



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE ou INSTITUT : DES SCIENCES

DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : SAADOUDI Yasmine et LEDHEM Roumaïssa

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

FILIERE : Biologie

OPTION : Biochimie des produits naturels

Thème

**Evaluation de l'activité antifongique d'un extrait d'origine
végétal vis-à-vis le *Fusarium oxysporum* f.sp**

Jury de soutenance :

Mlle BENABED Houda	MAB	Présidente
Mlle MAAMRI Malika	MAB	Examinatrice
Mme EL HOUTI Fatiha	MAA	Rapportrice
Mlle AOUISSI Hadjer	MAB	Co-Rapportrice

Promotion : Juin - 2015

عنوان المذكرة: تقييم النشاط المضاد للفطريات لمستخلص من اصل نباتي ضد *Fusarium oxysporum* f.sp

المؤطر: الحويطي فتيحة

الإسم: ياسمين و رميساء

اللقب: سعدودي و لدهم

ملخص: تمتلك مستخلصات الزيوت الطيارة خصائص مضادة للفطريات معروفة منذ زمن بعيد, يهدف العمل الحالي الى دراسة التأثير المضاد للفطريات للزيوت الطيارة المستخلصة من نبات العرفج *Rhanterium adpressum* الذي تم جمعه من منطقة زلفانة (الجزائر), التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير بالبخار للأجزاء الهوائية (الأوراق والازهار) اختبرت ضد ثلاث فطريات تنتمي الى نوع المغزليات (*Fusarium*).

سمح لنا التحليل الكيميائي بواسطة الكروماتوغرافيا بتعيين أكثر من نصف مركباتها, حيث الرئيسية منها: α -Pinène (8.99%), β -Pinène (10.18%) بالنسبة للزيوت الطيارة للأوراق و α -Pinène (8.10 %), Benzaldehyde (10.19%), β -Myrcène (9.91%) بالنسبة للزيوت الطيارة للزهور. نشاط المستخلصات تم تعيينه في المختبر بواسطة طريقة الاتصال المباشر.

نتائج النشاط المضاد للفطريات للزيوت الطيارة اثبتت ان تثبيط نمو الفطر يزداد بزيادة تركيز الزيوت الطيارة للمستخلصات, تتغير من نوع فطري لآخر. قيم CMI تقدر ب $20 \mu\text{l} / \text{ml}$ و 0.5 و $2 \mu\text{l} / \text{ml}$.

كلمات مفتاحية: الزيوت الطيارة، النشاط المضاد للفطريات، *Fusarium oxysporum*، *Rhanterium adpressum*، الكروماتوغرافيا الطور الغازي.

Memory title : Evaluation of the antifungal activity of extract plant origin towards *Fusarium oxysporum* f.sp

Name: SAADOUDI et LEDHEM

First name: Yasmine et Roumaïssa

Directed by: ELHOUITI Fatiha

Abstract : The extracts of essential oil possess antifungal properties known for long dates. In the present work, we are interested to the study of antifungal activity of *Rhanterium adpressum* essential oil extracts, the plant is collected from Zelfana region (Algeria). The essential oils are obtained by hydrodistillation of the leaves and flowers. We have tested their activities against three fungal strains of the *Fusarium oxysporum* f.sp genera, which cause the common disease of vegetables called fusarios. Oils were analyzed by gas chromatography (GC). This analysis allowed us to identify more than half of their compounds, which the majoritarian elements are: α - Pinene (8.99 %), β -Pinene (10.18 %) for leaves essential oil and α - Pinene (8.10 %), Benzaldehyde (10.19 %), β -Myrcène (9.91 %) for flowers essential oil. The activity of extracts was estimated in vitro by the direct method of contact. The results of the antifungal activity of essential oils show that the inhibition of the mycelia growth increases with the essential oils concentration; it varies from fungal specie to another one. Values of MIC were estimated at $20 \mu\text{l} / \text{ml}$ and the values of IC_{50} varies between 0.5 and $2 \mu\text{l} / \text{ml}$.

Key words: essential oil, antifungal activity, *Fusarium oxysporum*, *Rhanterium*, gas chromatography.

Titre du mémoire : évaluation de l'activité antifongique d'un extrait d'origine végétal vis-à-vis le *Fusarium oxysporum* f.sp.

Nom : SAADOUDI et LEDHEM

Prénom : yasmine et roumaissa

Encadreur : ELHOUITI Fatiha

Résumé : Les extraits d'huile essentielle possèdent des propriétés antifongiques connues de longues dates, Le présent travail a pour objectif l'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles extraites du *Rhanterium adpressum* collecté de la région de Zelfana (Algérie), obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne (feuilles et fleurs) testées contre trois souches fongique du genre *Fusarium oxysporum* f.sp, qui causent une maladie courante des végétaux appelée la fusariose. Les huiles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG), cet analyse nous a permis d'identifier plus de la moitié de leurs composés, dont les majoritaires sont : α -Pinène (8.99%), β -Pinène (10.18%) pour l'HE des feuilles et α -Pinène (8.10 %), Benzaldehyde (10.19%), β -Myrcène (9.91%) pour l'HE des fleurs.

L'activité des extraits a été évaluée in vitro par la méthode de contact directe. Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles montrent que l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration des huiles essentielles des extraits, elle varie d'une espèce fongique à l'autre. Des valeurs de CMI ont été estimé à 20 μ l /ml et l'IC₅₀ varie entre 0,5 et 2 μ l /ml.

Mots clés : huiles essentielles, activité antifongique, *Fusarium oxysporum*, *Rhanterium* , chromatographie en phase gazeuse

Dédicace

En préambule à ce mémoire de master, je tiens tout d'abord à exprimer mes remerciements les plus vifs et ma profonde gratitude à tous ceux qui ont su m'apporter leur aide et leur soutien sans lesquels cette modeste contribution n'aurait pu être réalisée.

À mes chers parents pour leur soutien sans faille et leurs encouragements continus, que dieu les protèges...

À mon époux pour sa patience sans limite et sa compréhension Ô combien précieuse

À ma belle mère et mon beau père merci de m'avoir supporté en dépit de tout, sans votre soutien je n'y serai jamais arrivée...

À mes chers frères et sœurs qui m'ont énormément aidée pendant toute la durée de mes études.

À mes beaux frères et belles sœurs... mes nièces et neveux,

À tout mes amies.

Je tiens aussi à remercier tout particulièrement ma promotrice de mémoire Mme El-houti fatiha pour sa disponibilité et sa patience infinie.

À tous je dis encore une fois merci...

YASMINA

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

L'homme de ma vie, mon exemple éternel, et ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te protège, à toi mon père.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

Ma perle précieuse, unique, superbe, éclatante, la personne qu'elle été toujours à côté de moi ma chère sœur « khadidja » et son marie.

Ma nièce Insaf qu'elle été aussi toujours à coté de moi.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, qui ont été toujours tous mes frères lalmi ..aissa..djallal.. nasro..larbi ..à mes belles sœurs... mes nièces et mes neveux,

À mes Tantes et Oncles et mes cousines

La famille Ledhem.

La famille Dali.

À ma chère collègue mon binome yasmina

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études, mes aimables amis, collègues d'étude, et soeurs de cœur à toi Aicha Naidjat, hadjer, nafissa, ,khadra, Rania, hiba.

ROUMAÏSSA

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH qui nous a donné La force afin de L'accomplir.

Nous tiens à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promotrice, madame Bourennane El_Houiti Fatiha, qui a su nous conseiller et orienter, pour sa patience et encouragement tout au long de la réalisation de ce travail. Ainsi que notre co-promotrice Mlle Aouissi Hadjer pour son soutien précieux et son aide inestimable.

Nous remercions vivement les membres de ce jury : Mlle Maameri, Mlle Benabed Houda d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Un très grand merci à Mlle Takhi djalila , pour sa gentillesse et ces précieux conseils tout au long de ce travail. Elle a été d'un grand soutien au labo dans les moments difficiles.

Nos remerciements vont aussi à Mme Dr.Benarous khedidja pour nous avoir porté secours quand nous en avons besoin.

Nos profonds remerciements s'adressent à Mlle Ameer Djamila pour nous apporter la souche fongique.

Sans oublier de remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biologie pour avoir mis à notre disposition le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail.

Nous voudrions aussi exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à tous les enseignants de Master de "Biochimie des Produits Naturels" à l'Univesrité Amar Telidji,Laghouat.

Nous adressons également nos remerciements sincères à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Table des matières

Introduction	1
Partie I : Etude bibliographique	5
I.1. Les plantes médicinales	5
I.2. Les huiles essentielles	5
I.2.1. Historique	5
I.2.2. Définition des huiles essentielles	6
I.2.3. Répartition, localisation et rôle des huiles essentielles	7
I.2.3.1. La répartition.....	7
I.2.3.2. La localisation.....	7
I.2.3.3. Le rôle.....	7
I.2.4. L'extraction des huiles essentielles	7
I.2.4.1. Choix de la méthode d'extraction	8
I.2.4.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	8
I.2.5. Conservation des huiles essentielles	10
I.2.6. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	11
I.2.6.1. Propriétés physiques	11
I.2.6.2. Composition chimique	11
I.2.7.L'identification des composés des huiles essentielles par CPG	12
I.2.8. Domaines d'utilisation des huiles essentielle :	13
I.2.9. Les activités biologiques des huiles essentielles :.....	13
I.2.9.1. L'activité antibactérienne.....	14
I.2.9.2. L'activité antivirale	15
I.2.9.3. L'activité antiparasitaire	15
I.2.9.4. L'activité antifongique.....	15
I.2.10. La fusariose	17
Partie II : Matériels et méthodes	18
II.1. Matériel biologique.....	18
II.1.1. Matériel végétal (<i>Rhanterium adpressum</i>)	18
II.1.1.1. Description botanique	18
II.1.1.2. Classification de <i>Rantherium adpressum</i>	18
II.1.1.3. Collecte de la plante.....	19

Liste des abréviations

%	: Pourcentage
Ø	: Diamètre
APG	: <i>Angiosperm Phylogeny Group</i>
AFNOR	: Association française de normalisation
°C	: Degré Celsius
IC₅₀	: Concentration inhibitrice à 50%
cm	: Centimètre
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse
F	: <i>Fusarium</i>
FO	: <i>Fusarium oxysporum</i>
FID	: détecteur à ionisation de flamme
F. sp	: Forme spéciale
g	: Gramme
h	: Heure
HE	: Huile essentielle
I (%)	: Pourcentage d'inhibition
IRL	: Indice de rétention linéaire
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique
Km	: Kilomètre
m	: Mètre
min	: Minute
µl	: Microlitre

µm : micro mètre
ml : Millilitre
mm : Millimètre
mol : Mole
PDA : Potato Dextrose Agar
T% : Teneur en huile essentielle
V : Volume
VIH : virus de l'immunodéficience humaine

Liste des tableaux

Tableau 1 : La situation géographique et étage bioclimatique de la station de collecte, selon "Atlas Mondial Microsoft Encarta, 2009"	21
Tableau 2 : Références et origines des microorganismes testés dans notre étude.	22
Tableau 3 : la cinétique d'extraction des huiles essentielles.	31
Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Rhanterium adpressum</i> (feuilles et fleurs) analysées par CPG.	32

Liste des figures

Figure 1 : appareil pour l'extraction des huiles essentielles	9
Figure 2 : Schéma illustrant le principe d'extraction par hydrodistillation.....	10
Figure 3 : Représentation schématique du principe d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.	10
Figure 4 : Unité isoprénique (C5).....	11
Figure 5 : monocyclique : thymol.	11
Figure 6 : acyclique : myrcène.....	11
Figure 7 : Présentation de la plante <i>Rantherium adpressum</i>	11
Figure 8 : carte géographique indiquant la station de collecte de la plante	21
Figure 9 : Appareil de l'hydrodistillation.....	24
Figure 10 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle du <i>Rhanterium</i>	27
Figure 11 : Illustration de la méthode de contact direct.....	29
Figure 12 : Evolution de la teneur en huile essentielle en fonction de la durée de l'extraction.....	31
Figure 13 : Comparaison entre les taux d'inhibitions des huiles essentielles testées (feuilles) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées.....	37
Figure 14 : Comparaison entre les taux d'inhibitions des huiles essentielles testées (fleurs) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées	37
Figure 15 : Taux d'inhibitions des IC ₅₀ et des CMI des extraits vis-à-vis des trois souches testées.....	38

Figure 16: Photos illustrant l'effet d'HE (feuilles et fleurs), à différentes concentrations, sur la croissance des souches testées	39
Figure 17 : La variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE des fleurs de <i>Rhanterium adpressum</i>	55
Figure 18 : La variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE des feuilles de <i>Rhanterium adpressum</i>	56

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner, ce sont des éléments vitaux de la diversité biologique. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution de la civilisation dans toutes les régions du monde (Mpondo *et al.*, 2014). Ces plantes représentent la seule source de médicaments pour près de 90% de la population de certain pays d'Afrique (Hamia *et al.*, 2014).

