

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTÉ DES SCIENCES

قسم البيولوجيا  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*Réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THÈME

---

# Étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Mentha piperita*

---

Présenté par :

- HECHACHNA Afifa
- RAHMANI Fatiha
- TOUIHAR Chaima

Devant le jury composé de :

M. GUENANE Hamid	MCB (Université Amar Telidji, Laghouat)	Président
M. BOUBRIMA Youcef	MAA (Université Amar Telidji, Laghouat)	Examineur
M. OUINTEN Mohamed	Professeur (Université Amar Telidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme ELHOUITI Fatiha	MCB (Université Amar Telidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 14 / 10 / 2020

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTÉ DES SCIENCES

قسم البيولوجيا  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*Réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Biochimie Appliquée*

### THÈME

---

# Étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Mentha piperita*

---

Présenté par :

- HECHACHNA Afifa
- RAHMANI Fatiha
- TOUIHAR Chaima

Devant le jury composé de :

M. GUENANE Hamid	MCB (Université Amar Telidji, Laghouat)	Président
M. BOUBRIMA Youcef	MAA (Université Amar Telidji, Laghouat)	Examineur
M. OUINTEN Mohamed	Professeur (Université Amar Telidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme ELHOUITI Fatiha	MCB (Université Amar Telidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 14 / 10 / 2020

## Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita* et évalué l'effet antifongique des mélanges de deux huiles essentielles.

L'extraction des huiles essentielles (HE) des écorces fraîches du fruit du *Citrus aurantium* et des parties aériennes de *Mentha piperita* a été réalisée par Hydrodistillation. Nous avons obtenu des rendements respectivement :0,8% (v/m) et 2% (m/m). Le pouvoir antifongique de ces huiles a été étudié vis -à-vis de *Fusarium culmorum* BD17 par la méthode de contact direct, séparément et en mélanges, avec différentes concentrations d'HE (0,25, 0,5, 1, 2, 4 et 10  $\mu$  l/ml).

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Mentha piperita* possède une importante activité antifongique sur la souche testée. Cependant, l'huile essentielle de *Citrus aurantium* ne possède aucune activité inhibitrice ; même à forte concentration. Concernant les mélanges de deux HEs, les deux mélanges (50/50) et (30/70) révèlent un effet antifongique appréciable.

D'après ces résultats, les deux mélanges (50/50) et (30/70) présentent une activité presque identique à celle de *Mentha piperita* seule. Ainsi, il serait possible d'utiliser l'huile essentielle de *Citrus aurantium* comme support permettant de profiter pleinement de l'activité obtenue, vu le rendement élevé de l'extraction de cette huile.

**Les mots clés :** Huile essentielle, mélanges d'HE, *Citrus aurantium*, *Mentha piperita* activité antifongique, *Fusarium culmorum*BD17.

## Abstract

In this work, we studied the antifungal activity of *Citrus aurantium* and *Mentha piperita* oil essential, and evaluated the antifungal effect of their mixture.

The Extraction of OEs from the fresh peel of *Citrus aurantium* and aerial parts of *Mentha piperita* was carried out by Hydro-distillation. We have obtained the yield of 0.8 % (v/w) et 2% (w/w), respectively. The antifungal power of these oils alone and in mixture was studied against of *Fusarium culmorum* BD17 by the method of direct contact, with different concentrations of OE (0.25, 0.5, 1, 2, 4 et 10  $\mu$  l/ml).

The results obtained show that the essential oil of *Mentha piperita* has a significant antifungal activity on the strain tested. However, the essential oil of *Citrus aurantium* has not any inhibitory activity ; even at the high concentrations. Concerning the melange of two oil, the two melange (50/50) et (30/70) have appreciable antifungal effect.

According to the results obtained, the two mixture (50/50) and (30/70) have a same activity as the *Mentha piperita* alone. Thus, the essential oil of *Citrus aurantium* could be use as a solvent for profit the all activity obtained, For their high yield.

**Key word:** Essential oil, mixture of EO, *Citrus aurantium*, *Mentha piperita*, antifungal activity, *Fusarium culmorum*BD17.

## الملخص

في هذا العمل قمنا بدراسة النشاط المضاد للفطريات للزيوت العطرية للبرتقال المر والنعناع الفلفلي. وتقييم التأثير المضاد للفطريات للمزج بينهما.

تم استخلاص الزيوت الأساسية لقشور البرتقال المر الطازج والأجزاء العلوية للنعناع الفلفلي عن طريق تقنية التقطير المائي. حيث تحصلنا على مردودية 0.8% (ح/ك) و 2% (ك/ك) على التوالي.

تمت دراسة القوة المضادة للفطريات لهذين الزيتين ضد *Fusarium culmorum* BD1 بشكل منفصل ومن خلال المزج بينهما عن طريق تقنية الاتصال المباشر بتركيز مختلفة من الزيت (0.25، 0.5، 1، 2، 4، 10 ميكرو لتر/مل) .

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن زيت النعناع الفلفلي له نشاط قوي مضاد للفطر *Fusarium culmorum* BD1. بينما الزيت الأساسي للبرتقال المر لا يمتلك اي نشاط مثبت حتى في التراكيز العالية. وبالنسبة للمزيجين 50/50 و 30/70 فلديها تأثير مهم.

من خلال هذه النتائج، بما ان المزيجين 50/50 و 30/70 لديهما نشاط مضاد للفطر *Fusarium culmorum* BD1 مشابه تقريبا لنشاط زيت النعناع الفلفلي. وبالتالي فإنه يمكن استعمال الزيت الأساسي للبرتقال المر كداعم. مما يسمح بالاستغلال الكلي للنشاط المتحصل عليه نظرا لمردوده المرتفع.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري، مزيج الزيت، العطري البرتقال، المر النعناع الفلفلي، النشاط

المضاد للفطريات، *Fusarium culmorum* BD17.

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail à :*

*Mes très chers **parents**, pour leurs sacrifices, leur soutien et leurs encouragements toute au long de ma vie, afin de me voir réussir.*

***Que Dieu leur procure une bonne santé et une longue vie.***

*À mon grand-père paternel, El Hadj **Mohamed**. Que Dieu le garde.*

*À mon précieux et unique frère **Mohamed Adhem** à qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

*À mes chères sœurs : **Fatima, Mebarka, Rokia, Daouia, frayha** et **Hiba**, pour leur soutien infini et leur aide incessante tout au long de mon parcours. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.*

*À mes chères petits neveux : **Seif Al-Islam, Tarek, Ziad** et ma précieuse nièce **Riham**.*

*A toutes les personnes qui ont été toujours à mes côtés, pour me soutenir et m'aider à réaliser cette recherche.*

*Chaleureusement, je dédie ce travail à mes camarades de trinôme, **chaima** et **Fatiha**, avec qui j'ai passé des moments inoubliables ainsi qu'à leurs familles.*

***Afifa***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail à :*

*L'esprit pur de mon père*

*Ma mère, que Dieu la protège*

*Toute ma famille RAHMANI*

*Toutes mes amies et mon trinôme de ce travail CHAIMA et AFIFA*

*Ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.  
Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du  
secondaire, ou de l'enseignement supérieur.*

***FATIHA***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail :*

*À ma mère **Kheira**, pour son amour, son énergie qu'elle a dépensée et tous les sacrifices qu'elle a faits pour me voir réussir.*

*À mon père, **Tahar**, pour son amour, son soutien permanent, ses encouragements, et tous les sacrifices tout au long de mes études.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Que dieu de protège, je vous aime. en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*À mes très chères sœurs : **Imane, Soundous et Nour el yakine***

*À mon très cher frère : **Khaled***

*Ils sont la source de mon bonheur et de ma force. Que dieu les protège, Je leur souhaite tous du bonheur, de la santé, et du réussite.*

*À ma chère famille : À ma grand-mère, mes oncles et mes tantes et tous les membres de la famille TOUIHAR et BELHMARI.*

*À mon trinôme dans ce travail : **Fatiha et Afifa***

*À mes chères amies : **Mebarka, nadjoua, Dehiba, ahlam, Hanane et Nour el houda,***

*Je vous dédie ce travail en hommage à tous les moments agréables et merveilleux souvenirs.*

*À tous ceux que j'aime....*

*À tous ceux que j'ai omis de citer et qui n'en sont pas des moindres.*

***Chaima***

## **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Allah tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté et la patience à achever ce travail.*

*À nos très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leur tendresse, leur soutien et leurs prières, tout au long de nos études.*

*Il ne nous serait pas possible de présenter ce mémoire sans témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur*

*Pr. MOHAMED OUINTEN pour son aide scientifique et ses conseils judicieux.*

*Nous remercions également notre co-encadreur*

*Mme EL-HOUITI FATIHA*

*d'avoir dirigé ce travail ; nous la remercions*

*infiniment pour sa disponibilité permanente, ses orientations et ses conseils tout au long de cette recherche.*

*On exprime nos sincères remerciements à Mr. Gourine, responsables et ingénieures des laboratoires du Département de Biologie d'avoir mis à mon entière disposition le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail et L'équipe de laboratoire des sciences Fondamentales à l'Université AMMAR*

*THELIDJI de Laghouat*

*Nos remerciements s'adressent aux membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordé en acceptant de juger notre travail.*

*Merci à tous ceux et celles qui nous ont aidées et qui ne sont pas cités ci-dessus.*

## *Table des matières*

<b>Liste des abréviations.....</b>	<b>i</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>ii</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>iii</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>2</b>
<b>I. Etude bibliographique .....</b>	<b>5</b>
I.1 Les plantes aromatiques : .....	5
I.2 Les huiles essentielles : .....	6
I.2.1 Historiques : .....	6
I.2.2 Définition :.....	6
I.2.3 Répartition et localisation : .....	7
I.2.4 Propriétés physicochimiques des huiles essentielles :.....	8
I.2.5 Conservation des huiles essentielles :.....	9
I.2.6 Méthodes d'obtention des huiles essentielles : .....	9
I.2.6.1 L'hydrodistillation :.....	9
I.2.6.2 Entraînement à la vapeur :.....	10
I.2.6.3 Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide :.....	11
I.2.6.4 Hydrodiffusion :.....	12
I.2.6.5 Expression à froid : .....	13
I.2.7 Compositions chimiques des huiles essentielles :.....	13
I.2.7.1 Les terpènes : .....	13
I.2.7.2 Les composés aromatiques : .....	15
I.2.7.3 Autres composés d'origine diverses :.....	16
I.3 L'activité biologique des huiles essentielles :.....	16
I.4 Fusariose des céréales :.....	18
<b>II. Matériels et Méthodes.....</b>	<b>21</b>
II.1 Matériel biologique.....	21
II.1.1 Matériel végétal .....	21
II.1.1.1 Description botanique des plantes étudiées :.....	21
II.1.1.2 Les caractéristiques systématiques des plantes étudiées :.....	23
II.1.1.3 la Région et période de récolte de plante :.....	23
II.1.2 Matériel fongique.....	24
II.2 Les méthodes expérimentales : .....	25
II.2.1 L'extraction des huiles essentielles : .....	25

II.2.2	Calcul de rendement .....	26
II.2.3	L'analyse et l'identification de la Composition chimique des huiles essentielles :..	26
II.2.4	Évaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle :.....	28
II.2.4.1	Préparation du milieu de culture : .....	28
II.2.4.2	Préparation de la Pré-culture de la souche fongique : .....	28
II.2.4.3	Détermination l'activité antifongique par la méthode de contact direct :.....	28
<b>III.</b>	<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>35</b>
III.1	Le Rendement et la durée d'extraction des huiles essentielles : .....	35
III.2	Compositions chimiques d'huile essentielle : .....	37
III.3	Les résultats de l'activité antifongique .....	41
III.3.1	La cinétique de la croissance mycélienne : .....	41
III.3.1.1	L'huile essentielle de Citrus aurantium : .....	41
III.3.1.2	L'huile essentielle de Mentha piperita : .....	42
III.3.1.3	Les combinaisons de mélanges des deux huiles essentielles.....	44
III.4	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne : .....	48
	<b>Conclusion.....</b>	<b>55</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>58</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>72</b>

## *Liste des abréviations*

**I (%)** : Pourcentage d'inhibition de la croissance de mycélium

**AFNOR** : Association française de normalisation

**CMF** : Concentration minimale fongicide

**CMI** : Concentrations minimales inhibitrices

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**D** : Diamètre de la culture d champignon dans un milieu en présence de l'huile.

