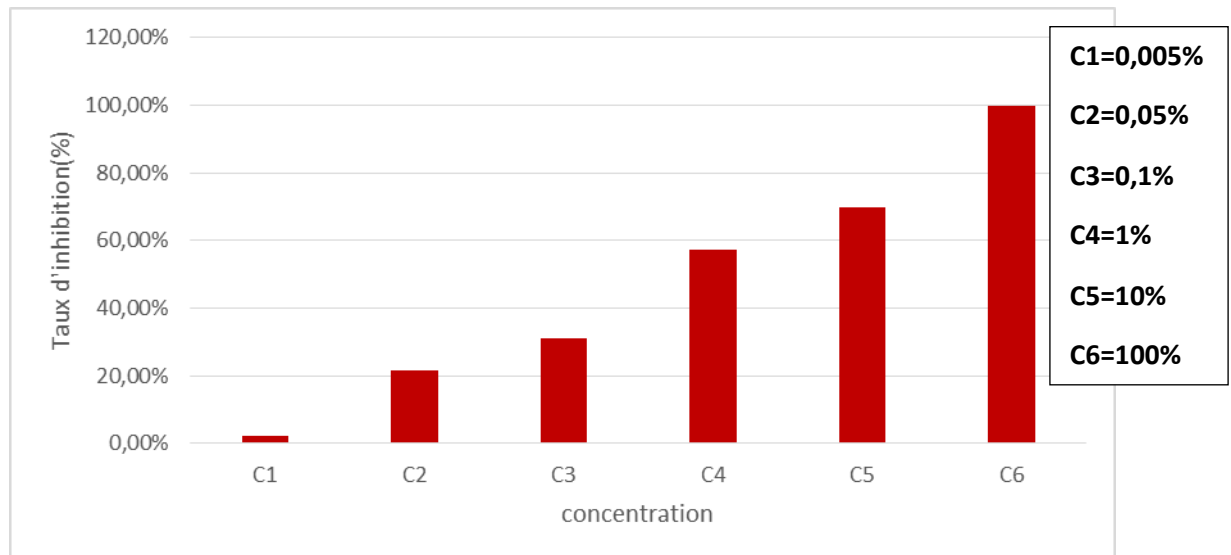
L'analyse de variance des résultats a démontré l'effet significatif des doses et du temps sur la croissance mycélienne du champignon.



**Figure N° 32 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis*.

La figure N°32, représente les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. sous l'effet des doses de l'huile essentielle de la sauge, elle met en exergue l'efficacité de l'huile essentielle pure (100%) de la sauge à contrôler la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. avec un taux de 90%. Les autres doses de l'huile essentielle ont faiblement inhibé la croissance avec de taux ne dépassant guère le 18% de taux d'inhibition.

### II.3.2-Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* sur la sporulation de *Fusarium* sp.



**Figure N°33 :** Taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat de *Fusarium* sp. sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de sauge.

Le taux d'inhibition de la sporulation de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de sauge représente sur la figure N°33 a démontré un effet inhibiteur très important pour les concentrations 10%, 1%, 0,1%, 0,05%, alors que la dose de 100% a provoqué une inhibition totale.

#### II.4- Discussion

Les résultats de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* montrent une légère inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp.

Ce qui nous permet de remarquer que *Fusarium* sp. a présenté une résistance à l'extrait méthanoïque (méthanol dilué) aux concentrations de 100% et 75% avec des taux d'inhibition de croissance mycélienne de 41.64% et 21.87%. Par contre la *Fusarium* sp. a montré une sensibilité moyenne aux concentrations de 100%, 80%, 60%, 40% et 20% de l'extrait méthanoïque (méthanol pure) de la sauge (*Salvia officinalis*).

L'étude de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp en présence de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* (méthanol pure) montre une diminution de la croissance mycélienne synchronisée avec l'augmentation de la dose de l'extrait. De même sous l'effet de cet extrait, on remarque que, plus la concentration augmente, l'inhibition est plus importante ; aucune inhibition n'a été enregistré pour les témoins négatifs. C'est résultat montre que l'extrait méthanoïque (méthanol pure) des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis*) est riche en substance bioactives diffusées dans le milieu de culture.P.D.A.

Les résultats obtenus confirment ceux présentés par Grainge et Ahmed (1988), qui ont montrés que les lamiacées possèdent une activité antibactérienne et antifongique grâce à la multitude de composés phénoliques qu'ils contiennent, et d'après Celimenne, (1999) et Cowan (1999), la toxicité des composés phénoliques envers les champignons est basée sur l'inactivation des enzymes fongiques. On a longtemps employé des traitements traditionnels à base de plantes vis-à-vis des bio agresseurs des cultures sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, bien que certains effets prouvés aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes et dérivés et des composés polyphénoliques (Bahorun, 2003).