Les plantes renferment des composants chimiques qui se répartissent en des grands groupes : les protides, les glucides, les lipides et les acides nucléiques d'une part et qui sont les constituants du métabolisme primaire, les pigments, les tanins, les polymères et les essences végétales dites huiles essentielles d'autre part et proviennent du métabolisme secondaire (Bouamer *et al.*, 2005). Ces dernières ont trouvé leur place dans l'aromathérapie, leur utilisation est liée à leur large spectre d'activités biologiques (Rachid *et al.*, 2014).

L'aromathérapie scientifique est une science qui met en évidence la relation entre la structure chimique des molécules actives des huiles essentielles et leurs activités biologiques. Il s'agit de mettre en valeur les propriétés biologiques en s'appuyant sur la composition de l'huile essentielle (Zhiri, 2006).

Donc, plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antifongique, antibactérien et antioxydant. Dans ce contexte, de nombreuses études ont montré que les extraits de certaines plantes aromatiques ont une action inhibitrice sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables des infections (Aouadhi *et al.*, 2013).

Les champignons ressortent comme étant les espèces qui causent le plus de dégâts ou dommages sur les plantes de tomate, les légumineuses et les palmiers dattier (Satrani *et al.*, 2015).

Plusieurs études ont prouvé que les extraits de *Rhanterium adpressum* connues pour leur pouvoir antifongique ont une efficacité dans le traitement de quelques agents phytopathogènes (Triki., 2012). Le *Rhanterium adpressum* est un arbuste connu sous le nom « Arfedj », utilisé en médecine traditionnelle pour ces propriétés antidiurétique et anti-inflammatoire (Hamia *et al.*, 2014).

Notre pays l'Algérie, connu par ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (Savona et *al.*, 1982).

La présente étude a pour but de tester l'activité antifongique *in vitro* de deux extraits bruts de la partie aérienne (fleur et feuille) du *Rhanterium adpressum*, une plante qui pousse à l'état spontané dans différentes régions du sud algérien, pour la lutter contre les champignons phytopathogènes responsables du dépérissement de plusieurs plantes (Triki, 2012).

Notre travail est subdivisé en trois (3) parties :

La première partie, portera principalement sur l'étude bibliographique où nous avons apporté un abrégé de l'histoire des plantes médicinales et leurs utilisations, au cours des siècles, ainsi que l'histoire des huiles essentielles.

La deuxième partie, concerne la partie expérimentale qui se structure en deux volets :

- Dans un premier temps, une analyse chromatographique par CPG des deux huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* (feuilles et fleurs) a été faite.
- Dans le second nous avons testé l'activité antifongique de ces deux huiles essentielles sur la croissance de trois champignons phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium oxysporum*, en appliquant la méthode de contact direct.

La troisième partie a été consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.

Enfin, le document est achevé par une conclusion générale.

Étude bibliographique

Partie I : Etude bibliographique

I.1. Les plantes médicinales

De tout temps, le règne végétal à offre à l'homme des ressources naturelles à son alimentation, à son hygiène et sa santé (Lardy et haberkorn 2007). L'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique remonte aux temps le plus ancien (Belaiche, 1979). On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capable de prévenir, soigner et soulager divers maux ou guérir des maladies (Schauenberg et Paris, 2005).

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains (Boukhatem *et al.*, 2010).

I.2. Les huiles essentielles

I.2.1. Historique

Les premiers rapports sur la fabrication et l'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Baser et Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles semblent, donc, avoir accompagné les civilisations humaines depuis leurs premières genèses. Les égyptiens, puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, alimentation ...etc (Besombes, 2008).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et d'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leurs utilisations ont, aussi, tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice Gattefosse a inventé, en 1928, le terme de l'aromathérapie. Il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés. Ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (Besombes, 2008).

Des médecins (Valnet, Duraffourd, Lapraz, d'Hervincourt, Belaiche), des chercheurs (P. Franchomme) et des pharmaciens (D. Baudoux) ont définitivement assis la réputation, l'efficacité et l'extraordinaire richesse des huiles essentielles (Zhiri et Baudoux, 2005).

I.2.2. Définition des huiles essentielles

Chaque fois, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée (padrini et lucheroni, 1996). Donc, une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou l'esprit d'un végétal pour un alchimiste!

Dans la réalité une huile essentielle est l'ensemble de tout cela, car il s'agit d'un produit parfumé et volatile, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique (Moroburongo, 2008).

Le terme "huile" vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme "essentielle" fait référence à l'odeur dégagée par la plante productrice.

Selon la huitième édition de la pharmacopée française parue en 1965, les huiles essentielles (essences ou huiles volatiles) sont : " des produits de composition, généralement, assez complexe, renfermant les principes volatils, contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation " (Bruneton, 2009).

Une certaine ambiguïté existe sur la dénomination "huile essentielle". Le terme utilisé, selon AFNOR est "essence" alors que celui utilisé par la pharmacopée française et la pharmacopée européenne est "huile essentielle"; le même retenu par les spécialistes en pharmacognosie (Bruneton, 2009).

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime ; ce qui explique leur coût élevé. Notons qu'il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle (El-houiti, 2010).

I.2.3. Répartition, localisation et rôle des huiles essentielles

I.2.3.1. La répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17.500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles (Myrtacées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiécées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, par exemple). Ces substances peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, écorce, bois, racines, rhizome, fruits et graines (Bruneton, 2009).

I.2.3.2. La localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles, poils sécréteurs, poches sécrétrices, canaux sécréteurs (Bruneton, 2009).

I.2.3.3. Le rôle

Le rôle biologique des huiles essentielles demeure le plus souvent obscur. Il est toutefois vraisemblable qu'elles ont un rôle écologique : dans les interactions végétales, comme agents inhibiteurs de la germination de graines ; dans les interactions végétal, comme agents protecteurs contre les prédateurs, les déprédateurs et les parasites ; dans l'attraction des pollinisateurs (Bruneton, 2009). Elles semblent avoir, aussi, pour rôle, la conservation de l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques, par leurs vapeurs aromatiques qui saturent l'aire autour de la plante (Belaïche, 1979).

I.2.4. L'extraction des huiles essentielles

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide (Möller, 2008).

I.2.4.1. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fernandez et Cabrol-Bass, 2007). Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- La taille et la forme des molécules constitutives ;
- L'adsorption (Bousbia, 2013).

I.2.4.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

A. La distillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Ce procédé est basé sur le fait que les composants odorants volatils, contenus dans le végétal, sont entraînés par des aérosols de vapeur, à cause de leur point d'ébullition, relativement bas, et de leur caractère hydrophobe (ils ne sont ni retenus, ni solubilisés dans l'eau).

➤ **Hydrodistillation simple** : Elle se produit dans l'appareil de Clevenger et consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (entier, coupé ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide. En effet, les vapeurs ascendantes provenant de l'alambic ou du réacteur progressent dans la partie **A** puis se condensent dans la partie **B**. Le condensat est récupéré dans la partie **C** où l'huile se sépare de la phase aqueuse. L'eau en excès retourne dans l'alambic par la partie **D** (figure 01). Dans une variante du procédé, le matériel végétal est broyé *in situ* (Gilles Figueredo, 2007).

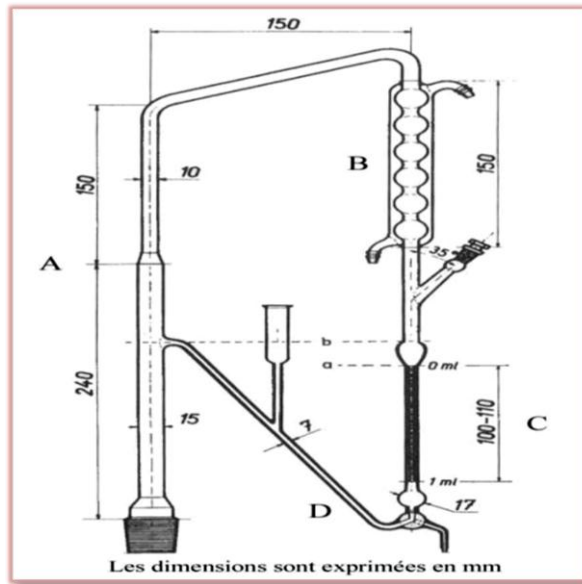


Figure 1: appareil pour l'extraction des huiles essentielles

Pharmacopée Européenne 5ème édition

- **Entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée) :** Dans la distillation par entraînement à la vapeur d'eau (*Steam distillation*), le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée à travers la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Bruneton, 2009).
- **Hydrodiffusion :** Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (entre 0,02-0,15 Bar) du haut vers le bas, à travers la masse végétale. Les composés obtenus par cette méthode sont qualitativement différents de ceux obtenus par la méthode classique. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 2009).
- **Hydrodistillation par micro-ondes, sous vide :** Une nouvelle technique récemment développée et rapportée par plusieurs auteurs. Elle permet d'extraire les huiles essentielles en un temps court et avec un rendement relativement élevé (Lahlou, 2004). Ce Procédé, très rapide est consommant peu d'énergie et d'eau ; la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle (Bruneton, 2009). L'utilisation des rayonnements micro-ondes, sert pour exciter les molécules d'eau présentes dans les tissus de la plantes, en causant la rupture des cellules et la libération des huiles essentielles piégées (Belanger *et al.*, 1991 in Lahlou, 2004).

le produit obtenu est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 2009). Cette technique est appliquée, aussi, pour l'extraction des saponines, à partir de quelques plantes médicinales (Safir *et al.*, 1998 in Lahlou, 2004).

B. L'expression à froid

L'extraction par expression est un procédé très simple. Il est souvent utilisé pour extraire les huiles essentielles à partir de fruits très riches en ces substances (le citron, l'orange et la mandarine). Son principe consiste à rompre, mécaniquement, les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. Certaines machines brisent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle ; ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau. Dans ce cas le terme « essence » est utilisé plutôt que l'huile essentielle (Buronzo, 2008).

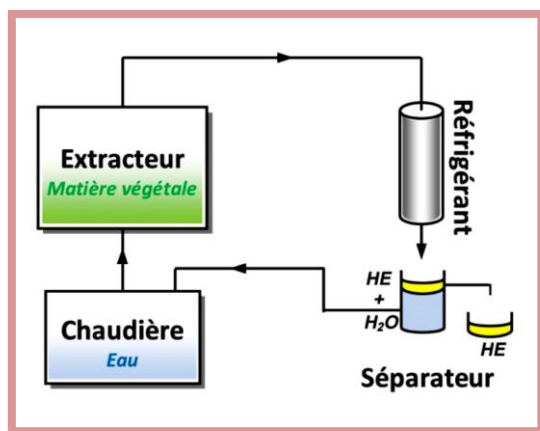


Figure 2: Schéma illustrant le principe d'extraction par hydrodistillation (Sifi, 2010).