**Dk** : Diamètre de la culture de champignons (en mm) dans un milieu sans huile (témoin)

**FID** : Détecteur à ionisation de flamme

**FAO** : Organisation mondiale de l'Alimentation et de l'agriculture

**HE** : Huile essentielle

**IRL** : Indice de Rétention Linéaire

**mHE** : Masse d'huile essentielle obtenue

**mMV** : Masse de matière végétale sèche

**MVF** : Masse de matériel végétal frais.

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**RHE (%)** : Rendement des huiles essentielles

**SFME** : Solvent Free Microwave Extraction

**V** : Volume

**VHE** : volume d'huile essentielle obtenue après l'extraction en (ml).

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Classification systématique des plantes étudiées : .....	23
<b>Tableau 2:</b> classification de <i>Fusarium culmorum</i> (Schem et al., 2013) : .....	24
<b>Tableau 3:</b> la présentation de la souche testée son code et son origine : .....	25
<b>Tableau 4:</b> les volumes des dilutions des huiles essentielles : .....	29
<b>Tableau 5:</b> le rendement et la durée d'extraction de l'huile essentielle de <i>Citrus aurantium</i> : .....	35
<b>Tableau 6:</b> rendement d'extraction d'HE des échantillons de <i>Mentha piperita</i> récoltés dans la région d'El Hadjeb (Laghouat) : .....	36

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> quelque exemple des plantes aromatiques (Abadlia et chebbour, 2014).....	5
<b>Figure 2:</b> exemples (Cellule sécrétrice, Poches schizogènes),(Deschepper, 2017).....	8
<b>Figure 3:</b> Appareillage d'extraction de type Clevenger (Boucekrit, 2018).....	10
<b>Figure 4:</b> Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Elhaïb,2011) .....	11
<b>Figure 5:</b> Appareillage de l'hydrodistillation par micro-ondes (Bouain, 2017).....	12
<b>Figure 6:</b> Schéma explicatif d'hydrodiffusion(Lucchesi, 2005) .....	12
<b>Figure 7:</b> Expression à froid des agrumes (Meflah, 2015).....	13
<b>Figure 8:</b> structure chimique de quelques monoterpènes .....	14
<b>Figure 9:</b> structure chimique de quelques sesquiterpènes .....	15
<b>Figure 10:</b> structure chimique de quelques composés aromatiques .....	16
<b>Figure 11:</b> symptômes de la fusariose sur les céréales (Nicolas, 2012).....	19
<b>Figure 12:</b> Photos de citrus aurantium (Meziani et Saidone, 2017) .....	21
<b>Figure 13:</b> présentation de Mentha piperita (Bereksi et Reguig, 2016) .....	22
<b>Figure 14:</b> carte géographique indiquant la station de collecte de la plante.....	23
<b>Figure 15:</b> Culture, de Fusarium culmorum, de 7 jours sur milieu PDA, à 25°C .....	24
<b>Figure 16:</b> Montage de l'hydrodistillation (Batterie de trois appareils de type Clevenger).....	25
<b>Figure 17:</b> Schéma présentatif du principe d'un système CPG (Budzinski et Mazellier, 2013).....	27
<b>Figure 18:</b> Illustration du protocole de dilution .....	30
<b>Figure 19:</b> L'écoulement de milieu de culture et des extraits des huiles essentielles .....	31
<b>Figure 20:</b> l'ensemencement de Fusarium culmorum BD17 dans le milieu PDA .....	32
<b>Figure 21:</b> Illustration de la méthode de contact direct.....	33
<b>Figure 22:</b> Répartition, en pourcentage, des composés majoritaires de l'huile essentielle de .....	38
<b>Figure 23:</b> Répartition en pourcents des composés majoritaires de l'huile essentielle de .....	40
<b>Figure 24:</b> La cinétique de la croissance mycélienne de Fusarium culmorum, en présence de différentes concentrations de l'extrait de Citrus aurantium .....	41
<b>Figure 25:</b> La cinétique de la croissance mycélienne de Fusarium culmorum B17, en présence de différentes concentrations de l'extrait de Mentha piperita .....	42
<b>Figure 26:</b> L'effet de l'huile essentielle de Citrus aurantium sur la croissance mycélienne de Fusarium culmorum B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation .....	43
<b>Figure 27:</b> L'effet de l'huile essentielle de Mentha piperita sur la croissance mycélienne de Fusarium culmorum B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation .....	43
<b>Figure 28:</b> La cinétique de la croissance mycélienne de Fusarium culmorum B17, en présence de différentes concentrations du mélange des HE de Mentha piperita et de Citrus aurantium (50%/50%).....	44

<b>Figure 29:</b> La cinétique de la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> B17, en présence de différentes concentrations du mélange des huiles essentielles de <i>Citrus aurantium</i> et <i>Mentha piperita</i> (75%/25%) .....	45
<b>Figure 30:</b> La cinétique de la croissance mycélienne dès la souche de <i>Fusarium culmorum</i> B17, en présence de différentes concentrations de l'extrait du mélange des huiles essentielles de <i>Mentha piperita</i> et de <i>Citrus aurantium</i> (70%/30%).....	46
<b>Figure 31:</b> L'effet du mélange des huiles essentielle de <i>Mentha piperita</i> et de <i>Citrus aurantium</i> (50/50) sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> B17, à différentes, après 6 jours d'incubation.....	47
<b>Figure 32:</b> L'effet de l'extrait du mélange des huiles essentielles de <i>Citrus aurantium</i> et de <i>Mentha piperita</i> (75/25), sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> B17, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation. ....	47
<b>Figure 33:</b> L'effet de différentes concentrations du mélange d'huiles essentielles de <i>Mentha piperita</i> et <i>Citrus aurantium</i> (70/30), sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation.....	48
<b>Figure 34:</b> Les taux d'inhibition de la croissance de la souche fongique étudiée, à différentes concentrations des deux huiles essentielles de <i>Citrus aurantium</i> et de <i>Mentha piperita</i> .....	49
<b>Figure 35:</b> Les taux d'inhibition de la croissance fongique de la souche fongique étudiée, à de différentes concentrations du mélange des deux huiles essentielles de <i>Citrus aurantium</i> et de <i>Mentha piperita</i> .....	50

# *Introduction*

## Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples indique que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition, des parfums et dans les préparations culinaires (**Bouzouita et al., 2008**). Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger des insectes, des maladies ou d'attaques extérieures (**Mayer, 2012**). Ces dernières connus sous le nom des métabolites secondaires. De nos jours, les plantes aromatiques et médicinales considérées comme source de molécules bioactives très demandées dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, en cosmétique et en parfumerie (**Ouarghidi et Abbad, 2020**). Parmi lesquelles les huiles essentielles.

La production agricole mondiale est menacée par plusieurs maladies. Certaine ces maladies phytopathogènes sont d'origine fongique. Parmi celle-ci, et l'une des plus dommageables, est la fusariose des céréales (maïs, blé, orge, avoine...etc.). Elle provoque des nécroses sur les différentes parties végétatives de la plante affectée ; ce qui engendre des pertes importantes, de qualité et de rendement, et peut conduire à la perte de toute la culture (**Pirgozliev et al., 2003 ; Boutigny, 2007**).

La lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques peut constituer une alternative aux produits chimiques (**Laib, 2012**) Au cours de ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour l'utilisation de substances naturelles en raison de leur disponibilité, moins d'effets secondaires ou de toxicité ainsi qu'une meilleure biodégradabilité, comparées aux produits chimiques (**Elhouiti, 2018**).

Les huiles essentielles possèdent plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, antioxydant...etc. Partant, l'étude de ces activités devient plus en plus importante dans ces dernières années afin de recherche des méthodes alternatives naturelles. Nombreuses études montrent la capacité antifongique des huiles essentielles de plusieurs famille botanique vis- à- vis de nombreux champignons phytopathogènes.

Dans ce contexte, notre travail est réalisé pour étudier l'activité antifongiques des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*, séparément et d'évaluer l'effet

de leur mélange, contre *Fusarium culmorum* BD17, l'un des principaux agents de la fusariose chez les céréales.

Pour ce faire cette étude, nous organisé notre travail en de trois grands chapitres :

**Chapitre I** : consiste à exploiter une synthèse biobibliographique sur les huiles essentielles et simple présentation de fusariose chez les céréales.

**Chapitre II** : une description des plantes et de souche étudiée et présentation détaillée de matériels et méthodes expérimentales utilisée pour évaluer l'activité antifongiques des extraits des huiles essentielles.

**Chapitre III** : est consacrée à la présentation des résultats obtenus et discussion.

En fin notre travail est clôturé par une conclusion, suivis de perspective de recherche.

# *Étude bibliographique*

## I. Etude bibliographique

### I.1. Les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont, par définition, des plantes dont les tissus sécrètent suffisamment d'essence pour que celle-ci puisse être extraite et distillée. Elles contiennent les molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de ses organes producteurs : les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce ou les racines. Toute plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais ne contient pas d'huile essentielle (**Bouacha et al., 2017**). Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante, dont les propriétés dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Mailhebiau, 1994**).

L'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**Bouzouita et al., 2008**). L'aromathérapie est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Ce mot vient du latin « *aroma* » signifiant odeur et du grec « *therapeia* » signifiant traitement. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odorifères (**Mayer, 2012**).



**Figure 1:** quelque exemple des plantes aromatiques (**Abadlia et chebbour, 2014**)

## I.2. Les huiles essentielles

### I.2.1. Historiques

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses 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, rites religion, coutumes, alimentation, etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec la civilisation musulmane, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique perse, a défini, avec précision, le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice ATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et 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**).

### I.2.2. Définition

Plusieurs définitions des huiles essentielles sont disponibles : Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (**Cseke et Kaufman, 1999 in Bouacha et al., 2017**).