Donc d'une manière générale, le degré d'activité antifongique est proportionnel à la concentration de l'extrait. Les composés chimiques qui présentent la plus grande efficacité et à plus large spectre sont les phénols (Dorman et Deans, 2000). Contre les champignons, les phénols provoquent plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (Arras et al., 2001) ; De Billerbeck et al., 2001).

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* a provoqué une meilleure efficacité contre l'agent phytopathogène testé (*Fusarium* sp.), de même l'inhibition de la croissance enregistrée est proportionnelle à la dose utilisée. Avec la concentration 100% l'inhibition de la croissance mycélienne n'est totale, ce qui montre que cet extrait ne permet pas d'atteindre la CMI de la croissance mycélienne. Néanmoins cette huile s'est montrée très efficace à réduire la croissance mycélienne de l'isolat de *Fusarium* sp agent de la pourriture sèche des racines des agrumes.

Les résultats obtenus confirment ceux présentés par Filipowicz et al., 2003 qui ont montrés que Le 1,8-cinéole qui est un monoterpène oxygéné fortement concentré dans l'huile essentielle de sauge (5,79%) s'est montré très actif contre des souches de dermatophytes, de candidoses et d'aspergillose Ben-Hammou et Bekkera (2012), ont relié la sensibilité des différentes espèces étudiées de *Fusarium* à la fraction des terpènes oxygénés. Certains autres auteurs, tel que Bouaziz et al., (2009) et Juven (1994) suggèrent que les différents composés de l'huile essentielle ne peuvent pas agir séparément, mais l'activité biologique est, en fait, la résultante d'une synergie probable entre les différents composants. Les phénols terpéniques peuvent aussi agir sur les champignons en se fixant sur le groupe amine et hydroxylamine des protéines membranaires provoquant ainsi une altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaire (Ultee et al., 1999 ; Knowles et al., 2005 ; Lopez-Malo et al., 2005 ; Celimene et al., 1999).

# Conclusion générale

### Conclusion

Au terme de ce modeste travail, nous pouvons formuler un certain nombre de conclusions :

L'isolat testé a été identifié comme étant *Fusarium* sp, agent de la pourriture sèche racinaire des agrumes.

Les résultats obtenus à partir du test « in vitro » de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Salvia officinalis* sur la croissance mycélienne et la sporulation, montre une corrélation entre les doses de l'extrait et les taux d'inhibition.

L'extrait méthanoïque (méthanol pure) des feuilles de *Salvia officinalis* est plus efficace que l'extrait méthanoïque (méthanol dilué).

La croissance mycélienne est inversement proportionnelle à la dose de l'extrait, la même chose a été observée pour la sporulation.

D'autre part l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) a montré une activité antifongique importante sur *Fusarium* sp. proportionnelle à la concentration. En effet, plus la dose de l'huile essentielle est élevée plus la croissance mycélienne et la sporulation sont faibles ; la concentration 100% de l'huile essentielle a fortement inhibé la croissance mycélienne et totalement inhibé la sporulation ce qui fait d'elle la concentration inhibitrice minimale (CMI).

En perspective, il serait intéressant de poursuivre ce travail, afin de déterminer :  
L'espèce de l'isolat de *Fusarium* sp.

- Testé « in vitro » l'effet de l'extrait méthanoïque par d'autres méthodes d'extraction ou en utilisant d'autres solvants tels l'éthanol, l'éthane, l'éther de pétrole,....
- L'efficacité d'autres principes actifs isolés de la même plante
- L'effet des extraits de sauge sur d'autres souches phytopathogènes des plantes en particulier des agrumes.
- Tester l'activité antifongique des extraits d'autres plantes de la pharmacopée algérienne sur *Fusarium* sp.

# Références Bibliographiques

## Référence bibliographique

- **Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlick B., White N. D.G., 2001-** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les céréales. 58 p.
- **Aburjai T., Natsheh F.M, (2003) ;** Plants used in cosmetics. *Pytother. Res*, **17**, 987-1000p.
- **AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986,** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. *AFNOR, Paris*, 57p.
- **AFNOR (Association Française de Normalisation), 2000,** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles. *AFNOR, Paris*.
- **AFNOR NF X 31-151, 1993,** Sols, sédiments, boues de station d’épuration- Mise en solution d’éléments métalliques en traces (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) par attaques acides. *In* Qualité des sols, AFNOR, 139-145p.
- **Ahami F., Belghyti D., Elqaj M.,2007-**la phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antis parasitaires journée scientifique ressources naturelles et antibiotiques, Maroc, pp89-154.
- **Akroum, S. (2011).** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. 125p.
- **Anonyme (2012).** L’égère base de la production agrumicole en 2011/2012.
- **Anton R., Lobstein A, 2005,** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc, Paris*.
- **Aoki T., ODonnel k.(1999).**Morphological and molecular characterisation of *Fusarium pseudogaminearum* sp. Nov., formerly recognized as the Group 1 population of *F.graminearum*.*Mycologia* 91,597-609.
- **Armstrong.G.M,Armstrong.J,K(1981) :**Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium :diseases,biology,and taxonomy.*(Eds.Nelson,P.E,TAT,Cook , R.J),Pennsylvania State University Press,391-399.
- **Arras et al., 2001.** Improving the safety of fresh fruit and vegetables (livre).
- **Bakkali F., Averbek S., Averbek D., Idaomar M, (2008) ;** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446-475p.