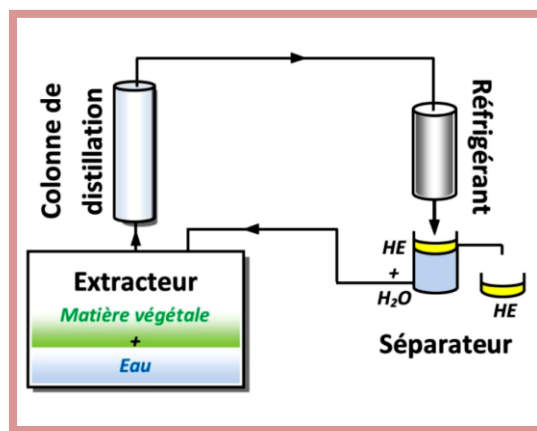


Figure 3: Représentation schématique du principe d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Sifi, 2010).

1.2.5. Conservation des huiles essentielles

La relative instabilité des molécules constituant les huiles essentielles rend leur conservation difficile. Les possibilités de dégradation sont nombreuses. Il est possible de les éviter en utilisant des flacons propres et secs, en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte). Le stockage se fait à l'abri de la chaleur et de la lumière (Bruneton, 2009).

I.2.6. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

I.2.6.1. Propriétés physiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau à laquelle elles sont généralement peu miscibles voire non miscibles.

I.2.6.2. Composition chimique

Les composants des huiles essentielles sont généralement dits aromatiques, en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique ; ce qui pourrait prêter à confusion (Pibiri, 2005). Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe pouvant contenir plus de 300 composés différents (Croteau *et al.*, 2000). Il ya deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes le groupe de terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques, beaucoup moins fréquents d'autre part (Bruneton, 2009).

➤ **Les terpènes et les terpénoïdes:** 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 isoprénique à 5 atomes de carbone de C_5H_8 (figure 05). Les terpènes contenant de l'oxygène sont appelés « terpénoïdes » (Hernandez-ocoa, 2005).

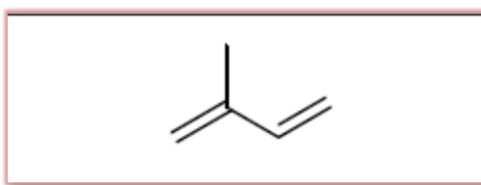


Figure 04: Unité isoprénique (C₅).

Ils sont divisés selon le nombre d'unités isoprènes :

Les monoterpènes : Formés de deux unités isoprènes. Les carbures sont toujours présents. Ils sont acycliques, monocycliques ou bicycliques. C'est la classe la plus représentative des huiles essentielles (90%). Elle contient une large variété de structures représentant différentes fonctions (Bruneton, 2009).

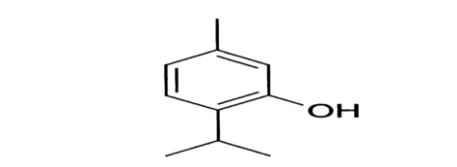


Figure 05 : monocyclique : thymol.

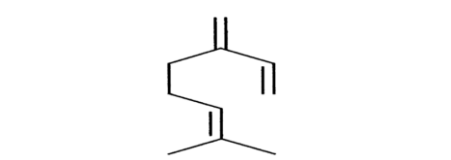


Figure 06 : acyclique : myrcène.

Les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) : Formés de trois unités isoprènes. Ils ont une variabilité structurale de même nature que les monoterpènes. L'allongement de la chaîne avant cyclisation lors de leur synthèse augmente le nombre de cyclisations possibles, d'où la très grande variété de structures connues.

Les diterpènes (C₂₀H₃₂) : Molécule formés de quatre unités isoprènes, ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines (Cohen, 2013).

➤ **Composés aromatiques** : Beaucoup moins fréquents que les Terpénoïdes, ce sont des dérivés du Phénylpropane (C₆-C₃) ou en C₆-C₁ (Vaniline). Certaines huiles essentielles comportent également des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) (Cohen, 2013).

➤ **Les composés d'origines diverses** : Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles : des Composés issus de la dégradation d'acides gras, les composés issus de la dégradation des terpènes et les composés azotés et soufrés.

1.2.7. L'identification des composés des huiles essentielles par CPG

Selon la Pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (Pibiri, 2006).

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique.

La CPG s'est montrée une méthode appropriée pour la séparation et l'identification des composants d'une HE, elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (Paris et Godon, 1979).

L'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. La CPG est basée sur le partage du produit analysé entre une phase gazeuse mobile et une phase (liquide ou solide) immobilisée sur la surface d'un support inerte (Skoog *et al.*, 2003).

Les constituants des mélanges appelés généralement « solutés » sont inégalement retenus par la phase stationnaire lors du transit dans la colonne. De ce phénomène appelé « rétention », les solutés injectés se déplacent avec une vitesse inégale entre eux et inférieure à celle de la phase mobile, ceci les conduit à sortir de la colonne les uns après les autres. On enregistre d'abord un signal dit 'ligne de base' en présence du gaz vecteur seul, puis un pic au passage de chaque soluté séparé (Tranchant, 1995).

I.2.8. Domaines d'utilisation des huiles essentielle :

L'aromathérapie scientifique est une science qui utilise les méthodes et les techniques scientifiques du laboratoire pour mettre en évidence la relation entre la structure chimique des molécules actives des huiles essentielles et leurs activités biologiques. Le terme « aromathérapie » a été formulé en 1928, par M. Gattefossé, bâtisseur de la recherche scientifique sur les huiles essentielles. À partir des années 1970, quelques avancées scientifiques et thérapeutiques sur les huiles essentielles, démontrées par des chercheurs et des médecins ont permis à l'aromathérapie de se positionner en tant que médecine de l'avenir et de sortir de son image d'utilisation issue de la tradition. Les chercheurs ont voulu lui donner une valeur scientifique en étudiant la composition des huiles essentielles et en attribuant aux molécules qu'elles contiennent des propriétés thérapeutiques (Zhiri, 2006).

I.2.9. Les activités biologiques des huiles essentielles :

L'utilisation des qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues aux huiles essentielles produites par les plantes et présentant un spectre d'action très large ; inhibant aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures.

Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et, en particulier, de la nature de leurs composés volatils majeurs (Caillet et Lacroix, 2007).

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires, antifongique...etc (Valnet, 2005).

La confirmation scientifique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est récente. Elle ne date que du début du siècle dernier avec les travaux du Dr Gattefossé, le père de l'aromathérapie en France. Depuis ce temps, l'utilisation des huiles essentielles s'est développée jusqu'à devenir depuis plus d'une vingtaine d'années, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques (Pibiri, Seigniez *et al.*, 2001).

I.2.9.1. L'activité antibactérienne

De récentes études, pratiquées sur plus d'une centaine d'huiles essentielles et de composés d'arômes, ont permis de sélectionner une trentaine d'huiles dirigées, spécifiquement, contre les quatre bactéries pathogènes les plus répandues (Caillet et Lacroix, 2007). A la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes une activité létale (bactéricidie) et une inhibition de la croissance (bactériostase).

Les HE sont légèrement plus actives contre les bactéries Gram positif que celles Gram négatif. Les germes Gram négatif sont moins sensibles à l'action antibactérienne.

I.2.9.2. L'activité antivirale

Les huiles essentielles sont capables de supprimer les virus de différentes manières. Ils peuvent inhiber leur réplication ou ils peuvent prévenir leur propagation d'une cellule à une autre, parce que les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HE (Buchbauer 2010, *In Baser et Buchbauer, 2010*). Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus, tout en stimulant le système immunitaire (Buronzo, 2008).

Récemment, une étude *in vitro* a montré l'effet antiviral de l'HE d'origan et du girofle sur le virus Type 1 de l'herpès simplex ainsi que sur le virus de la maladie de Newcastle (Siddiqui *et al.*, 2010). Le triterpénoïde, l'acide betulinique est un de plusieurs terpénoïdes qui ont montré une action inhibitrice envers le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Schnitzler *et al.*, 2001).

I.2.9.3. L'activité antiparasitaire

Les huiles essentielles détruisent les parasites. Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites ; celle des cétones et des lactones l'est moins.

Le Nérolidol, un sesquiterpène actif dans les feuilles de la plante de *Viola surinamensis* d'Amazonie, possède une activité anti-malaria, prouvée par les études de (Porte *et al.*, 2000). Son huile essentielle cause 100% d'inhibition du développement de l'agent infectieux. Cette activité serait liée à l'inhibition de la biosynthèse des glycoprotéines.

I.2.9.4. L'activité antifongique

De plus en plus, les essences sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire comme arômes également comme conservateurs alimentaires. Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des Huiles essentielles (Ouibrahim, 2015).

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre

les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, 2002).

Les huiles essentielles agissent négativement contre le développement des champignons, en diminuant leur croissance. L'activité antifongique des HE a fait l'objet de plusieurs études scientifiques *in vitro*, depuis plusieurs années. Les méthodes utilisées pour évaluer cette activité sont nombreuses. Elles donnent, parfois, des résultats différents, selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur (Rayour *et al.*, 2003 in Zhiri, 2006).

En 1977, il a été rapporté que 60% des dérivés des HE examinées sont des inhibiteurs de champignons et 30% des inhibiteurs de bactéries (Chaumont, leger, 1989).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiacaes : thym, organ, lavande, menthe, romarin, sauge,....etc. Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (Viollon, chaumont, 1989).

plusieurs genre de champignons tel que le *Fusarium* cause une maladie courante chez les végétaux dite la fusariose .

La fusariose est une maladie cryptogamique courante des végétaux, Elle est aussi appelée "Flétrissure Fusarienne" causée par certains champignons décomposeurs couramment présents dans les sols, du genre *Fusarium* (Zirihi *et al.*, 2008). Ces champignons responsables de cette maladie résistent au froid et survivent à l'hiver, Elle est à craindre par temps très chaud, lorsque le thermomètre avoisine les 30°C (Richard, 2004).

Il existe de nombreuses espèces de *Fusarium*, dont certaines seulement sont pathogènes et/ou sont susceptibles d'émettre des mycotoxines (fusariotoxines en l'occurrence), posant problèmes en agriculture ou en médecine humaine et pour l'industrie agroalimentaire (Rakotorimanga *et al.*, 2014) .

L'infection d'une plante par *Fusarium* peut avoir plusieurs origines : une origine biotique dans le cas d'un oiseau ou d'un insecte (*Sitodiplosis mosellana*) notamment, (Mongrain *et al.*, 2000) qui transporterait des spores et les dissémineraient dans la nature ou une origine abiotique lorsque c'est le vent ou la pluie qui permet la dissémination des spores dans la nature (Hibar, 2007).

Matériels et méthodes

Partie II : Matériels et méthodes

L'étude que nous avons entreprise s'inscrit dans la continuité d'un précédent travail réalisé par d'autres personnes. L'objectif de ce travail est de mettre en évidence un éventuel effet antifongique de deux extraits d'huiles essentielles de la plante *Rhanterium adpressum* et de produits purs vis-à-vis de trois souches de champignons phytopathogènes.

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Matériel végétal (*Rhanterium adpressum*)

C'est une plante spontanée commune dans tout le Sahara septentrional endémique Nord-Africain, connue sous le nom de « Arfedj ». Le *Rhanterium adpressum* est très apprécié par les dromadaires et en médecine traditionnelle, il est connu par ses propriétés antidiurétiques (Bouheroum *et al.*, 2007).

Cette plante est aussi utilisée par les populations locales notamment pour le tannage. En plus (Bouheroum *et al.*, 2007), selon Yaghmai et Kolbadipourelle la population Iranienne l'utilise pour son effet rafraîchissant de la peau.