Les huiles essentielles sont définies comme étant des liquides concentrés, très complexes et hydrophobes. Ce sont des extraits volatils et odorants qu'on obtient par extraction mécanique ; distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec, de plantes aromatiques (fleur, feuille, bois, racines, Écorce ou fruit).

Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Bouhadouda, 2016**).

Selon la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon l'association française de normalisation (AFNOR NF T-75-006), l'huile essentielle est définie comme étant : « 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 des *Citrus*, soit par distillation « sèche », elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**Abadlia et chebbour, 2014**).

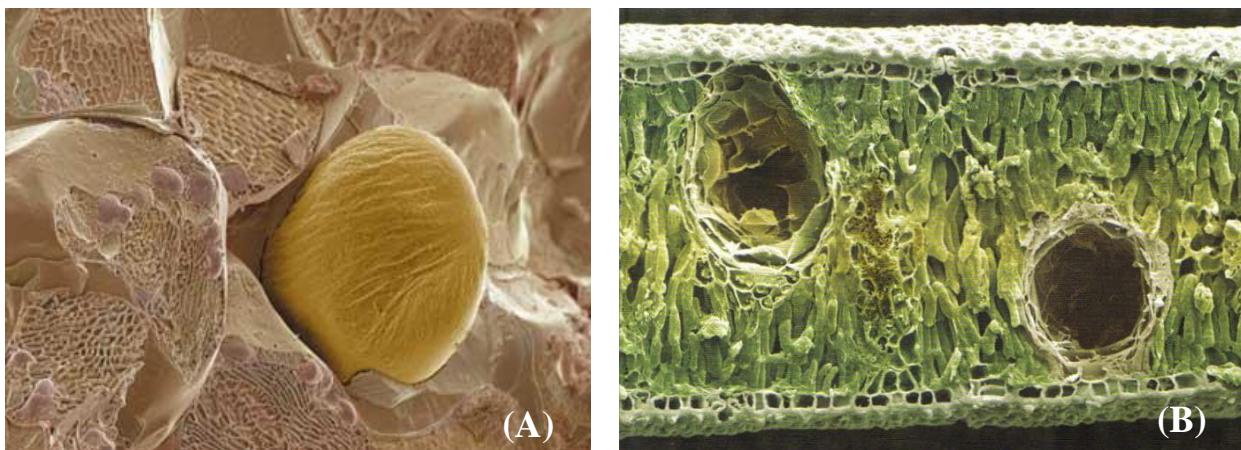
### **I.2.3. Répartition et localisation**

Les huiles essentielles sont généralement répandues chez les végétaux supérieurs. (**Guignard, 2000**). Elles sont produites par des cellules végétales spécialisées et peuvent être stockées dans tous les organes végétaux :

- les **feuilles** : eucalyptus, citronnelle, laurier noble... ;
- les **fleurs** : camomille, lavande... ;
- les **zestes** : citron, orange, bergamote... ;
- le **bois** : bois de rose, santal... ;
- l'**écorce** : cannelle... ;
- la **racine** : vétiver... ;
- les **fruits** : anis, badiane... ;
- les **rhizomes** : curcuma, gingembre... ;
- les **graines** : muscade...

La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On retrouve par exemple :

- les **cellules à huiles essentielles** : chez les *Lauracées* et les *Zingibéracées* ;
- les **poils sécréteurs** : chez les *Lamiacées* ;
- les **poches sécrétrices** : chez les *Myrtacées* et les *Rutacées* ;
- les **canaux sécréteurs** : chez les *Apiacées* et les *Astéracées* (**Fabre, 2017**).



**Figure 2:** exemples

**A :** Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre au microscope électronique à balayage (image colorisée, x813)

**B :** Poches schizogènes d'une feuille d'eucalyptus citronné, vues en microscopie électronique à balayage (image colorisée, x204) . (**Deschepper, 2017**)

#### I.2.4. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bernard et al., 1988**).

Ses principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante rarement colorées ;
- Volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes » ;
- Leur point d'ébullition varie de 160 °C à 240 °C ;
- Leur densité est inférieure à celle de l'eau (les HE de saffran de girofle ou de cannelle constituent des exceptions ;
- Solubles dans les solvants organiques et sont liposolubles mais peu solubles dans l'eau ;
- Entraînables à la vapeur d'eau, solubles partiellement dans l'eau (on parle d'eau aromatique) (**Bouaine, 2017**).
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement des composés asymétriques ;

- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**LAIB, 2011**).

### **I.2.5. Conservation des huiles essentielles**

La plupart des molécules constitutives des huiles essentielles sont insaturées, ce qui les rend instables et sensibles à l'altération. Selon les conditions de conservation. Les essences naturelles peuvent être sujettes à des réactions secondaires telles que : le réarrangement moléculaire, la polymérisation, l'oxydation, la fermentation, l'hydrolyse, etc. Les huiles essentielles pures, se conservent officiellement 5 ans et c'est ce qui est d'ailleurs le plus souvent inscrit sur la boîte. Il est possible de limiter ces dégradations en prenant certaines précautions.

- ❖ L'utilisation des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche.
- ❖ Le stockage à basse température.
- ❖ La conservation sous atmosphère d'azote (**Bruneton, 1993**).

### **I.2.6. Méthodes d'obtention des huiles essentielles**

#### **I.2.6.1. L'hydrodistillation**

Il s'agit la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'est placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentiel se séparer de l'hydrolat par simple différences de densité. L'huile essentielle tant plus légère que l'eau (sauf quelque exception), elle surnage au-dessus de l'hydrolat (**Abadlia et Chebkeur, 2014**).

L'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Hellel, 2011**).

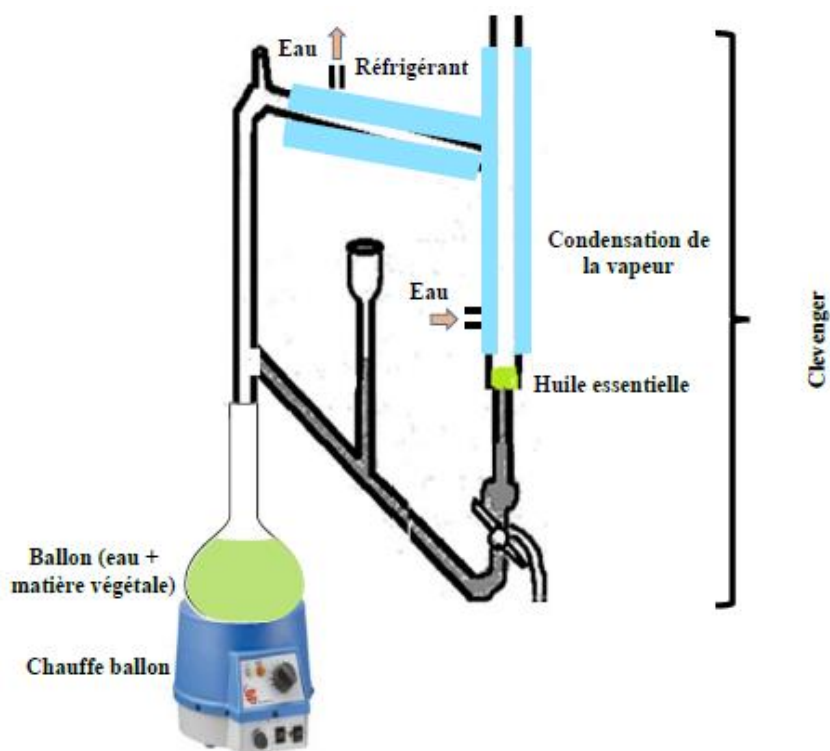
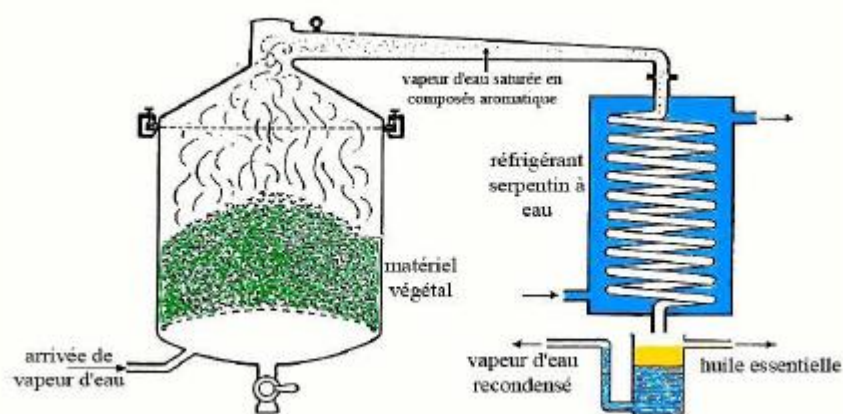


Figure 3: Appareillage d'extraction de type Clevenger (Boucekrit, 2018)

### I.2.6.2. Entraînement à la vapeur

À la différence de l'hydro-distillation, cette technique, ne met pas en contact directe l'eau et la matière végétale à traiter ; durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». La vapeur d'eau, qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle, se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant, à la sortie de ce dernier, le mélange est récupéré et ensuite séparé (Meghazi, 2012). Cette méthode apporte une amélioration de la qualité d'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Ouis, 2015).



**Figure 4:** Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Elhaib,2011)

### I.2.6.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide

Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal.

Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. D'un point de vue qualitatif et quantitatif le procédé SFME semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur. Cette technique présente donc beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées. (Lucchesi *et al.*, 2004a ; Lucchesi *et al.*, 2004b).

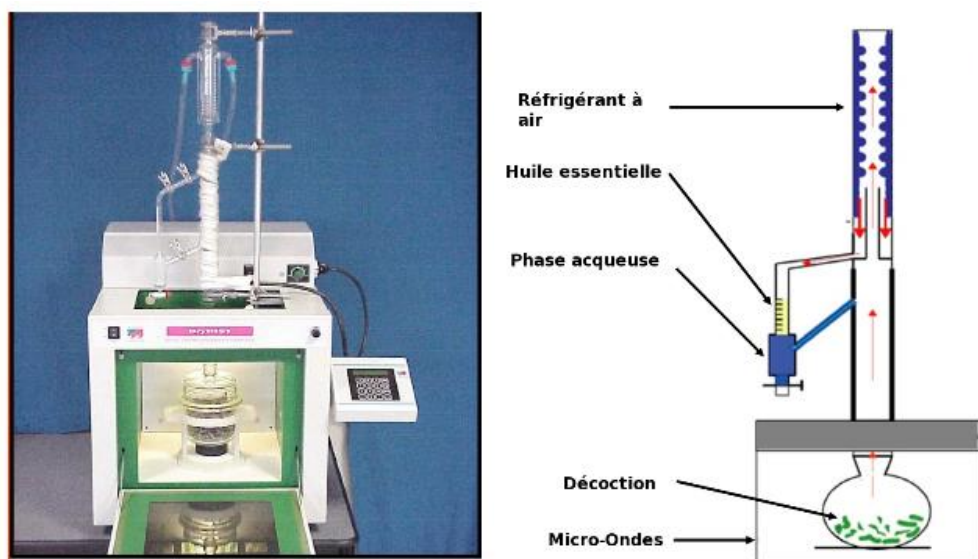


Figure 5: Appareillage de l'hydrodistillation par micro-ondes (Bouain, 2017)

#### I.2.6.4. Hydrodiffusion

L'Hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils (Hellel, 2011).