## Référence bibliographique

- **Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010**, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. *CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York*, 994p
- **Belkamel. S., Drouet, M., Rouzet, (1990)**, *Rev. Mar. Pharmacol.* 4, 7.
- **BelouedA, 2009** : Plantes médicinales d'Algérie. Office de la publication universitaire, 5ème édition, pp62-56.
- **Benaissa, O. (2011)**. Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- **Benderr et al., 1982.**Bender, G.S.,J.A.Menge,W.D.
- **Bernadet M, (2000)** ; Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes. *Dangles, Toulouse, France*, 384p.
- **Bich, M., (2012)** ; Les principaux insectes ravageurs des agrumes en Algérie et leurs ennemis naturels. Guide pratique.
- **Booth C., (1971)**,The genus *Fusarium* Commonwealth,Mycol.Inst.Kew,Surrey,237p.
- **Booth C., (1977)**, *Fusarium*.Laboratory guide to the identification of the major species.Commonwealth,Mycol.Inst.Kew, England,58p.
- **Boros, B., Jakabova, S., Dorneyi, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felingera, A. (2010)**. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.
- **Bouakaz, I., (2006)**. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna.
- **Bouaziz M., Yangui T., Saya S., Dhouib A.**.Disinfectant activities of essential oils from *Salvia officinalis L* cultivated in Tunisia . *Food and chemical Toxicology*.2009; 47: 2755-276.
- **Brewer d.** 1960. *Studies in asochyta pisi*. Canadian journal de la végétale philosophie mathématique. Classique hachette.
- **Brieskon c.h., biechele w. 1971**. The flavones form *salvia officinalis l*. *Archiv der pharmazie.*,**304** : 557-561.
- **Brieskorn C.H., Z.** *phytother.*12(2) :61-69(1991)
- **Bruneton J, 2009**, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *4ème édition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris*, 1292p.

## Référence bibliographique

- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris 7.
- **Bruneton, J. (1997) :** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Edition Impr. CEE p 315-338.
- **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- **Bruneton, J. (1999).** Tannins. In : *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Cannas A.* [www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos\\_effects.html](http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/pos_effects.html) - 6k.
- **Buchbauer G., Jirovetz L, 1994,** Aromatherapy- Use of fragrances and essential oils as medicaments. *Flavour and Fragrance Journal*, **9**, 217-222p.
- **Burgess L.W.,Summerell B.A.,Bullock S.,Gott K.P.,Backhouse D.(1994).**Laboratory manual for Fusarium research, 3nd ed.University of Sydney.Sydney, Australia.
- **Caillet S., Lacroix M, 2007,** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS- Institut Armand- Frappier, Université de Laval, Québec, Canada*, 89p.
- **Carette A.S, 2000,** La lavande et son huile essentielle. *Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France*, 100p.
- **Carter J.P., Rezanoor H.N.,Desjardins A.E.,Nicholson P.(2000).**Variation in *Fusarium graminearum* isolates from Nepal associated with their host of origin.*Plant Pathology* 49,452-460.
- **Celimene C. C., Micales J. A., Ferge L. & Young R. A.** Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. *Holzforschung*. 1999; 53: 491-497.
- **Centini F.et al.,Zacchia** (Rom) 60 :263-274 (1987).
- **Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., Huard A., Ridoux L., Chanselle S, 2008,** Guide du préparateur en pharmacie. *3ème édition, Elsevier Masson, Paris*, 1358p.
- **Chermette R., Bussieras J.(1993).**Parasitologie vétérinaire.Mycologie,Edité par le Service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort Citrograph.67 :249-254.
- **Couic-marinier F., Lobstein A., (2013) ;** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques N° 525*, 22-25 pp.