II.1.1.1. Description botanique

C'est un arbuste très ramifié, à tiges et feuilles revêtus de poils blanchâtres; les feuilles sont petites, alternées, un peu dentées, très caduques; à capitules hétérogames; à involucre sphériques formés de plusieurs rangs de bractées, coriaces, lancéolées, achaines étroits, prismatiques, à cinq cotés prolongées chacune en une soie qui est dilatée et plumeuse dans sa partie terminale. Cette plante endémique du nord-africain à des fleurs jaunes et marginales ligulées (figure 07) (Ozenda, 1991).

Ses capitules de 10 à 15 mm de diamètre, à écailles obtuses étroitement appliquées, réceptacle ne présentant des paillettes que sa partie périphérique.

II.1.1.2. Classification de *Rantherium*

Nous avons établi la systématique de *Rhanterium* selon *Angiosperm Phylogeny Group (APG II)*

- Règne : *Plantae*

- **Embranchement** : *Spermaphytes* (plantes à graines)
 - **Sous embranchement** : *Angiospermes* (plantes à fleurs)
 - **Classe** : *Magnolipsida* (Dicotylédones)
 - **Sous classe** : *Magnoliidae*
 - **Super ordre** : *Asterids*
 - **Ordre** : *Asterales*
 - **Sous ordre** : *Euasterids II*
 - **Famille** : *Asteriaceae* (*Compositae*)
 - **Genre** : *Rhanterium*
 - **Espèce** : *Rhanterium* Coss. & Durieu
- Nom commun** : "aarfedj" ou "ârfedj"

II.1.1.3. Collecte de la plante

Le *Rhanterium* a été collecté durant le mois de Juin 2011, dans la localité de Zelfana (670 Km sud d'Alger). La station géographique et l'étage bioclimatique de la région de collecte sont consignés ci-dessous (figure08).



Source, google maps 2015.

Figure 08: carte géographique indiquant la station de collecte de la plante.

La situation géographique, l'altitude et l'étage climatique des stations étudiées sont présentées dans le tableau 01.

Tableau 1 : La situation géographique et étage bioclimatique de la station de collecte, selon "Atlas Mondial Microsoft Encarta, 2009".

Région	Altitude	Latitude	Longitude	Etage bioclimatique
Zelfana (Ghardaïa)	354 m	32°23'46.70" N	4°13'34.40" E	Chaud et aride

Les échantillons fraîchement collectés ont été séchés à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité, dans un endroit sec et aéré. Les échantillons ont été retournés, chaque jour, afin d'éviter les moisissures, puis stockés soigneusement dans des boîtes en carton propres. La plante a été scindée en deux parties : les fleurs, d'une part et les feuilles d'autre part. Chaque partie a été broyée manuellement à l'aide d'un mortier.

II.1.2. Matériel fongique (*Fusarium oxysporum f.sp*)

Les champignons sont les principaux agents responsables des pertes en agriculture. Ils provoquent des maladies qui peuvent infecter n'importe quelle partie de la plante (El amraoui *et al.*, 2013). Parmi les champignons agents des maladies vasculaires ceux appartenant au genre *Fusarium oxysporum*, Le genre *Fusarium* tient son nom du latin *Fusus*, car ses spores sont en forme de fuseau. Ce sont les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures (Nelson *et al.*, 1981). Depuis la description botanique du genre par Link (1809) de nombreux travaux ont été consacrés à la taxonomie de ce champignon (Booth, 1971).

Classification (Selon Nelson 1983)

- **Classe** : deutromycètes
- **Ordre** : moniliales
- **Famille** : tuberculariaceae
- **Genre** : *Fusarium*
- **Espèce** : *Oxysporum*

Le *fusarium oxysporum* est un champignon imparfait avec mycélium aérien et généralement blanchâtre ou rosâtre. Ce champignon se développe bien sur un milieu

gélosé à base de pomme de terre (PDA, voire annexe), la température idéale pour la croissance est entre 25 et 27°C.

Tableau 02 : Références et origines des microorganismes testés dans notre étude.

Souche fongique	Référence
<i>Fusarium(isolat1)</i>	Isolat
<i>Fusarium(isolat2)</i>	Isolat
<i>Fusarium (isolat3)</i>	Isolat

II.1.2.1. isolat 1

Depuis plus de 100 ans, les palmeraies du Maroc et d'Algérie sont dévastées par un champignon du sol, qui provoque un dépérissement rapide du palmier dattier. Cette fusariose vasculaire, communément appelée Bayoud, affecte tout particulièrement les meilleures variétés productrices de dattes (Fernandez *et al.*, 1995). Il a été isolé de palmier infecté du Bayoud. Le champignon peut être facilement isolé à partir d'un palme présentant les symptômes du Bayoud. Le *F o. albedinis* peut survivre dans le sol et sur des débris végétaux pendant plusieurs années en l'absence de son hôte (Karkachi, 2013).

II.1.2.2. isolat 2

C'est un champignon tellurique mondialement répandu. Décrit pour la première fois en Europe à la fin du XIXe siècle, il est maintenant présent dans plusieurs dizaines de pays répartis sur tous les continents, où ses dégâts fluctuent en fonction de la race et de la variété cultivée. Ce phytopathogène est isolé de la tomate pourrie. L'isolat de ce champignon se révèle virulent pour les plantes de tomate. Testé *in vitro*, cet isolat inhibe significativement la germination et la croissance racinaire de cette plantes (Rakotoarimanga *et al.*, 2014).

II.1.3.3. isolat 3

est un agent pathogène infectant les pois, dans le monde entier. L'évolution constante de l'agent pathogène entraîne la nécessité d'élargir la base génétique de la résistance à FOP (Karkachi, 2013).

II.2. Méthodes expérimentales

II.2.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été faite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil, de type Clevenger, pendant une durée de 6 heures.

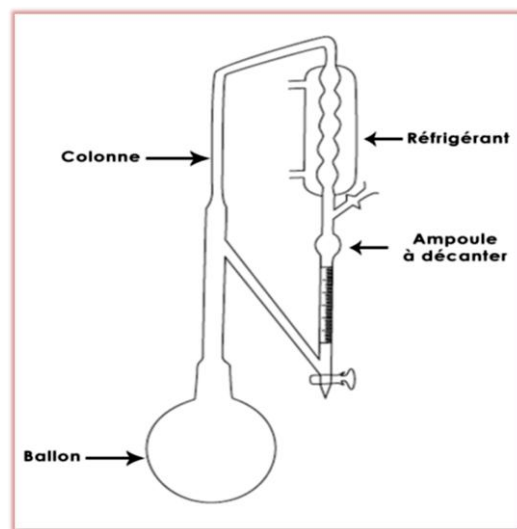
II.2.1.1. Le procédé d'extraction

Le montage est constitué d'un ballon en verre (de 2 litres) contenant 200g de matériel végétal (partie aérien écrasées) additionné d'un litre d'eau, placé au-dessous d'un chauffe ballon pendant 24 heures. Ce dernier est surmonté d'une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargées de gouttelettes d'huile essentielle, qui sont ensuite recueillies sous forme de distillat dans une ampoule à décantier.

Les hydrodistillats obtenus sont mesurées (en ml par Kg de plante) et séchés par du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toutes trace d'eau. Après les avoir récupérées, les huiles essentielles sont conservées, dans des tubes en verre bien scellés et recouverts d'aluminium, au réfrigérateur à 5°C et à l'abri de la lumière (protection contre la chaleur, l'évaporation et la lumière).



b. L'appareil de type *Clevenger*



a. Schéma illustre les parties essentielles du montage

Figure 9 : Appareil de l'hydrodistillation (Sifi, 2010).

II.2.1.2. La teneur en huile essentielles

La teneur en huile essentielles est définie comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du végétal traité (Carée, 1953). Elle est calculée par la formule suivante :

$$T\% = \frac{m_1 \times 100}{m_0}$$

Où :

m_1 : masse d'huile essentielle, en grammes ;

m_0 : masse de la matière végétale traitée, en grammes ;

T : teneur en huile essentielle.

II.2.2. Analyse chromatographique

Les huiles essentielles obtenues ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) (Keravis, 1997 *in* Lahlou, 2004).

II.2.2.1. Les conditions opératoires de la CPG

L'analyse qualitative et quantitative des HE a été effectuée à l'aide d'un chromatographe de type HP 5, équipé d'une colonne capillaire (0,32 mm × 0.25 nm), avec une épaisseur de film de 0,25 µm et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). La programmation de la température du four varie de 80 °C durant 2 min jusqu'à 200°C durant 5 min à raison de 5 °C/min. Les indices de rétention linéaire ont été calculés par rapport aux n-alcanes (C₈-C₂₆) standards.

II.2.3. L'étude de l'activité antifongique

Différentes méthodes existent pour connaître l'action antifongique des HE sur ces espèces fongiques (Amvam Zollo *et al.*, 1998). Les effets des deux extraits des huiles essentielles, ont été évalués sur un paramètre majeur : la croissance mycélienne, et cela par la méthode de contact directe sur milieu solide PDA dans des boîtes de Petri (diamètre 84mm), selon ce qui a été décrit par (Dongmoa *et al.*, 2001) et (Tchoumboungang *et al.*, 2008).

II.2.3.1. La pré-culture des champignons

Pour le *Fusarium oxysporum*, l'inoculum se présente sous forme d'un disque fongique de 6mm de diamètre, provenant d'une culture de 7 jours, sur milieu PDA (en boîtes de pétries de 84 mm de diamètre, T° d'incubation 25°C).

II.2.3.2. L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct

Du fait de la non miscibilité des huiles essentielles à l'eau, et donc aux milieux de culture, leur mise en émulsion a été réalisée au préalable, en utilisant une solution d'agar agar à 0,2 % selon la méthode rapportée par (Remmal *et al.*, 1993) et (Satrani *et al.*, 2008), afin de favoriser le contacte champignon/composé.

A. Préparation des différentes concentrations

Des dilutions sont préparées au 1/5^e, 1/10^e, 1/25^e, 1/50^e, 1/100^e et 1/200^e, dans la solution d'agar agar à 0,2 %. on ajoute 1,5 ml de chacune des dilutions à des tubes à essais contenant, chacun, 13,5 ml de milieu PDA gélosé, stérilisés à l'autoclave (20 min à 121 °C) et refroidis à 45 °C, de façon à obtenir les concentrations finales de 1/50, 1/100, 1/250, 1/500, 1/1.000 et 1/2.000 (v/v). Les tubes sont convenablement agités au vortex avant d'être versé dans des boîtes de Pétri.

D'autres tubes, contenant le milieu de culture et la solution d'agar agar à 0,2 %, sont également préparés et utilisés comme témoins (El Ajjouri *et al.*, 2008). Les tubes sont convenablement agités au vortex et chaque dilution a été coulé dans des boîtes de Pétri, Après le refroidissement et la solidification de cette mélange sur la paillasse des disques mycéliens de diamètre de 5mm issue à partir de la périphérie du thalle provenant d'une culture de 7 jours, sur PDA. Ces mycéliens ont été prélevée avec un emporte-pièce et inoculé au centre de chaque boîte (1disque/boîte). Chaque concentration est répéter trois fois. Les boîtes sont incubées dans d'obscurité à température de 25°C ; les mesures sont prélevées après 72 h d'incubation (figure 10).