Figure 6: Schéma explicatif d'hydrodiffusion (Lucchesi, 2005)

### I.2.6.5. Expression à froid

C'est le procédé le plus ancien et le plus simple pour obtenir une HE. Cependant, il reste limité car il ne s'applique qu'aux agrumes dont le péricarpe des fruits possède des poches sécrétrices d'essences. Cette technique, née en Sicile et en Calabre, est uniquement mécanique et consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais afin de détruire les poches sécrétrices d'essences et donc de libérer l'essence qu'elles contiennent. L'expression à froid permet de limiter l'oxydation en conservant les antioxydants naturels présents dans la fraction non volatile de l'essence. Le produit final obtenu est appelé essence car il n'a subi aucune modification chimique lors de son procédé d'extraction (Attou, 2017).

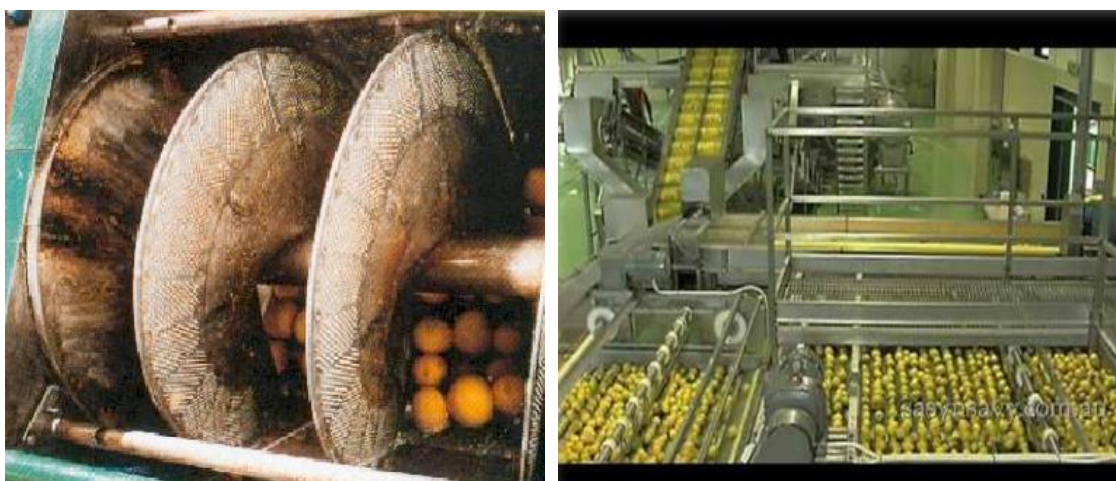


Figure 7: Expression à froid des agrumes (Meflah, 2015)

### I.2.7. Compositions chimiques des huiles essentielles

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature de sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les huiles essentielles sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés terpéniques, aromatiques et composés d'origine divers (Guignard, 2000).

#### I.2.7.1. 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 5 atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>).

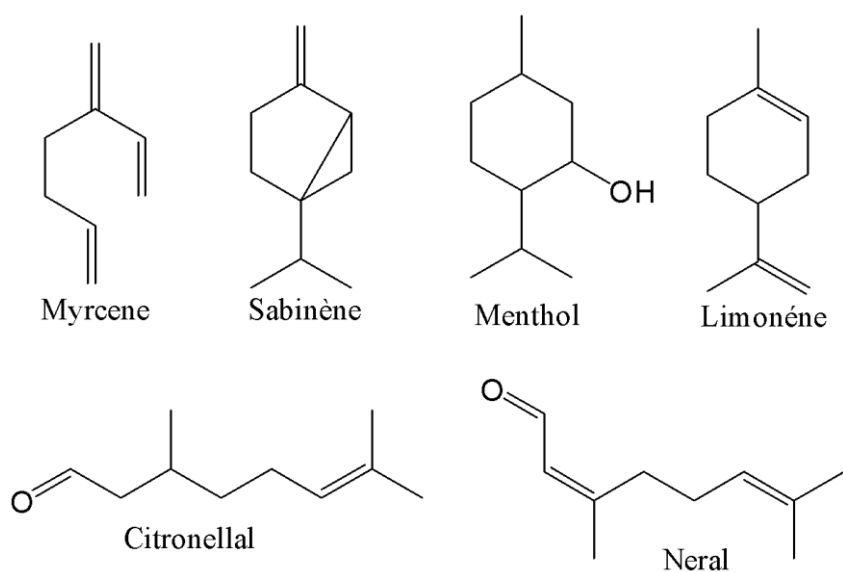
Ils sont subdivisés selon le nombre des unités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>), les diterpènes, formés de quatre isoprènes (C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>). Les tetraterpènes sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.

Les polyterpènes ont pour formule générale : (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> ou n peut être de 9 à 30. Les terpénoïdes sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide) (Bakkali *et al.*, 2008).

### ✓ Les monoterpènes

Sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des H.E, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acyclique (Myrcène, O-cymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, Sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique :

- **Alcools** : géraniol, menthol.
- **Aldéhydes** : gèranial, citronellal, sinsenal.
- **Cétones** : carvone, menthone, β-vétinone.
- **Esters** : acétate de gèranyle, acétate de linalyl, acétate de cèdryle, acétate α-terpinyle
- **Peroxydes** : ascaridol, allicine (Bruneton, 2008).



**Figure 8:** structure chimique de quelques monoterpènes

### ✓ Les sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple :  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -bisabolène,  $\alpha$ -humulène,  $\alpha$ -bisabolol, farnésol. (Bruneton, 1999).

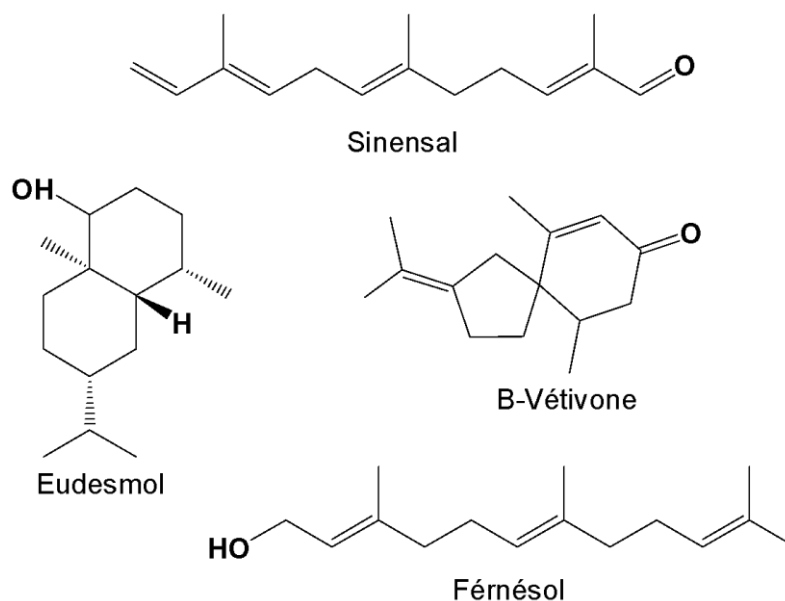


Figure 9: structure chimique de quelques sesquiterpènes

#### I.2.7.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les HEs des *Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic) (Piochon, 2008).

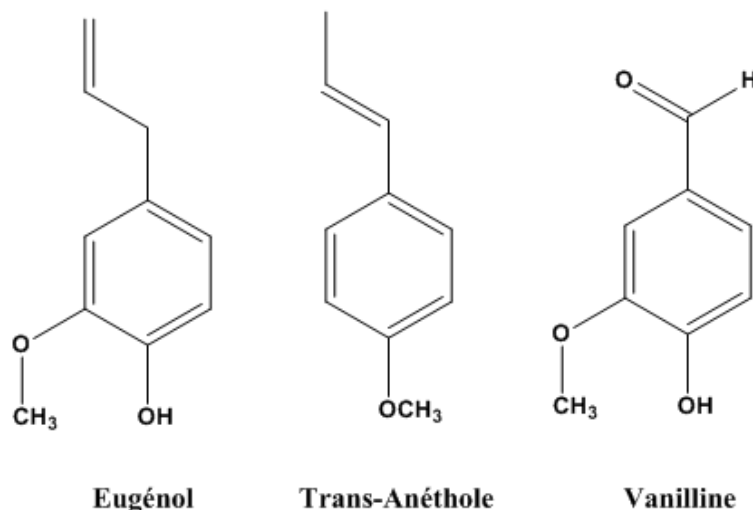


Figure 10: structure chimique de quelques composés aromatiques

### I.2.7.3. Autres composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation des molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique en 3-cis hexanol, decanal,  $\beta$ -ionone (Piochon, 2008). On peut rencontrer les composés azotés et soufrés mais ils sont souvent rares. Ces composés contribuent, souvent aux arômes des fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en contenir. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'elles peuvent être entraînées par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).

## I.3. L'activité biologique des huiles essentielles

### ✚ Activité antibactérienne

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique (Buronzo, 2008). Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (Attou, 2011).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire **(Burt, 2004)**. Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénoles (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol). **(Satrani et al., 2007 ; Amarti et al., 2010)**.

#### **Activité antifongique**

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'ils inhibent la croissance des moisissures et des levures. Leur activité est principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent en empêchant la multiplication du champignon, la sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycelium **(Bozin et al., 2006)**.

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

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures **(El Houiti, 2018)**.

#### **Activités antiparasitaires**

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles Antiparasitaires **(Benayad, 2008)**.

#### **Activités antiseptiques**

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* **(Benayad, 2008)**.

### **Activité antioxydant**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**). Les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (**Madhavi et al., 1996**).

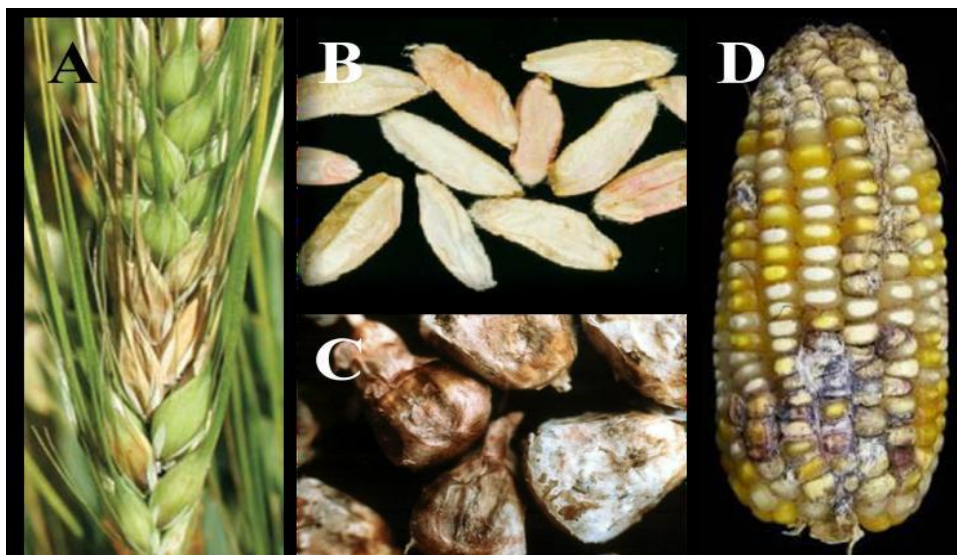
Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribue à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**).