## Référence bibliographique

- **Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C, 1991**, Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: Modern Methods of Plant Analysis, (edited by H.F. Linskens and J.F. Jackson), pp 41-46. Vol 12, New series, Essential oils and waxes. Springer-Verlag, Berlin.
- **Cuvelier m.e., richard h., et berset c. 1996**. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. Journal of the american oil chemists society., 73 : 645-652.
- **Dachler M., H.Pelzmann, Arznei-und Gewurzpflanzen,Anbau, Ernte,Aufbe -reitung, osterreichischer Agrarverlag, Klos-terneuburg ,1999**.
- **Dangles O ;Stoeckel C ;Wigand M.C ;Brouillard R.1992**.Two very distinct types of anthocyanin complexation :copigmentation and inclusion.Tetrahedron tett,33 :5227-30.
- **Dayan F.E., Cantrell C.L., Duke S.O, 2009**, Natural products in crop protection. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17, 4022-4034p.
- **Degryse A.C., Delpla I and Voinier M.A, 2008**, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p.
- **Delporte. G., Mascolo. N., Izzo. A. A., et al., (1999)**. Life. Scien., 65(4), 337-53.
- **Deroin T, (1988)** ; Biologie florale d'une Annonacée introduite en Côte D'Ivoire : *Cananga odorata* (Lam.) Hook.f. & Thoms. *Bulletin du Musée National d'Histoire Naturelle*, 10(4), 377-393p.
- **Desmares C., Laurent A. & Delerme C., 2008**. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS*. Anatole, France, 18p.
- **Djerroumi S ; Nacef A,**:100 plantes d'Algérie, édition Masson, Paris,2004 ;p159.
- **Dorman et deans, 2000** : j appl microbiol. 2000 feb ;88(2) :308-16.antimicrobial agents form plants : antibacterial activity of volatile oils.
- **Doumbouya M., Abo kouabenan.L., NicaiseA., Camara B ., Kanko K.,Aidara D., and Kone D.(2012)**. Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huile essentielle sur des champignons telluriques des cultures maraichères en Cote d'Ivoire. *J.Appl.Biosc*. P 3523-3530.
- **Dulger B., Hacıoglu N**. Antifungal activity of Endemic *Salvia tigrina* in Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2008 ; 7: 1051-1054.
- **Duling E.N ;Oven J.C ;John B.G ;Rosmery F.W ;Kevin.A.M ;Yeap L.F ;Nigel B.P** ;Extraction of phynolic and essential oie from dried sage(*Salvia officinalis*) using ethanol nixture.*Food chemistry*.,2007,110 :927-931.

## Référence bibliographique

- **Edris A.E, (2007)** ; Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituent: A review. *Phytother. Res*, 21, 3-323p 08.
- **EL Modafar C., ElBoustani E.,Aganchich B.,Rahioui B.,Boulouha B.2002.**mécanismes biochimiques impliqués dans la défense des plantes.
- **Erlund. (2004).** Nut. Res. P 24, 851-74.
- **Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques & Moget Elisabeth.(1992)** :Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Resoudre Les Problemes Simples,p93.
- **Fawcett.H.S.1936.** Citrus Diseases and Their Control, 1936.(3) A.Z.Joffe and M.Schiffmann-NADEL.Fruits 27 :117.
- **Ferry,2005** :production et commercialisation de la datte dans le monde.Situation et perspectives.Symposium international sur le développement agricole durable des systèmes oasiens 08-10mars 2005,Erfoud,Maroc,INRAM,18p.
- **Filipowicz N., Kaminski M. Kurlenda J., Asztemborska M, 2003,** Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytother Res*, 17(3), 227-231p.
- **Fillatre Y, (2011)** ; 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 de doctorat. Université d'Angers. France*, 288p.
- **Fischer N.H., Williamson G.B., Weidenhamer J.D., Richardson D.R, (1994)** ; In search of allelopathy in the Florida Scrub- the role of terpenoids. *J. Chem. Ecolo*, 20, 1355-1380p.
- **Fleuriet, A. (1982).** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- **Franchomme P., Pénoel D, 1990,** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. *Edition Roger Jallois, Limoges, France*, 445p.
- **Futrell J.M.,R.L.Rietschel ,Cutis 52(5) :288-290(1993).**
- **Garnéro J, (1996)** ; Huiles essentielles. *Techniques de l'ingénieur, K 345, Paris*, 39p.
- **Gelinas P., 1995-**Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie. 4* : 162-169.

## Référence bibliographique

- **Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen&Douira Allal.2013** : usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocaine (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, **17 :1**, 2388-2411.
- **Glombitza, K. W. & Gerstberger, G. (1985)**. Phytochemistry (Elsevier) p24, 543-551.
- **Goodwin, T. W., & Editor (1988)**. Plant Pigments.
- **Grafenhan, T., Schroers,H-J.,Nirenberg,H.I., and Seifert,K.A.(2011)**.An overview of the taxonomy,phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora,Acremonium,Fusarium,Stilbella,and Volutella*.*Studies in Mycology* 68,79-113.
- **Graige m., ahmed s. 1988**. Handbook of plants with pestcontrol.
- **Grysole J, (2005)** ; La commercialisation des huiles essentielles. *In* : Huile essentielle : de la plante à la commercialisation : Manuel pratique (coordonné par F.-X Garneau., G.J Collin., Université du Québec à Chicoutimi., Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales), pp 1-24. *Corporation Laseve. Québec, Canada*.
- **Guba R, 2001**, Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. *International Journal of Aromatherapy*, **11**, 76-83p.
- **Hans W.K.2007**.100 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition.
- **Harborne, J.B., (1980)**. Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series.p8, 329-402.
- **Haslam E. (1994)**. Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod.* p11, 41-66.
- **Havsteen, B.H. (2002)**. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.
- **Heim E.K., Tagliaferro A.R. &Bobilya D.J. (2002)**. Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572-584.
- **Hellal Z, 2011**, Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*).*Mémoire de magister. Université de Tizi-Ouzou, Algérie*, 120p.
- **Hernandez-Ochoa L.R, (2005)** ; Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « Solvant/Actif ». D'origine végétale. *Thèse de doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse. France*.