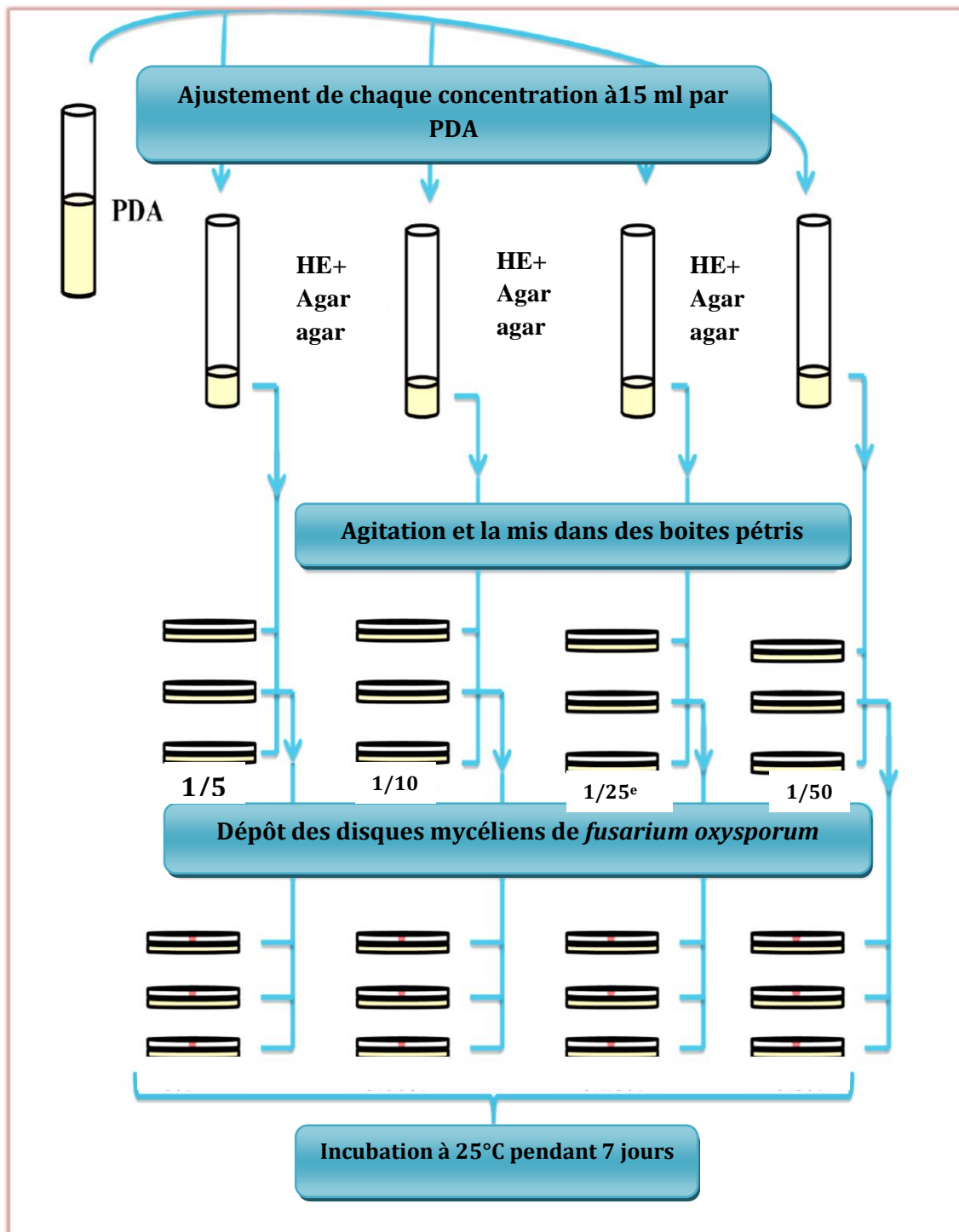


Figure10 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle du *Rhanterium* (Goumni et Salhi, 2013).

B. Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle, à l'aide d'un pied à coulisse.

Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils sont démarré le même jour et dans les mêmes conditions.

➤ **Détermination de l'indice antifongique**

Après l'incubation en tenant compte de la croissance de témoin, on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule suivante (Chang *et al.*,2008):

$$I_a = (1 - D_{\text{échantillon}} / D_{\text{témoin}}) \times 100$$

D_{ech} : diamètre de la zone de croissance de l'échantillon.

$D_{\text{témoin}}$: diamètre de la zone de croissance du témoin

I_a : Pourcentage d'inhibition de champignon par les HE

➤ **Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI)**

Il s'agit en parallèle d'évaluer la plus petite concentration pour laquelle aucun développement n'est visible à l'œil nu.

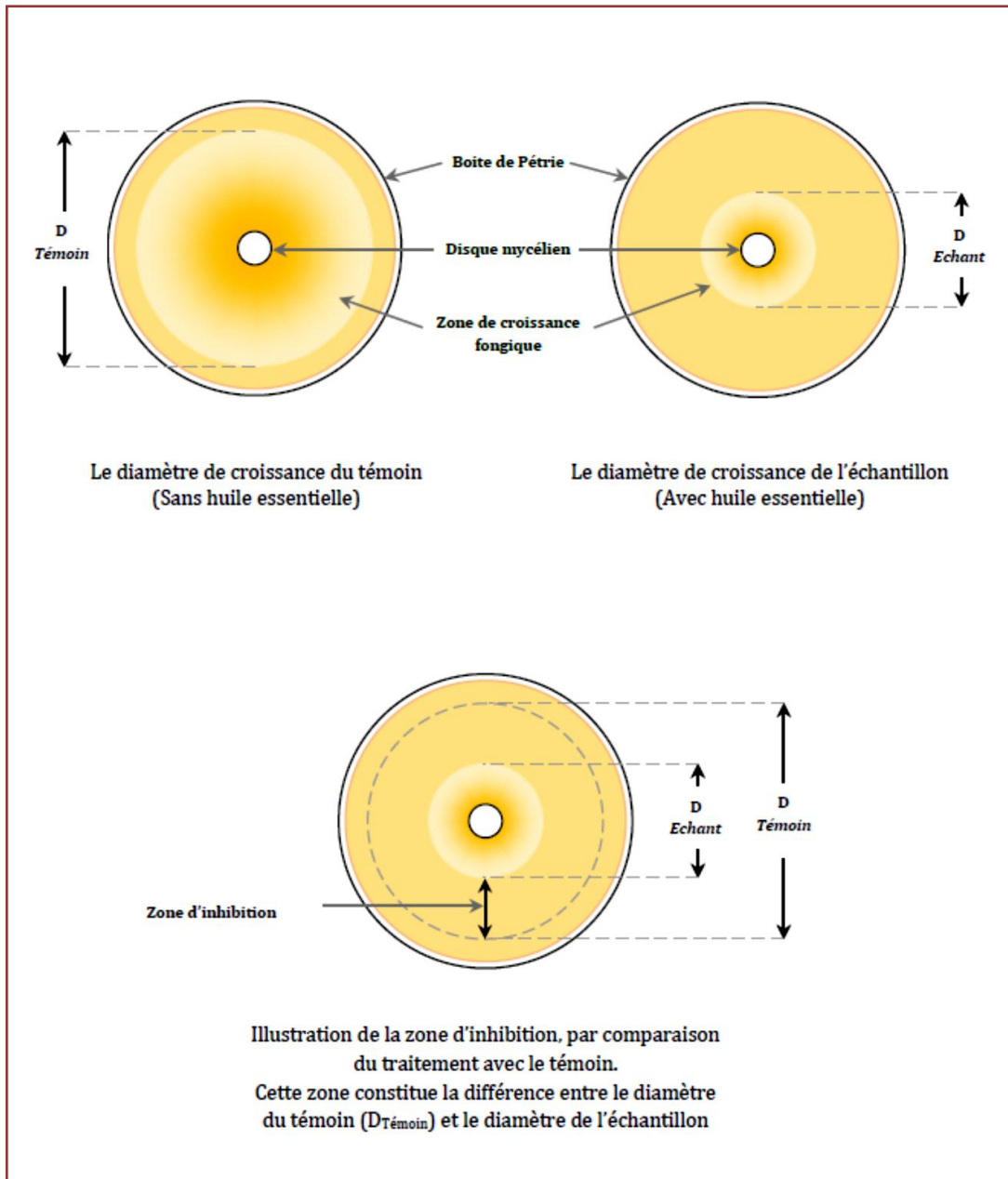


Figure 11 : Illustration de la méthode de contact direct (Sifi 2010).

II.2.4. Analyse statistique

L'analyse statistique (tableaux, histogrammes, courbe) des données traitées par un logiciel Excel 2010 pour la détermination de la signification des résultats.

Résultats et discussion

III.1. La teneur en huile essentielle

D'après les travaux d'El-Houiti (2010), l'étude de la cinétique d'extraction des huiles essentielles à partir du *Rhanterium* par hydrodistillation, a permis d'estimer la durée d'extraction et la teneur en huiles essentielles. Ceci est élucidé par le suivi et l'interprétation des résultats obtenus à partir d'un échantillon riche en HE. Nos résultats sont mentionnés dans le tableau ci-après. L'évolution du rendement d'Huile essentielle en fonction du temps est illustrée dans la (figure12).

Tableau 03 : la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles de *Rhanterium*.

Temps (heure)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Teneurs en HE (ml/200g)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	0,9	1	1	1
Teneurs en HE (ml/Kg)	0	1	2	3	4	4,5	5	5	5

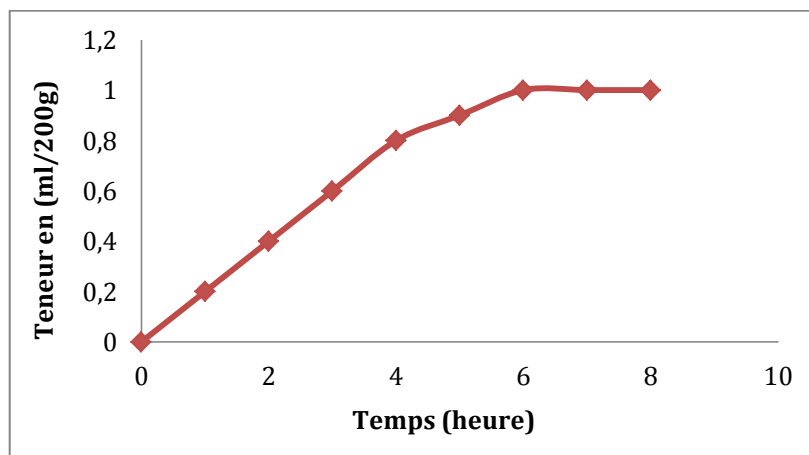


Figure12: Evolution de la teneur en huile essentielle en fonction de la durée de l'extraction.

D'après cette courbe représentant l'évolution du rendement en huile essentielle, extraite en fonction du temps, nous pouvons distinguer deux phases :

Une phase exponentielle, qui montre une évolution rapide de la teneur en huile essentielle, durant la première heure d'extraction, pour atteindre une valeur de 0.9 ml /200g.

Une deuxième phase indiquant une évolution lente de la teneur en HE. La valeur maximale (1ml/200g) y est atteinte, au bout d'une heure. Le temps optimal pour le déroulement de l'hydrodistillation est de 6h. C'est le temps nécessaire pour l'extraction de 5ml d'huiles essentielles par kilogramme de matière végétale.

III.1.1. L'évaluation de la teneur en HE

Les teneurs en HE ont été calculées par rapport à la masse de parties aériennes de la plante (feuille et fleurs). Les valeurs des teneurs en huiles essentielles sont variées de 0,11% à 0,49%.

III.2. La composition chimique de l'huile essentielle

Dans ce travail, nous avons déterminé la composition chimique de l'huile essentielle de nos échantillons de la partie aérienne du *Rhanterium*, à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (CPG), nous avons pu identifier 61,42 % des composés de l'extrait des feuilles et 58,28 % des composés de l'extrait des fleurs, comme le montre le tableau 4.

L'identification des composés est réalisée en nous basant sur la comparaison de leur indice de rétention linéaire (IRL) avec des bases de données.

En général, les échantillons d'huile essentielle sont riches en hydrocarbures monoterpéniques et monoterpènes oxygénés. Les composés majoritaires identifiés sont : le β -Pinène (10, 18 feuille -2, 81% fleur), l' α -Pinène (8, 99-8, 10%), le β -Myrcène (0, 14-9, 91%). D'autres composés, en pourcentages plus ou moins importants ont été mis en évidence : le Limonène (4, 21-4, 28 %), Linalool (3, 22-0, 48%), Campholenicaldéhyde (0, 35-4, 87%) et le γ -Muroène (3, 19-0, 87%). Les composés identifiés des deux huiles essentielles sont presque identiques.