#### **I.4. Fusariose des céréales**

La fusariose est une phytopathologie affectant les céréales qui impacte le rendement et la Qualité du grain. Cette maladie causée par des espèces du genre *Fusarium*. Les champignons impliqués posent, en outre, un risque sanitaire car certaines espèces sont capables de produire des mycotoxines, métabolites secondaires toxiques, qui s'accumulent dans les grains et sont transmises le long de la chaîne de transformation agro-alimentaire (**Boutigny et al., 2017**).

Ils sont des espèces saprophytes qui vivent normalement sur les débris organiques dans le sol mais quelques espèces peuvent être parasites de plusieurs. Plantes, cultivées ou sauvages, dont les céréales comme le blé, l'orge, le maïs ou d'autres. (**Houmairi et al., 2017**). Elle peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis. L'infection d'une plante par *Fusarium* peut avoir plusieurs origines : une origine biotique ou bien abiotique, leur pénétration se fait à travers des ouvertures naturelles ou des blessures à la surface de la plante (**Nicolas, 2012**).

L'humidité relative de l'air et du sol, la température, la lumière, la pression partielle d'oxygène et le précédent cultural sont des facteurs qui jouent un rôle important dans l'apparition et le développement de la fusariose. (**Houmairi et al., 2017**).



**Figure 11:** symptômes de la fusariose sur les céréales :  
A : épis de blé avec des grains fusariés / B : grains de blé ridés et rosâtres  
C : grains de maïs fusariés / D : épis de maïs fusariés (Nicolas, 2012)

# *Matériel et méthodes*

## II. Matériel et Méthodes

### II.1. Matériel biologique

### II.2. Matériel végétal

#### II.2.1. Description botanique des plantes étudiées

##### ✓ *Citrus aurantium*

L'oranger amère appartient à la famille des *Rutaceae*, genre *Citrus*. Il est aussi appelé Oranger de Séville ou bigaradier. Il pousse sous un climat subtropical (**Deterre, 2012**). Le bigaradier est passé de la chine vers l'Inde puis l'Arabie et, enfin, l'Égypte. Il est arrivé en Europe grâce aux arabes qui l'introduisirent en Sicile au XIème siècle. Il est cultivé en Amérique centrale et en Amérique de sud ainsi que dans tout le bassin méditerranéen (**Farhat et al., 2010**).

L'oranger amère est un grand arbre atteignant 5 à 8 m de haut, avec des feuilles de couleur vertes et brillantes. Les fleurs sont actinomorphes, d'un blanc très pur, d'une odeur agréable. Elles possèdent 5 à 8 pétales (**Ghédira et Goetz, 2015**). Le fruit fait environ 7cm de diamètre avec une écorce dure et une pulpe très acide. Il est très résistant au froid, à l'excès d'eau et à quelques maladies (**Deterre, 2012**).



Figure 12: Photos de *Citrus aurantium* (Meziani et Saidone, 2017)

✓ *Mentha piperita*

La Menthe poivrée (*M. piperita*) est une plante herbacée, issue d'une hybridation entre la Menthe aquatique (*M. aquatica*) et la Menthe verte (*M. spicata*). C'est une menthe vivace, de 30 à 90 cm de hauteur. Les tiges sont dressées, carrées ou ascendantes. Les feuilles sont opposées et décussées, simples, pétiolées, de 4 à 10 cm de long, dentelées et pointues. Elles sont d'un vert foncé sur la face supérieure, se teignant de nuances, rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Les fleurs sont violacées, cylindrique et d'une couleur rose-violet. La plante fleurit de Juillet à septembre (**Bereksi et Reguig, 2016**).



**Figure 13:** présentation de *Mentha piperita* (**Bereksi et Reguig, 2016**)

### II.2.1.1. Les caractéristiques systématiques des plantes étudiées

Tableau 1: Classification systématique des plantes étudiées

Règne	Plante	
Embranchement	Spermaphytes	Embryophytes
Sou -embranchement	Angiospermes	Angiospermes
Classe	Dicotylédones	Dicotylédones
Ordre	Lamiales	Geraniale
Famille	Lamiacées	Rutacées
Genre	<i>Mentha</i>	<i>Citrus</i>
Espèces	<i>Mentha piperita</i>	<i>Citrus aurantium L</i>
Référence	(Bereksi et Reguig, 2016)	(Manner <i>et al.</i> , 2006)

### II.2.2. La Région et période de récolte de plante

Les fruits de *citrus aurantium* ont été récolté au mois de février 2020 dans la région de Ghardaïa située (Lat/Lon : 32,479978/3,697745).



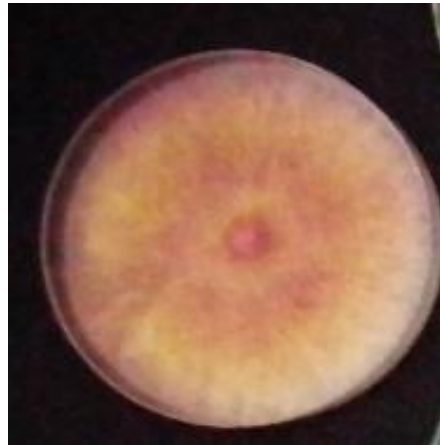
Figure 14: carte géographique indiquant la station de collecte de la plante

### II.2.3. Matériel fongique

Pour mettre en évidence la capacité antifongique de nos extraits d'huiles essentielles et leur combinaison, nous avons choisi une souche de *Fusarium culmorum*, l'une des principales espèces du genre *fusarium*, responsable de maladies phytopathogènes chez les céréales.

#### Les caractères cultureux

Cette moisissure pousse rapidement sur les milieux de culture gélosés, PDA et/ou malt. Les colonies sont duveteuses, d'abord blanches à jaunâtres ou roses, puis ochracées à rouges brunâtre. Le revers est rouge à pourpre.



**Figure 15:** Culture, de *Fusarium culmorum*, de 7 jours sur milieu PDA, à 25°C

**Tableau 2:** Classification de *Fusarium culmorum* (Schem et al., 2013)

<b>Règne</b>	Champignons
<b>Embranchement</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Sordariomycetidae
<b>Ordre</b>	Hypocreales
<b>Famille</b>	Nectriceae
<b>Genre</b>	<i>Fusarium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Fusarium culmorum</i>

**Tableau 3:** la présentation de la souche testée son code et son origine

Espèce	Code	Origine
<i>Fusarium culmorum</i>	BD17	Rouïba (Nord de l'Algérie)

## II.3. Les méthodes expérimentales

### II.3.1. L'extraction des huiles essentielles

L'extraction d'huile essentielle de l'écorce fraîche de *Citrus aurantium* a été effectuée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger, pendant une durée moyenne de trois heures. L'huile essentielle obtenue est récupérée puis séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), puis mise dans des tubes en verre et stockée à basse température ( $4\text{C}^\circ$ ) et à l'obscurité.



**Figure 16:** Montage de l'hydrodistillation (Batterie de trois appareils de type Clevenger)

**Remarque :** Concernant l'huile essentielle de *Mentha piperita*, nous avons utilisé l'huile prête extraite par **Abdi et Moulai (2018)**, par la même technique d'extraction, d'une plante collectée au région d'El-hadjeb (Laghouat) au mois Juin 2017.

### II.3.2. Calcul de rendement

Le rendement en huile essentielle RHE correspond au rapport entre la masse de l'HE obtenue et la masse de matière végétale utilisée pour l'extraction. Il est exprimé en pourcentage. Il est déterminé par la formule suivante (Laghouiter *et al.*, 2015) :

$$\text{RHE \%} = (\text{mHE}/\text{mMV}) \times 100$$

Où :

**RHE** : le rendement d'huile essentielle en pourcents (%)

**mHE** : la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (g)

**mMV** : la masse de matière végétale utilisé (g)

Concernant Le rendement en huile essentielle de *Citrus aurantium* a été déterminé par rapport au volume de l'huile essentielle et de la masse de matière végétale fraîche. Il est exprimé en pourcents et calculé selon la formule suivante (Toure, 2015) :

$$\text{RHE \%} = (\text{VHE}/\text{MVF}) \times 100$$

Où :

**RHE** : rendement en huile essentielle (%)

**VHE** : volume d'huile essentielle obtenue après l'extraction en (ml)

**MVF** : Masse de matériel végétal frais (g)

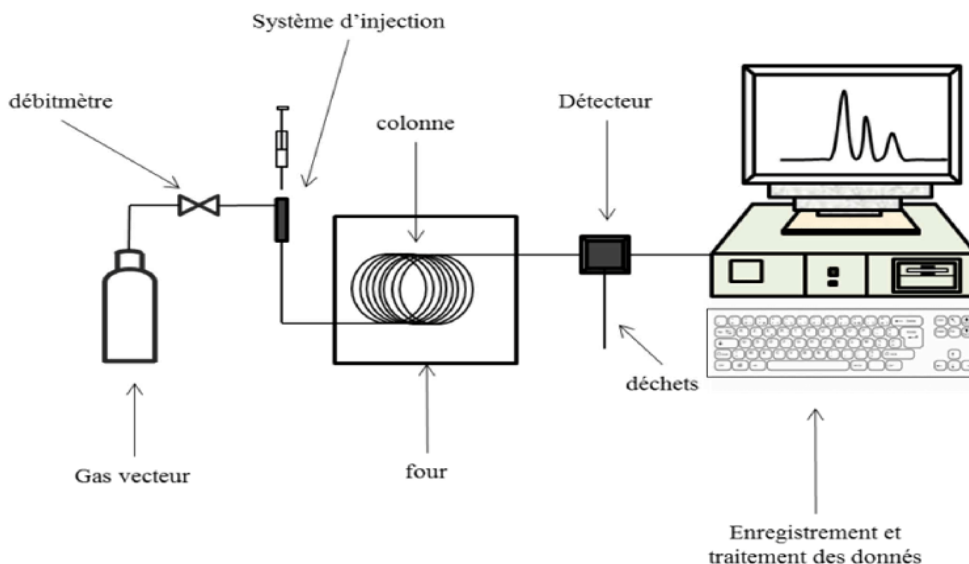
### II.3.3. L'analyse et l'identification de la Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles étudiées a été déterminée par la technique de Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

#### Les conditions opératoires de la CPG

Les analyses chromatographiques des composés volatils ont été effectuées, au Laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales (LSF) de l'université de Laghouat, à l'aide d'un appareil de la chromatographie en phase gazeuse de type GC-5400, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 (30 m × 0,32 mm ; épaisseur du film de 0,10 μm).