## Référence bibliographique

- **Homburger F., Boger E, 1968**, The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res*, **28**, 2372-2374p.
- **Isman M.B, 2000**, Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, **19**, 603-608p.
- **Jocteur G., (2007)** ; Les huiles essentielles à l'approche de l'hiver : une alternative naturelle pour booster votre conseil, le troisième forum des pharmaciens, Lyon, 7p.
- **Jordan M.J., Martinez R.M.,Martí'nez C.,Mon ino I., Sotomayor J.A.,2009**.Polyphenolic extract and essential oil quality of *thymus zygis* ssp. Gracilis shrubs cultivated under different watering levels. *Industrial crops and products* **29** ; 145-153.
- **Juven B. J., Kanner J., Schved F. Weisslovicz H.** Factors that can interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*. 1994; **76**: 626-631.
- **Kalemba D., Kunicka A, 2003**, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem*, **10**, 813-829p.
- **Karawya, S., El Hawary, (1981)**. *J. Pharm. Sci.* **19**, 301.
- **Kenjeric d., monschein v., riderer p., et schreir p.2008**. Flavonoids pattern of.
- **Khiredine Hamida. (2013)** : *comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelque plantes médicinales d'Algérie*, Memoir de Magister,option : Technologie Alimentaire , université Bougara-Boumerdes.
- **Knowles J. R., Roller S., Murray D.B., Naidu A.S.** Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species bio film development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005; **71**: 797-803.
- **LakušićBranislava S., RistićMihailo S., Slavkovska1 Violeta N., Stojanović Danilo Lj&Dmitar V. Lakušić. (2013)**: Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages, *Original Scientific Paper*, **37 (2)**: 127-139.
- **Lardry J.M. & Haberkorn V., (2007)** ; Les huiles essentielles : principes d'utilisation, *Kinesither Rev* ; (61) :18-23.
- **Lardry J.M., & Haberkorn V., 2007-** L'aromathérapie et les huiles essentielles., *Kinesither Rev* ;(61) :14-7.

## Référence bibliographique

- **Leach c.m.** 1962. The quantitative relationship of uv and visible radiation to the induction of reproduction in ascochyta pisi. Can. J. Bot., 40 : 1577-1602.
- **Lee Y.J., Erdos G., Hou Z., Kim S.H., Kim J.H., Cho J.M. & Corry P.M. (1994).** Mechanism of quercetin-induced suppression and delay of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells. *Molecular and cellular biochemistry*. **137**: 141-154.
- **Leffingwell J.C.** (Consulté le 24 Janvier 2011), Rose (*Rosa damascena*). Disponible sur <http://www.leffingwell.com/rose.htm>.
- **Leslie J.F., Summerell B.A. (2006).** The Fusarium Laboratory Manual, Blackwell Publishing.
- **Lima c.f., patricia c., valentao r., andrade p.b., seabra.r.m., fernandes-ferreira.m., pereira-wilson c. 2007.** Water and méthanolic extracts of Salvia officinalis protect hepg2 cells from t-bhp induce oxidative damage. *Chemiobiological interaction*. **167** :107-115.
- **Link J.H.F.**, (1809), Observations in ordines plantarum naturalis. Dissertatio I, complectens Anandrarum ordines Epiphytas ; Mucedines, Gastromycos et Fungos. Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, Magazin fur die nensten Entdeckungen in der gesammten naturkunde, **3** :3-42.
- **Lopez-Malo A., Alzamora S.M. & Palou E., 2005.** *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *International Journal of Foo Microbiology*. 2005; 99: 119-128.
- **Loubelo A.C. 1992.** Contribution à l'étude de la pourriture noire des racines de pois chiche causée par *Fusarium solani* (mart) appel ujr caractérisation et pathogénicité thèse ing. Agr chef 97p.
- **Lu y., Foo I.Y 2000.** Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace, *food chem.*, **68**, 81-85.
- **Lucchesi M.E, 2005,** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France*, 146p.
- **Madi A., 2009 :** caractérisation et comparaison du contenu polyphénoliques de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leur activité biologiques- thèse Magister, Uni de Constantine pp 107.