Une comparaison de nos résultats avec des travaux antérieurs menés sur différentes espèces du genre *Rhanterium* à montrer que la composition chimique varie au sein de ce genre (Yaghmai et Kolbadipour 1987). Ont mené une étude portant sur l'huile essentielle du *Rhanterium epapposum* collectée dans le Nord-est de l'Iran. Dans l'analyse chromatographique, ils ont révélé 107 composants volatils dont 92% sont des terpénoïdes dont les principaux constituants sont : l' α -Phellandrene, le Linalol, le Géraniol, le bulnesol, et le β -Phellandrene, avec un pourcentage global de 55,6%.

Une étude réalisée par (Bouheroum *et al.*, 2007) sur l'huile essentielle du *Rhanterium adpressum*, collectée, à Ouargla en Algérie, a révélé que les composés majoritaires de cette huile sont : β -Eudesmol, 16 β -Hydroxy-lupeolyl-3-hexadécanoate, Stigmastérol, propan-2-ol.

Nous remarquons que les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Rhanterium* collectée à Ouargla, sont différents de ceux de nos extraits de la même espèce collectée à Zelfana.

Les variations du % des composés chimiques de l'HE de *Rhanterium* pourraient être due à des facteurs exogènes tels que l'origine géographique, le lieu et la durée de séchage et la méthode d'extraction (Svoboda et Hampson, 1999), aux conditions climatiques de la saison de collecte des échantillons (l'ensoleillement, la température,...), la photopériode, les composants du sol, l'approvisionnement en eau et l'altitude et à des facteurs endogènes tels que la physiologie du végétal et la composition génétique des individus. Les attaques des insectes et des micro-organismes peuvent aussi avoir une influence sur la composition des HE (Hüsnü Can Baser et Buchbauer G, 2010).

III.3. L'évaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles de *Rhanterium* évaluée sur la croissance de trois champignons était variable en fonction de la souche testée mais aussi en fonction de l'organe végétal qui a servi pour l'extraction des huiles, probablement en raison de la différence de la composition chimique des huiles testées.

Pour évaluer l'activité antifongique des deux extraits d'huile essentielle, nous avons adopté la technique de contact direct sur gélose. Les résultats ont montré que les huiles essentielles ont une activité significative contre les champignons phytopathogènes testés. Les trois champignons ont continué de croître sur les milieux sans HE, ce sont des témoins et aussi sur les milieux dont la concentration en huiles essentielles est de différents dilutions.

La CMI a été définie comme étant la plus faible concentration en HE inhibant la croissance mycélienne. Quant à la CMF, elle correspond à la concentration minimale capable de tuer plus de 90% de l'agent pathogène.

III.3.1. La cinétique fongique

Le suivi quotidien des diamètres de la croissance mycélienne de nos trois souches traitée avec l'HE extraite des deux parties (feuilles, fleurs) de notre échantillon, nous a permis d'établir les courbes de la cinétique fongiques.

nous pouvons constater que la croissance mycélienne, observable à travers l'évolution des diamètres des disques, continue pour l'ensemble des cultures ayant subi le traitement avec l'HE testée, pour les dilutions 1/50, 1/100 et 1/200 pour toutes les souches, par contre il y a une légère croissance pour les cultures traitées avec les dilutions 1/5, 1/10 et 1/25.

Nous constatons, aussi, en comparant les courbes du traitement, avec celles du témoin, que notre huile essentielle a eu un effet inhibiteur sur la croissance fongique des trois espèces de *Fusarium* testées.

Les courbes de la cinétique de la croissance fongique montrent que les diamètres mycéliens augmentent avec le temps et, plus la concentration en huile essentielle est importante, plus ces diamètres diminuent ; d'où l'augmentation de l'effet de l'huile sur la croissance mycélienne.

Par ailleurs, l'inhibition totale de la croissance est observée au bout de sept jours d'incubation, au plus tard, pour l'ensemble des cultures. Les résultats de l'étude de la cinétique de l'évolution des diamètres des cultures fongique nous ont permis à déterminer la CMI.

Les résultats du pouvoir antifongique de l'huile essentielle montre que l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration des extraits, elle varie d'une espèce fongique à l'autre selon la physiologie de la souche testée.

Ainsi, à chaque fois qu'on augmente la concentration de l'huile, le diamètre de la croissance mycélienne diminue jusqu'à atteindre un arrêt de la croissance ce qui nous a permis d'estimer des valeurs de CMI propre pour chaque souche.

Les histogrammes présentés ci-dessous, montrent l'existence d'une relation proportionnelle entre les taux d'inhibition et les concentrations testées. Il est clair que les deux HE étudiées, ont exercé une importante activité inhibitrice, cependant la plus forte activité semble être attribuée à l'extrait des fleurs.

D'après la (figure13) on remarque que l'activité d'huile essentielle extraite des feuilles de *Rhanterium* vis-à-vis les trois espèces fongiques est plus importante respectivement chez isolat 2 isolat3 isolat1.

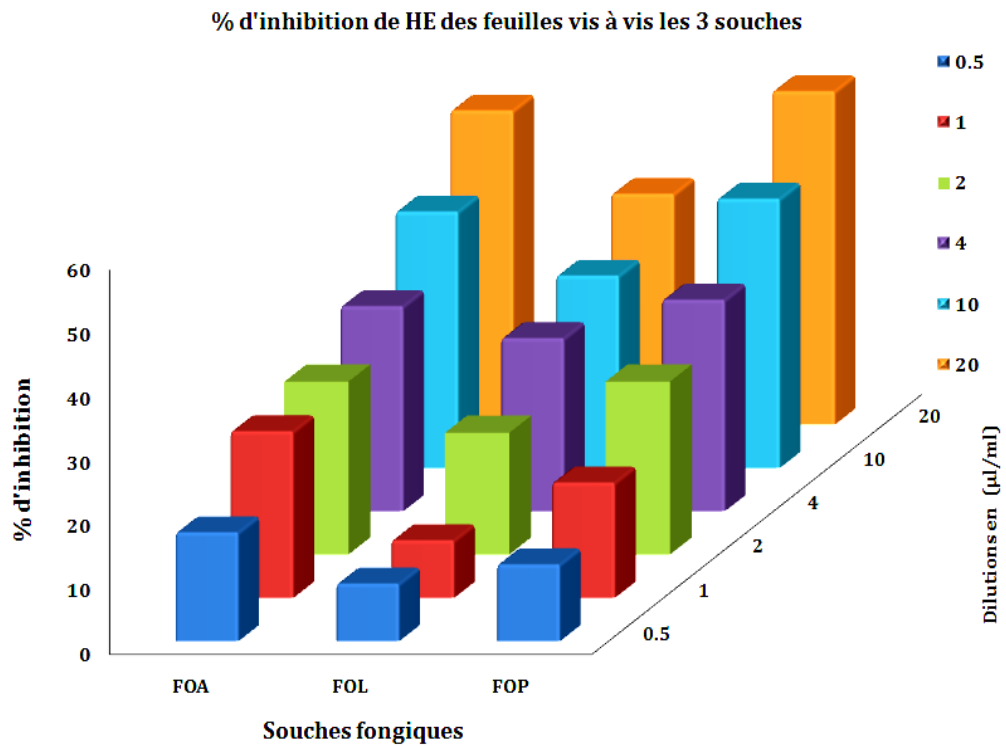


Figure 13 : Comparaison entre les taux d'inhibitions des huiles essentielles testées (feuilles) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées.

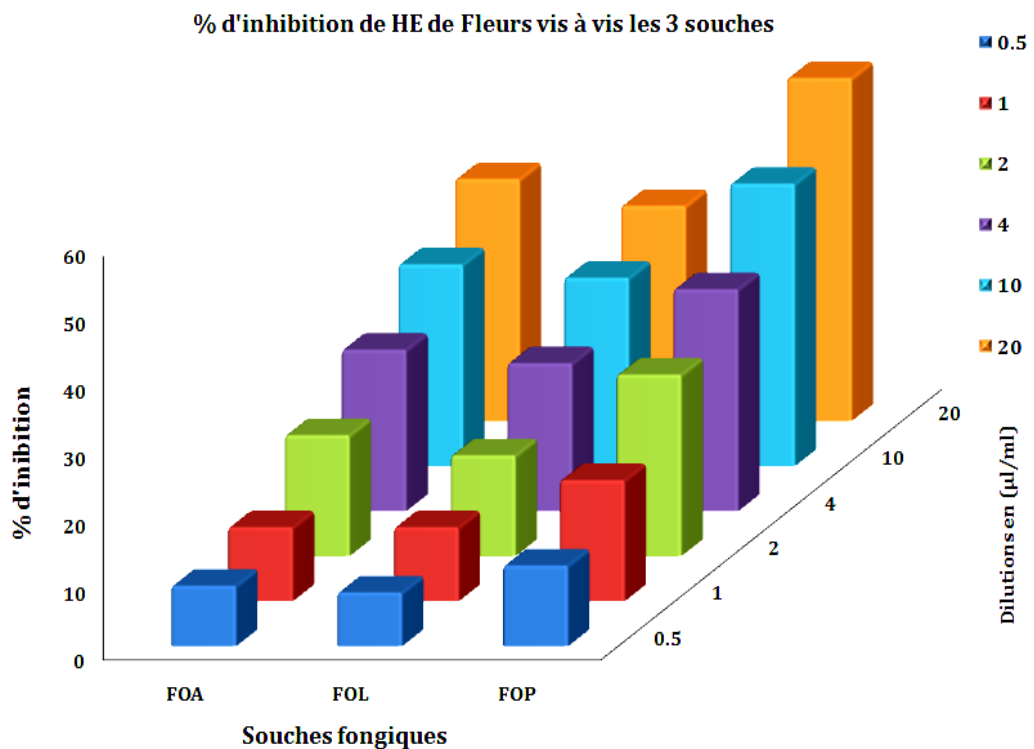


Figure14: Comparaison entre les taux d'inhibitions des huiles essentielles testées (fleurs) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées.

D'après l'histogramme de la (figue 14) nous avons constaté que l'activité d'huile essentielle extraite des fleurs du *Rhanterium* vis-à-vis l'*isolat2*, est plus importante que le *isolat 1*, au même temps ce dernier à une activité antifongique meilleur que celle du *isolat3*.

Toutes les concentrations testées de l'HE des fleurs (allant de 0,5µl/ml à 20µl/ml) ont donné des taux d'inhibitions supérieures à 50% et ceci vis-à-vis des trois souches fongiques étudiées. Contrairement à l'HE des feuilles, nous remarquons, que *isolat1* et *isolat3*, ont montré une certaine résistance manifestant des taux d'inhibitions faible : 34,50% et 27,78% respectivement à la concentration 0.5 µl/ml.