Le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène, avec un débit de 1 ml/min. La température de la colonne est programmée à raison d'une montée de 3°C/min de 50°C à 280°C. La température de l'injecteur et celui du détecteur ont été fixées à 220°C et à 250°C, respectivement. Les solutions des HEs sont préparées, en dissolvant 10µl de chaque HE dans 1 ml du solvant organique n-pentane.



**Figure 17:** Schéma représentative du principe d'un système CPG (Budzinski et Mazellier, 2013)

### L'identification des composés

L'identification des constituants des huiles essentielles a été faite sur la base de la comparaison de leurs indices de rétention, calculés par rapport à une série d'alcane (C8-C20) (Sokovic, *et al.*, 2009). La plupart des molécules ont été confirmées par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux connus dans la littérature (Merghache *et al.*, 2009).

En appliquant la relation suivante :

$$IRL = 100n + 100 \left( \frac{Trx - Trn}{Trn + 1 - Trn} \right)$$

Où :

**IRL** : l'indice de rétention linéaire

**n** : le nombre de carbones de l'alcane

**Tr [x]** : le temps de rétention du composé étudié

**Tr [n]** : le temps de rétention de l'alcane précédant

**Tr [C (n+1)]** : le temps de rétention de l'alcane à n+1 atomes du carbone suivant

### **II.3.4. Évaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle**

Afin d'étudier l'activité antifongique de nos huiles essentielles et de leurs mélanges, nous avons choisi la méthode de contact direct. Cette technique a été appliquée pour tester la sensibilité des moisissures vis-à-vis de l'huile essentielle (**Mohammedi et Atik, 2011**). Elle consiste à évaluer l'effet de différentes concentrations d'huiles essentielles sur la croissance d'une souche fongique après leur diffusion dans le milieu de culture inoculé par le champignon.

L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles (**Bouchnek, 2018**).

### **II.3.5. Préparation du milieu de culture**

Dans notre travail nous avons utilisé le milieu de culture PDA (voir Annexe) pour faire la pré-culture et le test de sensibilité de *Fusarium culmorum* BD17 vis-à-vis des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*.

### **II.3.6. Préparation de la Pré-culture de la souche fongique**

Le repiquage de la souche fongique étudiée a été fait dans des boîtes de Petri contenant 15ml de milieu PDA stérile. Pour ensemercer, nous avons prélevé un disque de 6mm de diamètre, à partir d'une colonie mycélienne pure, à l'aide d'une anse stérile, déposé au centre d'une boîte de Petri, puis incubé, à l'étuve, à une température de 26°C pendant 7 jours.

### **II.3.7. Détermination l'activité antifongique par la méthode de contact direct**

Cette méthode repose sur l'étude l'effet d'incorporation des huiles essentielles dans le milieu de culture contenant le germe testé.

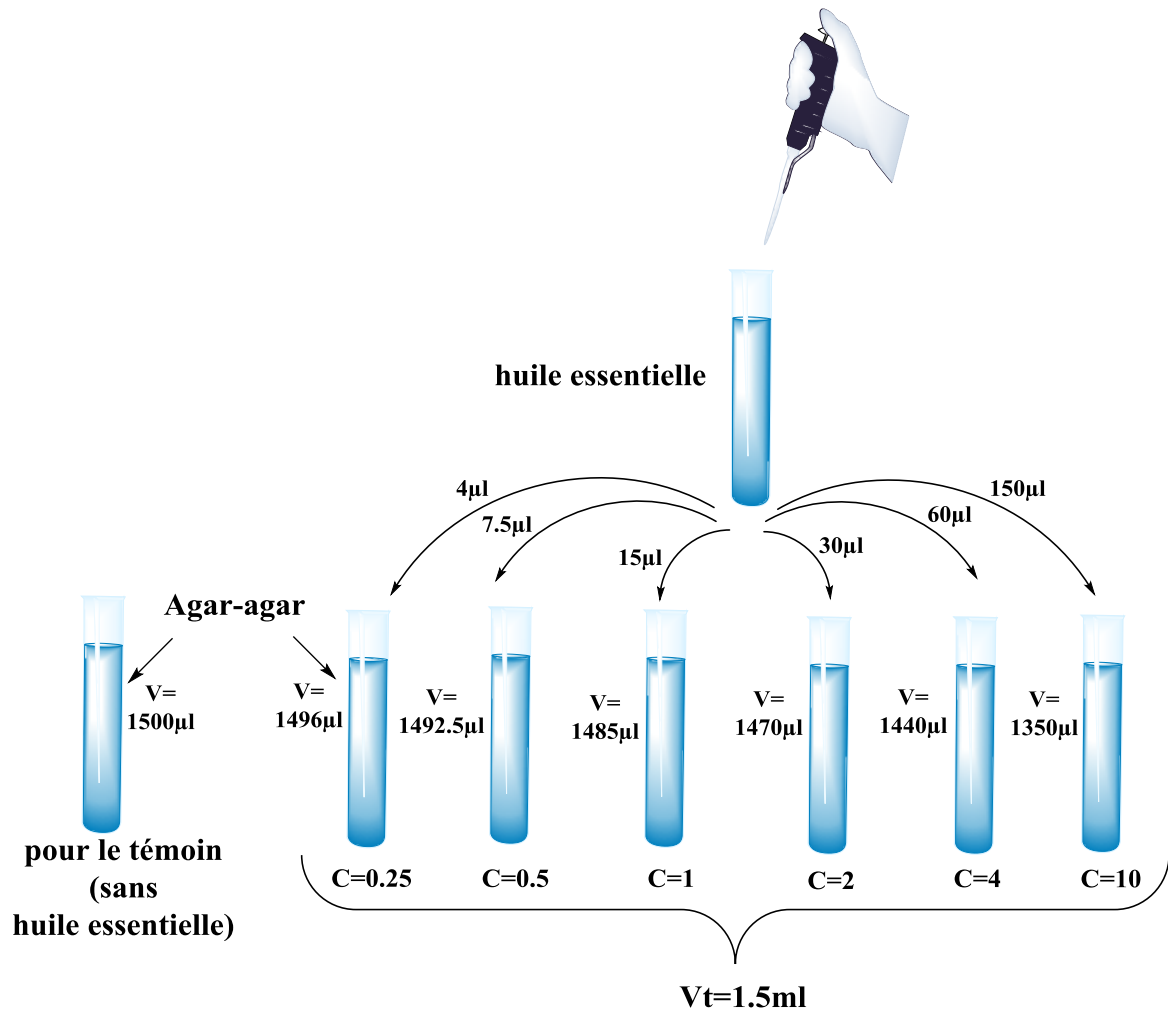
Pour faciliter la miscibilité de l'huile essentielle dans le milieu de culture, nous avons utilisé une solution stérile d'agar à 2% ; ce qui favorise le contact entre le germe testé et l'huile essentielle (**El Ajjouri et al., 2008**).

### a- Préparation des dilutions d'huiles essentielles

Les extraits des HEs sont solubilisés dans des volumes variables de la solution d'agar à 2%, de façon à obtenir les concentrations finales suivantes : **0,25, 0,5, 1,2, 4 et 10  $\mu\text{L}/\text{ml}$** . Les volumes des prises pour chaque concentration et chaque mélange présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 4:** les volumes des dilutions des huiles essentielles

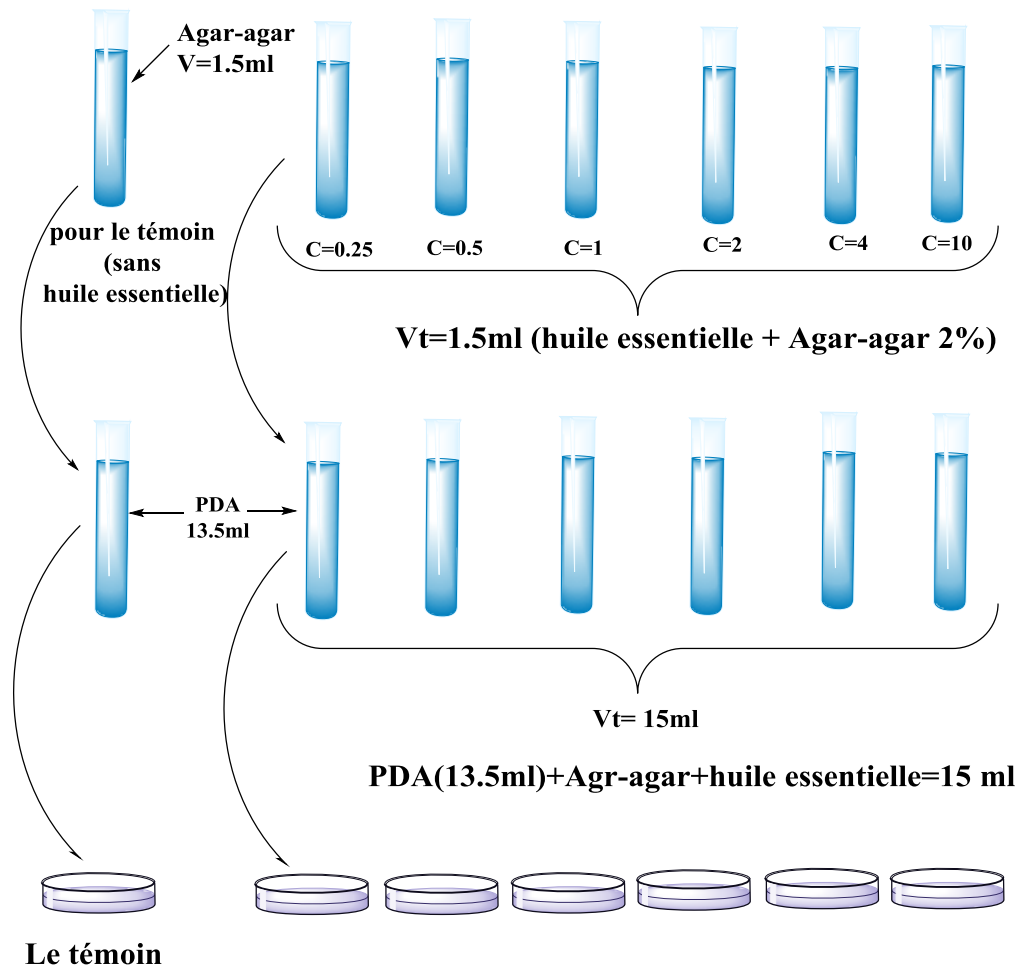
[Cr] ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) Par rapport 15mL	Concentration ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) Par rapport 1.5mL	V d'Agar Agar ( $\mu\text{L}$ )	Volume des huiles essentielles ( $\mu\text{l}$ )						Citrus/menthe individuelle
			Mélange75/25		Mélange50/50		Mélange30/70		
			C	M	C	M	C	M	
0,25	2,5	1496	3	1	2	2	1,2	2,8	4
0,5	5	1492,5	5,625	1,785	3,75	3,75	2,25	5,25	7,5
1	10	1485	11,25	3,75	7,5	7,5	4,5	10,5	15
2	20	1470	22,5	7,5	15	15	9	21	30
4	40	1440	45	15	30	30	18	42	60
10	100	1350	75	25	75	75	30	70	150



**Figure 18:** Illustration du protocole de dilution

### b. L'écoulement du milieu de culture et des extraits des huiles essentielles

On ajoute, aseptiquement, 1,5 ml de chaque dilution de l'huile essentielle, préalablement préparées, dans des tubes contenant chacun 13,5ml de milieu de culture PDA, stérilisés à l'autoclave (121°C pendant 20 minutes). Chaque tube est homogénéisé instantanément avec un agitateur vortex puis versé dans une dans des boîtes de Petri de 82mm de diamètre). Des témoins contenant 15 ml de milieu de culture de la suspension d'agar à 2%, sans huile essentielle, sont également préparés.