## Référence bibliographique

- **Manallah, A. (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.
- **Mann J, (1987) ;** Secondary metabolism. *Clarendon Press, Oxford, UK*, 374p.
- **Mapoli G, 2003,** Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). *Mémoire d'études approfondies, Université de Congo*, 58p.
- **Martini M.-C., Seiller M, (1999) ;** Actifs et additifs en cosmétologie. *Tec & Doc édition, Paris*, 656p.
- **Masterova I., Uhrin D., Kettmann V., et suchy V.1989.** Phytochemical study of *Salvia officinalis* L. *Chemical papers.*,43 :797-803.
- **MATHIOUDI, M.M., V.A., M.T; BOUBOS, et M.T. SKOUDRIDAKIS 1987.** La pourriture sèche des racines : une maladie très grave des agrumes en Grèce. *Bulletin OEPP* 17 :335-340.
- **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) 67 –81.
- **Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2008,** Plan écophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018. *Ecophyto 2018*, 24p.
- **Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T, 1985,** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res*, **278**, 31-36p.
- **Nelson P.E.,Tousson T.A.et Cook R.K.J.,(1981),**Fusarium species.An illustrated Taxonomy.Penn.Stat.Uni.Press.,457p.
- **Nelson P.E.,Tousson T.A.et Marasas W.F.,(1983),**Fusarium species.An illustrated manuel for identification.Penn.Stat.Univer.Press.,193p.
- **Nkhili, Ez-zohra. (2004).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier. 378p.
- **orn V., (2007) ;** L'aromathérapie et les huiles essentielles.,
- **Perry, A J., Baxter, N J., Brennan, J W., Van Klin J., (1996).** *Flavour Frag.* 11, 213.
- **Pibiri M.-C, (2005) ;** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. *Thèse de doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne. France.*

## Référence bibliographique

- **Piccaglia, M., Marotti J., (1993).** Flavour Frag 8, 115.
- **Piochon M, 2008,** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Mémoire. Université du Québec à Chicoutimi. Canada, 200p.*
- **Place, R., Piccaglia, J., essent. (1995).** *Oil. Res.* 7, 443.
- **Porter, L. J. (1989).** Methods in Plant Biochemistry. p1, 389-419. *principes actifs de quelque plantes médicinales d'Algérie, Memoir de Problemes Simples,p93.*
- **Putievsky, U., Ravid, D., Sanderovich, J., Essent (1992).** *Oil Res.* 4, 291.
- **Radulescu V. ;Silvia C. ;Eliza O.J ;** Capillary gas chromatography, mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. *Journal of chromatography a* 2004 ;121-126.
- **Rappily F.1969.** Techniques de mycologie en pathologie végétales. *Ann epiphyties ;102p.*
- **Regnault-Roger C., (2009) ;** Moyens alternatifs et agriculture durable en Afrique de l'Ouest. *Phytoma. La défense des végétaux.* N° 624-525 pp. 41-44.
- **Regnault-Roger C., Hamraoui A, 1995,** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored Prod. Res.* 31, 291-299p.
- **Rice K.C.,Wilson R.S,J.** *Med.chem.* 19 :1054 (1976).
- **Richard H, 1992,** Epices et aromates. *Edition Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 339p.*
- **Richter G, (1993) ;** Métabolisme des végétaux- Physiologie et biochimie. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, 526p.*
- **Ristic D., Brikic N.T &Zalfija. (1999):** *salvia officinalis l* ,Bric D (ed) institue for medicinal plants JosifPanacic. Belgrade and Art GrafikBelgrad , p 151-167.
- **Roquebert M.F,(1998),** Taxonomie des moisissures ;Méthode de culture et techniques d'observation ; Identification, in »Moisissures des aliment peu hydratés »,Ed.Tec et Doc,39-95.
- **Rossmann,A.Y., Samuels,G.J.,Rogerson,C.T.et Lowen,R.(1999).** Genera of Bionectriaceae.
- **Roux-Sitruk D., Chaumont J.P., Cieur C., Millet J., Morel J.M., Tallec D., 2008-** Conseil en aromathérapie, ed Pro-Officina Wolters Kluwer France 187pp.
- **Ryberg M.,Moller C.,Erriscon T.,** *Salvia* composition and carie development in asthmatic patients treated with B<sub>2</sub> adrenoceptor,agonist,a four-years flow.Up Study.1991 ;99 :212-8.