Grâce aux résultats obtenus, nous avons pu estimer les valeurs des IC₅₀ et des CMI pour les deux huiles essentielles (feuilles et fleurs) des souches fongiques étudiées. Les taux d'inhibitions des IC₅₀ et des CMI de ces deux HE sont indiqués dans la figure suivante :

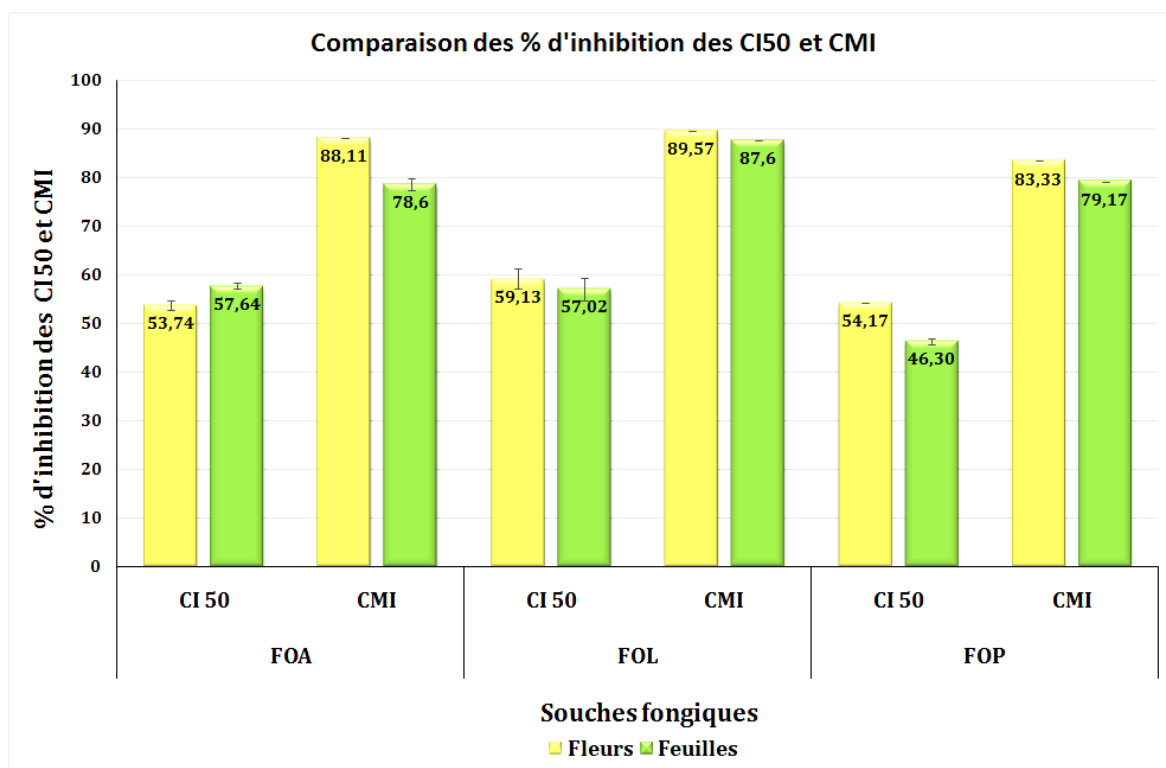


Figure 15: Taux d'inhibitions des IC₅₀ et des CMI des extraits vis-à-vis des trois souches testées.

Les deux extraits d'HE (feuilles et fleurs) ont présenté des CMI de 20 µl/ml sur l'ensemble des souches étudiées. L'IC₅₀ de l'HE des fleurs et des feuilles est comprise entre 0,5 et 2µl/ml.

la CMI de l'isolat3 varie légèrement entre les échantillons d'HE avec un pourcentage d'inhibition de 79,17% pour l'extrait des feuilles et 83,33% pour l'extrait des fleurs. En revanche la CMI est identique pour les deux extraits chez les deux espèces *isolat2,isolat1*

Les valeurs d'IC₅₀ et de CMI estimées, confirment que l'HE extraite des fleurs est plus efficace que celle des feuilles, car elle a donné les mêmes taux d'inhibitions avec l'HE des feuilles mais avec une concentration moindre.

Après avoir déterminé l'IC₅₀ et la CMI, nous avons procédé à la détermination de la CMF, nous avons repiqué les disques à partir des boites où il n'y avait pas de croissance mycélienne, sur des milieux de culture sans huiles essentielles.

Après incubation, la lecture se fait selon deux observations : s'il y a croissance normale du thalle mycélien, on parle d'un effet fongistatique, par contre s'il y a absence totale de croissance, l'effet des huiles est classé comme fongicide. La CMF estimée est d'une concentration supérieure à 20 µl/ml. Dans l'étude réalisée par El Houiti, sur l'effet des huiles essentielles du *Rhanterium* sur le *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, il a été noté une valeur de CMI meilleur que celle enregistrée au cour de notre étude.

En effet, d'après la comparaison des pourcentages d'inhibition d'huile essentielle sur les trois espèces nous remarquons qu'il y a une différence de résistance entre les espèces testée.

La forme spéciale *del'isolat2* apparaît comme la plus sensible vis-à-vis de l'HE des fleurs de *Rhanterium*, par contre le *isolat3* apparaît comme l'espèce la plus résistante.

Par contre, pour l'HE des feuilles le *isolat1* apparaît comme l'espèce la plus résistante et le *isolat2* apparaît comme l'espèce la plus sensible.

Bousoussa, 2011, rapporte que les extraits phénoliques riches en acétate d'éthyle et les extraits butanoliques de *Rhanterium* testées pour leurs activités antifongique sur la même souche présentent un effet faible et cela à des doses plus

fortes (12 mg/mL). Par contre nos résultats avec des extraits d'HE révèlent une activité antifongique très intéressante et ceci à des doses plus faibles.

Aouissi, 2011 a étudié l'effet des huiles essentielles de trois espèces végétales du genre *Artemisia* : *Artemisia absinthium*, *A. herba alba* et *A. campestris* sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*. Les résultats obtenus, montrent que le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* est sensible vis-à-vis de toutes les huiles essentielles étudiées. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration en huiles essentielles jusqu'à la disparition, presque complète, du thalle mycélien.

Les huiles essentielles des espèces du genre *Artemisia* exercent une action inhibitrice sur la croissance des champignons avec une concentration de 10 µl/ml d'huile essentielle, donc elles ont été à l'origine d'une inhibition d'une forme spéciale de l'espèce *Fusarium oxysporum*.

Bousnan, 2013 a également, testé l'effet inhibiteur de l'huile essentielle du *Mentha pulegium* L, collecté dans la région de Sétif (Algérie). L'évaluation du pouvoir antifongique de cet huile essentielle contre l'isolat de *Fusarium* testés a révélé une action inhibitrice. La valeur de la CMI déterminée, pour l'ensemble de ces résultats, est de 3,61 mg/ml, la CMF est de 9,03 mg/ml. Donc ces résultats confirment que les HE ont un pouvoir antifongique prometteur vis-à-vis des souches phytopathogènes tel que le *Fusarium*.

Amri *et al.*, 2013 a étudié l'effet des huiles essentielles des Aiguilles et cônes immatures de *Biota orientalis* L, sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Les essais de contact direct sur milieu PDA ont montré que les huiles essentielles de *Biota orientalis* exercent une action inhibitrice sur la croissance des champignons avec une concentration de 5 µl/ml d'huile essentielle, la croissance de tous les champignons a pu être réduite d'au moins 41 % jusqu'à 76 %. Après la comparaison de nos résultats avec celle de Amri, nous avons déduit que les HE de *Rhanterium* (parties : fleurs et feuilles) ont une efficacité importante que les HE de *Biota orientalis*.

En revanche, Barra *et al.*, (2007) ont, également, testé l'effet inhibiteur de l'huile essentielle du *Pistachier lentisque*, collecté dans une région de l'Italie, contre *Fusarium oxysporum*. Ces auteurs n'ont noté aucune activité inhibitrice contre ce champignon.

Nous pensons la différence entre leurs résultats et les nôtres reviendrait à l'échantillon, l'espèce végétale et les souches fongiques.

La différence de ces résultats avec les notre, pourrait s'expliquer par la différence de composés chimiques existant au niveau des extraits d'huiles essentielles comme l' α -Pinène, Linalool, Camphène connus par leurs capacités antifongiques.

Comme il a été considéré dans d'autres travaux (El Houiti, 2010 ; Sifi, 2010 ; Benabed, 2011 ; Maamri, 2011 et Aouissi, 2011), nous pensons, que l'effet antifongique observé, dans ces résultats serait dû essentiellement à la nature des composés constituant l'HE.

D'après ces résultats, il s'avère que la sensibilité des trois souches fongiques testées vis-à-vis de l'huile essentielle fleurs se présente dans l'ordre suivant : *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* >>> *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* >> *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*.

Et pour HE des feuilles : *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* >>> *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* >> *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*.

L'activité antifongique est sans doutes due à la nature des composés chimiques des huiles essentielles testées, n'oublions pas que l'activité antifongique d'une HE est intimement liée à sa composition chimique et à la nature de ses composés (phénol, alcool, aldéhyde...).

Ces auteurs soulignent aussi que d'autres facteurs peuvent influencer la variation de l'activité des huiles essentielles sur les souches fongiques, tels que la nature du milieu de culture et/ou de conservation ainsi que la nature du microorganisme (fraichement isolé, issu de repiquages successifs ou bien d'une collection conservée).

Ces variations dépendent aussi de la composition de l'huile essentielle en constituants volatils, de la quantité d'HE utilisée dans le test ainsi que de la concentration de l'inoculum fongique.

Vus la complexité de la composition chimique des huiles essentielles, il est difficile de donner une idée précise sur leurs modes d'action. Il est probable que chacun des constituants d'une huiles essentielle a son propre mécanisme (Ouraini et

al., 2005). Comme il a été montré dans des travaux ultérieurs, il est possible que l'effet antifongique des HE soit dû à des autres facteurs.

D'après les résultats de djekidel et chelali., 2014, l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rhanterium* a révélé un pouvoir antifongique important, ces auteurs ont testés l'activité antifongique des composés purs séparément, et sous forme d'un mélange avec celles des HE, ils ont affirmé que l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rhanterium* d'une manière générale est efficace en présence d'un mélange de composés, car ces derniers ont un meilleur effet quand ils travaillent en synergie.

Ils ont trouvés et confirmés que La proportion d'un composé dans une huile essentielle (majoritaire ou minoritaire), ne reflète pas forcément son activité, Le pouvoir antifongique d'une HE est dû aux groupements fonctionnels de ses composés et que Les alcools sont plus actifs que les hydrocarbures terpéniques.

Ces résultats montrent que l'activité antifongique de l'HE de *Rhanterium* est due à la synergie entre ses composés, parmi eux ceux étudiés.

Conclusion



L'Algérie est un pays vaste, ses ressources naturelles sont très importantes. La plante *Rantherium* (Arfadj) du sud Algérien est un exemple, dont la phytochimie est particulièrement intéressante.

Et comme la phytothérapie suscite un renouveau d'intérêt, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude ainsi que l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de la partie aérienne (fleurs et feuilles), le *Rhanterium* qui est une plante saharienne poussant à l'état spontané.

L'étude des propriétés chimiques et antifongiques des huiles essentielles de *Rhanterium* a permis d'obtenir des résultats intéressantes.

Le rendement d'extraction des huiles obtenu à partir des feuilles est supérieur à celui des fleurs. Les deux organes analysés présentent une composition chimique de leur huile essentielle similaire sur le plan qualitatif, mais différente sur le plan quantitatif.

Les résultats de la composition chimique de nos huiles essentielles par la méthode Chromatographie en phase gazeuse et l'identification des constituants, par la comparaison des indices de rétention obtenus avec ceux de la littérature indiquent : La teneur en huile essentielle du *Rhanterium* est comprise entre 0,11% (1,25ml/Kg) et 0,49% (5,75ml/Kg). L'identification des constituants chimiques des huiles essentielles des parties aériennes (feuilles et fleurs) de la plante étudiée, nous a permis d'identifier environs la moitié de leurs composés, dont les majoritaires : α -Pinène (8.99%), β -Pinène (10.18%) pour l'HE des feuilles et α -Pinène (8.10 %), Benzaldehyde (10.19%), β -Myrcène (9.91%) pour l'HE des fleurs.

Le pouvoir antifongique de l'huile essentielle montre que l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration des extraits, elle varie d'une espèce fongique à l'autre selon la physiologie de la souche testée.

Les résultats d'un suivi quotidien de la cinétique de la croissance mycélienne de trois souches de *Fusarium*, traitées avec les deux huiles essentielles de *Rhanterium* révèle une activité antifongique importante contre toutes ces souches, la valeur de leur IC₅₀ est comprise entre 0.5 et 2 μ l/ml et la CMI déterminée pour l'ensemble de ces souches est égale à 20 μ l /ml. Les valeurs de CMF sont estimés supérieurs à 20 μ l /ml.