**Figure 19:** L'écoulement de milieu de culture et des extraits des huiles essentielles

### c- L'ensemencement et l'incubation des boîtes de Petri

Une fois le milieu de la culture, contenant l'huile essentielle, est solidifié, on dépose, aseptiquement, au centre des boîtes de Petri, à l'aide d'une anse stérile, un disque mycélien (6mm de diamètre), provenant à partir d'une culture âgée de 7 jours. Les boîtes de Petri sont scellées hermétiquement avec du Parafilm puis incubées à l'obscurité, à une température de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 6 jours. Pour chaque mélange et chaque concentration, trois répétitions ont été réalisées.



**Figure 20:** l'ensemencement de *Fusarium culmorum* BD17 dans le milieu PDA

#### **d. Évaluation 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. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'elles ont démarré le même jour et dans les mêmes conditions (Salhi *et al.*, 2015).

#### **e. Détermination du pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne**

Le pourcentage d'inhibition de la croissance du mycélium (I%), exprime la fongitoxicité et est calculée selon la formule suivante :

$$I(\%) = [(Dt - Di) / Dt] \times 100$$

Où :

**Dt** : est le diamètre de la croissance mycélienne (en mm) dans un milieu sans huile (témoin) ;

**Di** : est le diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu en présence de l'huile. (Lbouhamdi *et al.*, 2018).

La lecture des résultats nous a permis de déterminer la CMI (la plus faible concentration en extrait pour laquelle on n'observe pas de croissance, visible à l'œil nu, sur le milieu PDA ; c'est une action fongistatique) après 6 jours d'incubation.

La CMF (définie comme étant la plus faible concentration des extraits détruisant le champignon ; c'est une action fongicide). Elle a été déterminée par la réponse (absence de croissance) du repiquage à partir de cultures de 7 j n'ayant donné aucune croissance fongique (Maidi, 2011).

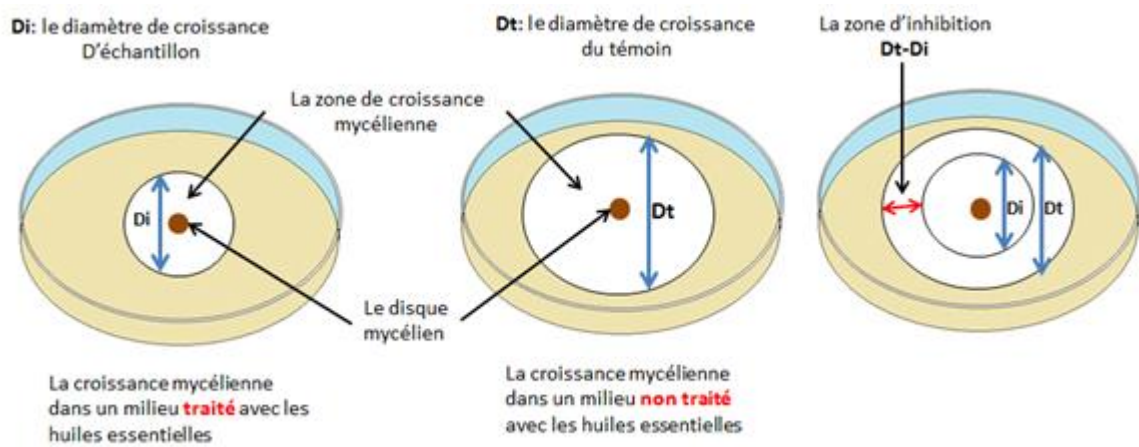


Figure 21: Illustration de la méthode de contact direct

# *Résultats et discussion*


### III. Résultats et discussion

#### III.1. Le Rendement d'extraction des huiles essentielles

##### ✓ *Citrus aurantium*

Concernant l'huile essentielle de *Citrus aurantium*, le rendement est déterminé par rapport à 100 g de matière végétale fraîche et exprimé en pourcentage. Le résultat obtenu est illustré dans le tableau ci-après :

**Tableau 5:** le rendement et la durée d'extraction de l'huile essentielle de *Citrus aurantium*

Espèce	<i>Citrus aurantium</i>
Durée d'extraction	3h
Teneur (%)	0.8%
Couleur de l'HE	

Les écorces fraîches du fruit de *Citrus aurantium* a fourni une huile essentielle avec un rendement moyen de 0,8% (ml/100g). Ce résultat est inférieur à celui déterminé par **Benlahbib, (2013)** qui a enregistré un rendement de 1,2ml/100g à partir d'un échantillon des écorces collectés dans la même région (Ghardaïa). Notre rendement est supérieur à celui rapporté par **Boukhenoufa et al., (2019)** qui est de 0,6% sur un autre échantillon d'Algérie.

Cette teneur est proche de celle rapportée par **Sanaei-dehkordi et al., (2016)** qui ont obtenu un rendement égal à 0,7% d'un échantillon récolté en Iran. Cependant, une étude similaire réalisée par **Mahmoud et Yousif, (2015)** montre que l'extraction des écorces du fruit de *Citrus aurantium* collectés en Iraq donne un rendement 1,47%(v/m).



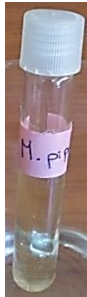
Ce rendement de 0,8% est faible par rapport aux résultats de **Sarrou et al., (2013)** qui ont enregistré un rendement de 1,67 % (ml/100g) pour un échantillon collecté au Grèce. Par

ailleurs, l'huile essentielle d'autres parties de *Citrus aurantium* ont fait l'objet de plusieurs études. **Okla et al., (2019)** ont obtenu un rendement de 3,45 ml /100g à partir d'un échantillon de feuilles et de tiges collectées dans la ville de l'Alexandrie (Egypte). **Lakhdar, (2015)** a constaté, au Maroc, un rendement égal à 0,04%(v/m) d'huile essentielle de fleur. D'autres études marocaines menées sur l'HE des zestes de *Citrus aurantium* par **(Greche et al., 2015)** ont en évidence un rendement de 0,8%(v/v).

✓ *Mentha piperita* :

Pour *Mentha piperita*, nous avons utilisé une huile extraite par **Abdi et Moulai, (2018)**. Nous en avons fait une comparaison entre le rendement de quelques échantillons collectés dans la région d'El Hadjeb (Laghouat) avec d'autres régions en Algérie et à l'étranger.

**Tableau 6:** Rendement d'extraction d'HE des échantillons de *Mentha piperita* récoltés dans la région d'El Hadjeb (Laghouat)

La zone de la collecte	El Hadjeb (Laghouat)		
Le rendement (%)	1,67%	2%	2%
Durée d'extraction (h)	4h	3h	3h
Couleur d'huile			
Référence	(Bengana., 2018)	(Djaber et al., 2019)	(Abdi et Moulai., 2018)

Selon le tableau précédant, le rendement de l'HE de la partie aérienne de *Mentha piperita* de la région d'El Hadjeb (Laghouat) varie entre 1,67% et 2% (m/m).

Ce rendement est supérieur à celui rapporté par **benabdallah (2017)** qui a obtenu un rendement de 1% pour l'échantillon de la région d'El-Kala (El Tarf). Tandis qu'en Tunisie, **Soilhi et al., (2019)** ont obtenu un rendement égal à 1,7 %. Ce taux est très proche de celui déterminé par **Bengana (2018)** qui est de 1,67%. Un taux plus fort de 3,25% a été déterminé pour un échantillon collecté dans la région de Kerman, en Iran (**Moghtader, 2013**).

Nous avons comparé ce rendement avec celui d'autres travaux effectués sur d'autres parties de la plante de menthe poivrée. L'étude faite par **Mahmoudi et Touati (2016)** a révélé un rendement de 2,02% pour l'huile essentielle des sommités fleuries collectées dans la région de Larbaa (Blida). Au Congo, **Likib et al., (2015)** ont obtenu un rendement très faible (0,52%), à partir d'un échantillon contenant juste les feuilles et les tiges.

D'après ces résultats, nous avons observé qu'il y a des différences de rendement en huile essentielle d'une région à une autre. Selon **Kelen et Tep (2008)**, ces différences peuvent être expliquées par plusieurs facteurs la période de récolte, le climat, la zone géographique, l'organe utilisé, la période de séchage, l'âge du matériel végétale et la technique d'extraction.

### III.2. Compositions chimiques d'huile essentielle

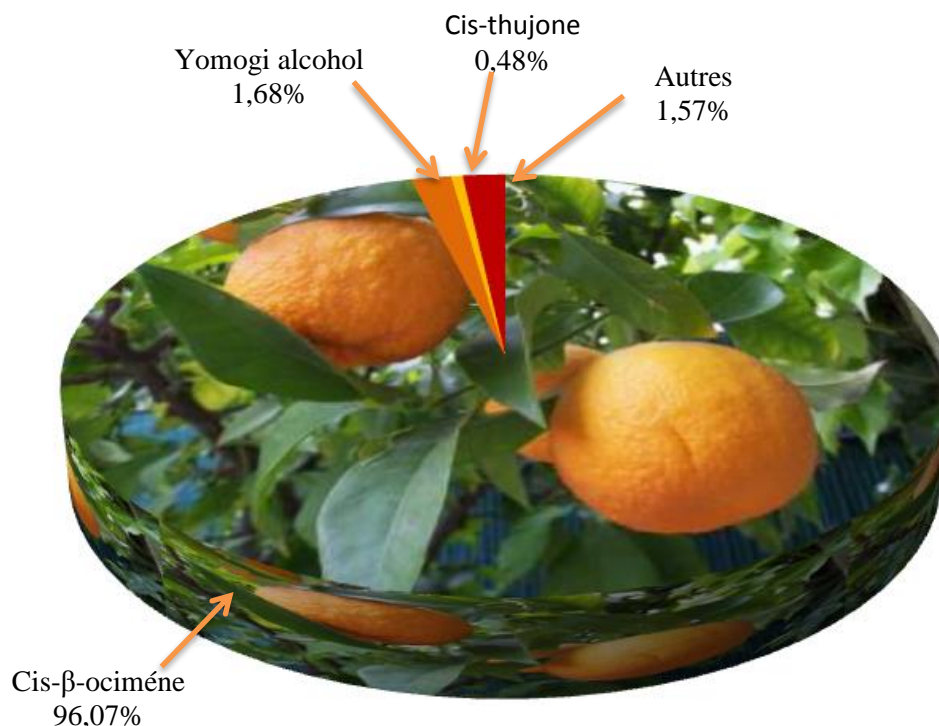
La composition chimique de ces HEs a été déterminée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les annexes II et III illustrent les chromatogrammes des deux huiles essentielles étudiées.