## Référence bibliographique

- **Sagdullaeva et al.,1972.**International collation of traditional and folk medicine : northeast asia...Publié par ji-xian guo, takeatsu kimura,paul p h but, chung Ki sung.
  - **Saiah f.1996.**Etude de la résistance des sols à la fusariose causée par fusarium oxysporum fsp mélonis dans la plaine du chellef. *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages, *Original Scientific*.
  - **Sallé J.-L, 2004,** Les huiles essentielles, Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. 2ème édition, *Frison Roche*, 168p.
  - **Schewe T. &Sies H. (2003).**Flavonoids as protectantsagainstprooxidant enzymes. *Biologie médicale*. **34**: 243-253.
  - **Schroers HJ<sup>1</sup>, Grafenhan T, Nirenberg HI,Seifert KA.**A revision of *Cyanonectria* and *Geejayessia* gen .nov., and related species with *Fuarium* -like anamorphs.*Stud Mycol*.2011 ;68 :115-38.
  - **Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A, 2000,** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **168**, 189-199p.
- Tisserand R.B., Balacs T, 1995,** Essential oil safety: A guide for health care professionals. *Churchill Livingstone edition, London*, 172p.
- **Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P.J, 2009,** Application of natural antimicrobials for food preservation. *J. Agric. Food. Chem*, **57**, 5987-6000p.
  - **Tsankova, A N., Konkchiev, E M., Genova, J., (1994).** Essent. Oil. Res, **6**, 375.
  - **Ultee A., Kets E.P.W., Smid E.J.** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1999; **65**: 4606-4610.
  - **Vanderweyen, A., et Serrhini.1981.** La pourriture sèche des racines d'agrumes au Maroc. Académie d'Agriculture de France.Extrait du procès verbal de la séance du 16 décembre 1981.1492-1496.
  - **Vigan M., 2009-** Les huiles essentielles : leur retour et leur toxicité.
  - **Wang M., Kikuzaki H.,Zhu N ., Sang S., Nakatani N.,Ho C.T.2000.**
  - **Werner M, 2002,** Les huiles essentielles: réveil du corps et de l'esprit. *Edition Vigot, Collection Santé Bien-être*, 95p.

## Référence bibliographique

- **Wollenweber H.W.et Reinking O.A.,(1935)**,Die Fusarien.Verlagsbuchhandlung Paul Parey,Berlin,In :Nelson P.E.,Tousson T.A.et Marasas W.F.,(1983),Fusarium species.An illustrated manuel for identification.Penn.Stat.Univer.Press.,193p.
- **Wolters kluwer, (2007)**. botanique pharmacognosie phytothérapie.1, rus Eugène et Armand Peugeot.92500 Rueil-Malmaison Cedex..
- **Young JC,Fulcher RG,Hayhde JH,Scott PM,Dexter JE.1984**.Effect of millinf and baking on deoxynivalenol (Vomitoxin) content of eastern Canadian wheats.J.Agric.Food Chem.34 :659.
- **Yusuf, Y. (2006)**. Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.
- **Zhang H. J., Li.N.1994**.Salvianolic acid :a new depcide from *Salvia cavaleriei*.*Planta medica.*, 60 :70-72.

# **Annexes**

## **ANNEXE 1**

### **Milieu de culture**

#### **Milieu PDA :**

Potato dextrose agar                      42g

Eau distillé                                      1000ml

Autoclave pendant 20 minutes à 120C°

## ANNEX 2

**Tableau N°01** : Les principales composées phénoliques de la *salvia officinalis* sont rapportées sur le tableau suivant :

Polyphénols	Auteurs
<u>Acides phénols</u>	
4-Hydroxybenzoïque acide	WANG et al 2000
3-Methoxy-4-hydroxybenzoïque acide (acide vanillique)	CUVELIER et al 1996
Acide férulique	CUVELIER et al 1996
Acide rosmarinique	CUVELIER et al 1996 ; WANG et al 1998
Acide salvianolique	ZHANG and LI 1994
Cis-p-Coumarique acide 4-(2- <i>apiosyl</i> )	LU and FOO 2000
Glucoside trans-p-coumarique acide 4-(2- <i>piosyl</i> ) glucoside	LU and FOO 2000
6-Feruloyl- $\alpha$ -glucose	WANG et al 1998
6-Feruloyl- $\beta$ -glucose	WANG et al 1998
1-(2,3,4-Trihydroxy-3-méthyl) butyl-6 feruloylglucoside	WANG et al 1998
6-Caffeoyl-1-fructosyl- $\alpha$ -glucoside	WANG et al 1998
1-Caffeoyl-6- <i>apiosyl</i> glucoside	WANG et al 1998
1-p-Hydroxybenzoyl-6- <i>apiosyl</i> glucoside	WANG et al 1998
<u>Les flavonoïdes</u>	
<u>Flavones</u>	
5,7,40-Trihydroxyflavone ( <i>apigénine</i> )	SAGDULLAEVA et al 1972 ; CUVELIER et al 1996
-7-Méthylether ( <i>genkwanine</i> )	BRIESKORN and BIECHELE 1971 ; CUVELIER et al 1996
-7,40-Diméthylether ( <i>acacétine</i> )	CUVELIER et al 1996
5,7,3,4-Tetrahydroxyflavone ( <i>luteoline</i> )	BRIESKORN and BIECHELE 1971
<u>Flavonols</u>	KENJ ERIC et al 2008
Quercétine	
<u>Flavanones</u>	
5,7,30-Trihydroxy-40-méthoxyflavanone ( <i>hespétine</i> )	CUVELIER et al 1996
<u>Flavone glycosides</u>	
<i>Apigénine</i> -7-glucoside ( <i>cosmosiine</i> )	MASTER OVA et al 1989
<i>Luteoline</i> -7-glucoside ( <i>Cinaroside</i> )	WANG et al 1998 ; LU and FOO 2000
-7-Glucuronide	Lu and Foo 2000. LiMA et al 2007