En effet, d'après la comparaison des pourcentages d'inhibition d'huile essentielle sur les trois espèces nous avons conclu qu'il y a une différence de résistance entre les espèces testées vis-à-vis de l'HE.

L'isolat2 apparaît comme l'espèce la plus sensible vis-à-vis de l'HE des fleurs et des feuilles de *Rhanterium*, par contre le *isolat3* expose une résistance vis-à-vis de l'HE des fleurs et l'isolat1 semble l'espèce la plus résistante vis-à-vis de l'HE des fleurs.

Les huiles essentielles du *Rhanterium* sont des antifongiques naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique.

Enfin, l'effet inhibiteur de ces huiles essentielles sur le développement fongique ouvre des perspectives d'application dans différents domaines.

Références

bibliographiques

A

Adjou S., Soumanou M., 2013. Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *Journal of Applied Biosciences* 70:5555– 5566 and Buchbauer G. *Handbook of ESSENTIAL OILS: Science, Technology, and Applications*. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.

Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Gargouri S., Jamoussi B., 2013. Propriétés antifongiques des huiles essentielles de *Biota orientalis* L.

Amvam Zollo P.H., Biyiti L., Tchoumboungang F., Menut C., Lamaty G., Bouchet P., 1998. Aromatic Plants of Tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical Composition and Antifungal Activity of Thirteen Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon. *Flavour and fragrance journal* 13:107-114.

Aouadhi C., Ghazghazi H., Hasnaoui B., Maaroufi A., 2013. Comparaison de l'activité antifongique d'extraits méthanoliques de trois plantes collectées du nord-ouest de la Tunisie).

Aouissi H., 2011. Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de trois espèces végétales du genre *Artemisia* : *Artemisia absinthium*, *A. herba alba* et *A. campestris*. Université Amar Téliidji, Laghouat.

B

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils, *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446–475

Barra A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras P. et Angioni A., 2007. Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia Lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Agric. Food Chem.*, **55**, 7093–7098.

Baser K.H.C., Buchbauer G., 2010. handbook of essential oils: science, technology, and applications. ed. *taylor and francis group, llc*. united states of america. 994 p.

Belaïche T., Tantaoui A., Ibrahimy A., 1995. Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. *Sci Aliments*, **15**, 5718.152 P.

Belaïche P., 1979. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome1. *L'aromatogramme*. Maloine S.A. EDITEUR, Paris, 204 p.

Benabed K.H., 2011. Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des *Lamiaceae*. Université Amar Téliidji, Laghouat.

Benencia F., Courreges M.C., 1999. Antiviral activity of sandalwood oil against.

Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.

Bouamer A., Bellaghit M., Moulay O, 2005. Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région d'Ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla, p41.

Bouheroum M., Benayache S. F., Benayache L., Zaiter J., Barrera M., Francisco L., 2007. Terpenoids and triynepoxide from the aerial part of *Rhantherium adpressum*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43**, 110-111.

Boukhatem M. N., Hamaidi M.S., Saidi F., Hakim Y., 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie).

Bousbia N., 2013. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants _a partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires.

Bousnane M., 2013. Composition chimique, activités antifongique et antioxydante de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. Université Amar Téliidji, Laghouat.

Boussoussa H., 2011. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques des fleurs de *Rhantherium adpressum*. Université Amar Téliidji, Laghouat.

Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Medicinales*. Techniques et Documentation, 4^e édition, Lavoisier, Paris.

Buronzo A. M., 2008. Grand guide des huiles essentielles, Hachette pratique, 244 p

C

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), INRS-Institut Armand-Frappier. pp. 1-8.

Carée P., 1953. *Précis de technologie et de chimie industrielle*. T3. Edit. Ballière JB. et fils.

Chalali S., et Djekidel Z., 2014. Evaluation de l'activité des huiles essentielles et de quelques biomolécules vis-à-vis des champignons phytopathogènes. Université Amar Téliidji, Laghouat.

Chang E.H., Cheng S.S., Liu J.U., Chang S.T., 2008. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*, **99**, 5145-5149.

Chang S.T., Wang S.Y., Wu C.L., SU Y.C., Kuo Y.H., 1999. Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. *Holzforschung* , pp:53-487-490.

Chaumont J.P., D Leger.,1989. Propriétés antifongique de quelques phénols et des composés chimiquement très voisins. Relation structure-activité, *Plant Med.*

Phyto.23(2), 124-126.

Cohen D., 2013. Les huiles essentielles : à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né. Pharmaceutical sciences.

Collin G.J., Lord D., Allaire J., Gagnon D., 1991. Huiles essentielles et extraits 'micro-ondes'. *Parfums Cosmétiques Arômes*, 97, 105-112.

Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G., 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W.

D

Diabaté S., 2009. La fusariose du palmier à huile : diagnostic et prévention. Édition, Ed. De Boeck Université, 945p.

Dongmoa P., Kuateb J., Boyomc F. F., Ducelieb D., Damesseb F., Amvam Zolloa P. H., Menutd C., Bessiered J.M., 2001. Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*.

E

El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., Aberchane M., 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 12, 345-351.

EL amraoui B., COHEN N ., FASSOUANE A., 2013. Biocontrôle de la fusariose vasculaire du melon par des microorganismes marins.

EL-houiti F., 2010. Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*.

F

Fernandez D., Maurice I., Ouinten M., Tantaoui A., Jean-Paul G., 1995. Le bayoud du palmier dattier une maladie qui menace la phoeniciculture.

Florence M., 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite.

Franchomme P., Jollois R ., Péroël D.,1990. « L'aromathérapie exactement », France . pp 44-48.

G

Gilles F., 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivées issus de graines d'origine méditerranéenne.

H

Hamia C., Guergab A., Rennane N. ElH., Birache M., Haddad M., Saidi M., et Yousfi

M., 2014. Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*).

Hernandez O., 2005. substitutions de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif). Thèse de doctorat l'institut national polytechnique de toulouse France. Herpes simplex viruses-1 and -2. *Phytomedicine*, 6(2): 119-123. In Baser K.H.C.

Hibar K., Daami-Remadi M., El Mahjoub M., 2007. Induction of Resistance in Tomato Plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp.

Hüsnü Can Baser K., Buchbauer G., 2010. Handbook of essential oils science, technology, and applications. *CRC Press*, 994p.

Hüsnü Can Başer K., Fatih Demirci F., 2007. Chemistry of Essential Oils, p43-86. In *Flavours and fragrances: Chemistry, bioprocessing and sustainability*.

I

Ismaili R., Lamiri A., Moustaid K., 2014. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines.

K

Karkachi N., 2013. Evaluation de l'effet de triasoles vis-à-vis de *fusarium oxysporium* f.sp. *albedinis* .

L

Lahlou M., 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.* **18**, 435-448.

Lardy J.M., Haberkorn V., 2007. *l'aromathérapie et les huiles essentielle* . Revue de kinésithérapie 61,14-17.

Lis-Balchin M., 2002. Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London.p: 37, 40,50, 155-200.

M

Maamri, M., 2011. Étude de la composition chimique, de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus*. Université Amar Téliidji, Laghouat. 83 p.

Mohammedi Z., Atik F., 2011. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.

MÖller K., 2008 : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO.

Mongrain D., Couture L., 2000. comeau a. « Natural occurrence of *Fusarium*

graminearum on adult wheat midge and transmission to wheat spikes. ». *Cereal Research Communications*. Vol. 28, n°1/2, p. 173-180.

Mpondo E., Yinyang J., Dibong S.D., 2014. Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun).

O

Oubrahim A., 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien.

Ouraïni D., Agoumi A., Ismaïli-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Amrani M., Belabbas M.A., 2005. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, **4**, 147-157.

Ozenda P., 1991. Flore et Végétation du Sahara, Ed. CNRS Paris France.

P

Padrini F., Lucheroni M. T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies. Edition De Vecchi , Paris. Pages 11, 15, 61 et 111.

Peyron L., 1992 : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. *Cité In* : Les arômes alimentaires.Coordinateurs RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria.438 p.

Pibiri M.C., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, 177p.

Pibiri M.C., Seigniez C., 2001. "Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles et leurs effets sur le bien-être des occupants". *CISBAT 2001*, Lausanne, LESO, EPFL.

Porte A., Godoy R.L., Lopes D., Koketsu M., Goncalves S.L.,Torquillo H.S., 2000. Essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil. *J. Ess. Oil Res.*, Vol. 12, pp : 577 – 580.

R

Rakotoarimanga N., Zananirina J ., Ramamonjisoa D., Ramanankierana H., 2014. Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753)

pourri.

Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., 1993. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J Ess Oil Res* **5**, 179-184.

Remmal A., T-elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K., et Ettayibi M., 1993. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in Agar medium. *Essent. Oil Res*, **5**, 179-184.

Richard M., 2004. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux, 440 University Ave., Charlottetown (Î.-P.-É.) C1A 4N6.

S

Satrani B., El Ajjouri M., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., Aberchane M., 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **12**, 345-351.

Satrani B., farah A., fechtal M., talbi M., blaghen M., chaouch A., 2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Saturija alpina* du Maroc. *Ann. Fals. Exp. Chim*, **956**, 241-250.

Satrani B., Farah A., Fechtal M., Talbi M., Bouamrani M. L., 2015. Composition chimique et activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* (L.) du Maroc.

Schnitzler P., Schon K., Reichling J., 2001. Antiviral activity of Australian tea-tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, **56**, 343-347.

Siddiqui S. Z., Abbasi M. A., Raza A., Riyaz T., Shahzadi T., Aziz-ur-Rehmen., Jahanzir M., Shahwar D., Chaudhary A.R., Ahmad N., 2010. Investigation on the volatile constituents of *Juglans regia* and their in vitro antioxidant potential, *Proc. Pakistan Acad. Sci.* **47**(3): 137-141.

Skoog D.A., Holler F.J. et Nieman T.A., 2003. Principes d'analyse instrumentale.

Svoboda k.p., Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Departement, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland,

T

Tchoumboungang F., Dongmo P.M.J., Sameza M.L., Mbanjo E.G.N., Fotso G.B.T., Amvam Zollo P.H., 2008. Chantal Menut Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes

cultivées au Cameroun.

Tranchant J., 1995. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson.Paris.UK., KA6 5HW.

Triki M. A., Krichen W., Hammemi Mallouli I., Cheffi M., Aouissaoui H., Ikram J., Drira N., Hassaïri A., 2012. activite antifongique de l'extrait d'ail vis-a-vis de quelques champignons isoles d'oliviers en dépérissement.

V

Valnet M., 2005. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. Journal of Food Microbiology.85, p : 73-81.

Verdan C., 2002. Le monde magique du parfum. Une exposition proposée par le Comité Français du Parfum. *Parfum -L'expo*, 20p.

Y

Yaghmai M.S., Kolbadipour S., 1987. Volatile Components of *Rhanterium epapposum* Oh. *flavour and fragrance journal*, **2**, 29-32.

Z

Zhiri A., Baudoux D., 2005. *Huiles Essentielles Chémotypées Et Leurs Synergies.* Edition Inspir Development, 80 p.

Zhiri A., 2006. Sciences, Nutrition, Prévention et Santé. Nutra News. Directeur de la publication : Linus Freeman - Rédacteur en chef : Yolaine Carel, 16p.

Zirihi N., SoroS., KoneD., Kouadio Y.J., 2008. activité antifongique de l'extrait naturel de *combretum* sp *in vitro* sur 3 espèces fongiques telluriques des cultures de tomate en côte d'ivoire.

Annexes

Composition du milieu de culture

1. Potatoes dextrose Agar (PDA)

Infusion de pomme de terre -----	200 ml
Glucose -----	15 g
Agar-agar -----	20 g
Eau distillée -----	qsp 1L

2. Solution d'Agar 0,2%

Agar-agar -----	2 g
Eau distillée -----	qsp 1L