**Tableau N°02 :** Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* (Wolter, 2007).

hydrocarbures terpéniques		Cétones	
Myrcène	0,3 à 3%	Camphre	4,1 à 27,5%
Limonène	trace à 7,6%	$\alpha$ -thujone	1,5 à 44,2%
Humulène	trace à 18,9%	$\beta$ -thujone	1 à 36,7%
$\alpha$ -pinène	1,7 à 13,1%	<b>Ester</b>	
$\beta$ -pinène	0,5 à 17,9%	Acetate de bornyl	0,1 à 3,5%
Camphène	1,1 à 10,3%	<b>Alcools</b>	
$\beta$ -caryophyllène	trace à 9,4%	Linalol	trace à 1,8%
p-cymène	trace à 1,1%	Bornéol	0,7 à 6,2%
		Viridiflorol	0 à 9,9%
		<b>Autres</b>	
		1,8- cinéole	0,7 à 20,8%

### ANNEX 3

**Tableau N°01** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par méthanol pure de *Salvia officinalis*.

Doses	10%	20%	40%	60%	80%	100%	T+
Taux (%)	24,37%	35,36%	41,16%	42,20%	49,81%	56,47%	57,87%

**Tableau N°02** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par méthanol diluée de *Salvia officinalis*.

Doses	25%	50%	75%	100%
Taux(%)	0,59%	7,77%	21,87%	41,64%

**Tableau N°03** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis*.

Doses	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	100%
Taux(%)	2,69%	2,69%	2,69%	4,73%	14,72%	89,69%

#### ANNEX 4

**Tableau N°01** : Taux d'inhibition de la sporulation de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par méthanol pure des feuilles de *Salvia officinalis* :

Doses	10%	20%	40%	60%	80%	100%	T+
Taux (%)	4,12%	7,63%	14,46%	47,26%	69,14%	77,29%	83,07%

**Tableau N°02** : Taux d'inhibition de la sporulation de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'extrait méthanoïque par méthanol diluée des feuilles de *Salvia officinalis* :

Doses	25%	50%	75%	100%
Taux(%)	11,55%	18,25%	22,29%	57,27%

**Tableau N°03** : Taux d'inhibition de la sporulation de *Fusarium* sp sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *Salvia officinalis* :

Doses	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$	100%
Taux(%)	2,02%	21,47%	31,20%	57,24%	69,90%	100%

## ANNEX 5

L'analyse de variance et la comparaison des moyennes (test de Newman-Keuls) effectués par l'utilisation du logiciel Stat box version 6.4.

**Tableau N°01** : l'analyse de variance pour le *Fusarium* sp, test antifongique de l'extrait méthanoïque par méthanol pure, croissance mycélienne par jours.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	228,621	239	0,957				
VAR.FACTEUR 1	37,722	7	5,389	165,992	0		
VAR.FACTEUR 2	173,279	9	19,253	593,049	0		
VAR.INTER F1*2	12,426	63	0,197	6,075	0		
VAR.RESIDUELLE 1	5,194	160	0,032			0,18	13,24%

**Tableau N°02** : l'analyse de variance pour le *Fusarium* sp, test antifongique de l'extrait méthanoïque par méthanol diluée, croissance mycélienne par jours.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	240,56	149	1,614				
VAR.FACTEUR 1	18,349	4	4,587	95,679	0		
VAR.FACTEUR 2	211,337	9	23,482	489,781	0		
VAR.INTER F1*2	6,08	36	0,169	3,522	0		
VAR.RESIDUELLE 1	4,794	100	0,048			0,219	11,52%

**Tableau N°03** : l'analyse de variance pour le *Fusarium* sp, test antifongique de l'huile essentielle, croissance mycélienne par jours.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	252,109	125	2,017				
VAR.FACTEUR 1	62,824	6	10,471	13,668	0		
VAR.FACTEUR 2	123,365	8	15,421	20,129	0		
VAR.INTER F1*2	17,657	48	0,368	0,48	0,99		
VAR.RESIDUELLE 1	48,264	63	0,766			0,875	45,23%