L'identification des composés est réalisée en nous basant sur la comparaison de leur indice de rétention linéaire (IRL) avec des bases de données et avec ceux connus dans la bibliographie (**Merghache et al., 2009**).

#### A. L'huile essentielle de *Citrus aurantium*

L'analyse de l'huile essentielle de l'écorce du fruit de *Citrus aurantium* nous a permis d'identifier dix-huit composés représentant (99,81 %) de la composition totale de l'huile. Cette dernière est très riche en monoterpènes. Les composés majoritaires de cette huile sont : Cis- $\beta$ -Ocimène (96,07%) suivi par Yomogi alcohol (1,68%), Cis-thujone (0,48%).

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* sont présentés dans la figure ci-après :



**Figure 22:** Répartition, en pourcentage, des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Citrus aurantium*

Nous avons fait une comparaison de nos résultats avec ceux de l'étude réalisée par **boukhenoufa et al., (2019)**. Ils ont révélé, sur un échantillon collecté, aussi en Algérie, que l'huile essentielle de *Citrus aurantium* a été caractérisée par les composants majoritaires suivants : Le linalol (42,3%), le limonène (18,6%), le+- linalol oxyde (10,6%) et l' $\alpha$ -terpinéol (11,1%). Une autre étude, effectuée par **Lagha-Benamrouche et al., (2017)**, a montré que l'huile essentielle de l'écorce des fruits de *Citrus aurantium* est composée, principalement, par quatre composés majoritaires : le Limonène (89,811%), le  $\beta$ -pinène (4,150%), l' $\alpha$ -pinène (1,375%) et l'Eremophilene (1,765%).

En Tunisie, **Zarrad et al., (2017)** ont permis d'identifier le limonène (87.52%), le  $\beta$ -Myrcène (1,62%), l' $\alpha$ -pinène (0,56%), le  $\beta$ -Ocimène (0,81%), et le  $\beta$ -pinène (0,61%), comme composés majoritaires. Une autre étude menée, aussi, en Tunisie, effectuée par **Chaieb et al., (2017)**, a révélé d'autres composés majoritaires : le limonène (67,15%), le Linalol (8,37%), le  $\beta$ -Pinène (4.02%) et le Myrcène (3,17%).

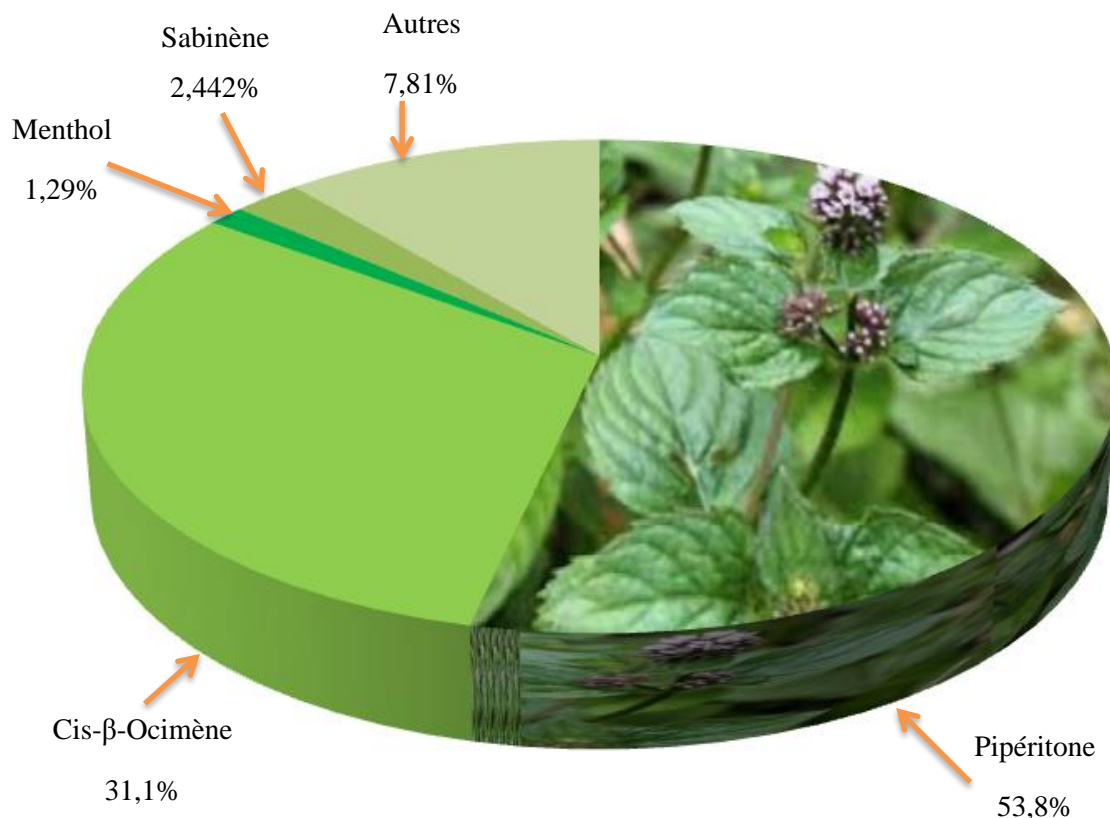
Dans une étude effectuée par **Azhdarzadeh et Hojjati, (2015)**, en Iran, il a été montré que l'analyse de la composition de l'huile essentielle de fruits matures de *Citrus aurantium* révèle les composés majoritaires suivants : le Limonène (81,6%) le  $\beta$ -Myrcène (5,74%) le Linalol (2,19%). Tandis que l'HE des écorces immatures sont caractérisées, principalement, par le Limonène (59,0 %) l'Alloaromadendrene (5,88%) et le  $\beta$ -Myrcène (3,93%). En Croatie, **Radan et al., (2018)** ont trouvé le Limonène (91,1%), le Linalol (1,5 %), l'acide Hexadécanoïque (1,3 %) et l' $\alpha$ -Terpinéol (1,1 %), comme des composés majoritaires.

Dans d'autres études menées sur la même espèce botanique, l'huile essentielle a été extraite à partir d'autres parties de la plante. En Algérie, **Bendali et al., (2019)** ont montré que l'huile essentielle des feuilles est composée principalement de terpinéol (21%), d'acétate de géranyle (18%), d'acide anthranilique 5-diméthyl-1-vinyl-4-hexenyl (12%) et Caryophyllène (11%). En Tunisie, dans une étude menée par **Haj Ammar et al., (2012)**, l'huile essentielle extraite à partir des fleurs (néroli) de *Citrus aurantium* est composée par Limonène (27.5%), (E)-Nérolidol (17.5%),  $\alpha$ -terpinéol (14%) et  $\alpha$ -terpinyl acétate(11.7%), comme des composés majoritaires. Dans une autre étude sur les zestes (en Tunisie), il a été révélé que l'huile essentielle de l'écorce du fruit du *Citrus aurantium* est composée, principalement, de trois composés représentants (98,11%) de la totalité de cette huile. Ces composés étant le limonène 96%, le delta-3-carene (1,43) % et le Sabinène (0,45%) (**Greche et al., 2015**).

## **B. L'huile essentielle de *Mentha piperita***

Concernant l'huile essentielle des parties aériennes de *Mentha piperita*, l'analyse de la composition chimique a permis d'identifier trente et un composés représentant (96,60 %) de la totalité de l'huile. Celle-ci est constituée, majoritairement, des monoterpènes dominés par le Pipéritone qui occupe un taux de (53,8%) suivi par le Cis - $\beta$ -Ocimène (31,16%), le Sabinène (2,442%) et le Menthol (1,29%).

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sont représentés dans la figure ci-après :



**Figure 23:** Répartition en pourcents des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha piperita*

Une étude effectuée par **Djaber et al., (2019)**, en Algérie (Laghouat) a montré que l'huile essentielle de *Mentha piperita* est constituée par le Pipéritone (57,51%) et le Limonène (28,29%) comme des composés majoritaires. Au Maroc, **Benayad, (2008)** a trouvé le linalol (60,72%), l'acétate de linalyle (20,79%) et le Géraniol (3,26%), comme des composés majoritaires.

Les travaux effectués par **Hadipanah et al., (2015)**, en Iran, sur l'huile essentielle des parties aériennes de *Mentha piperita*, ont permis de révéler du Menthol (41,02%), du Menthone (15,25%), du Menthofuran (10,85%), du 1,8-cineole (8,38 %) de l'acétate de Menthyle (8,95%) comme composés majoritaires. En plus d'autre étude iranienne a permis d'identifier le D-limonène (19,72%) le thymol (19,02%) et le carvacrol (12,37%) (**Mohammadi et al., 2019**).

Au Brésil, **Rayn da saliva et al., (2017)** ont trouvé que le Linalol (51,8%), l'Epoxyocimène (19,3%), le Sesquiphellandrene (9,4%), le Cadinene (4%) sont les des composés majoritaires.

Ces variations, rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et à la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (Laghchimi *et al.*, 2014).

### III.3. Les résultats de l'activité antifongique

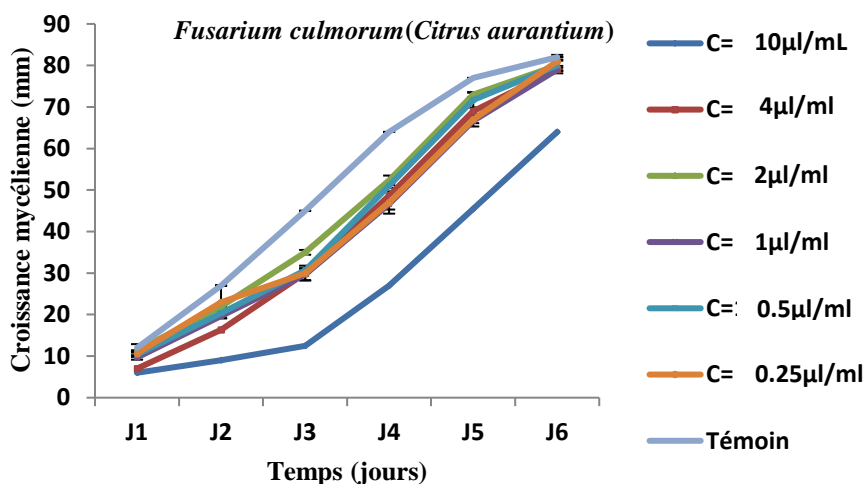
L'évaluation de l'activité antifongique a été effectuée en utilisant la méthode de contact direct.

#### III.3.1. La cinétique de la croissance mycélienne

L'analyse de la cinétique de la croissance de *Fusarium culmorum* B17, sous l'effet de différentes concentrations d'HE, montre une augmentation de la croissance mycélienne avec l'augmentation du temps d'incubation. En revanche, la croissance mycélienne est freinée par l'augmentation de la concentration en huiles essentielles.

##### III.3.1.1. L'huile essentielle de *Citrus aurantium*

La figure 24 représente la cinétique de la croissance mycélienne de la souche testée *Fusarium culmorum* B17, en fonction du temps d'incubation et en présence de différentes concentrations en huile essentielle de *Citrus aurantium*.



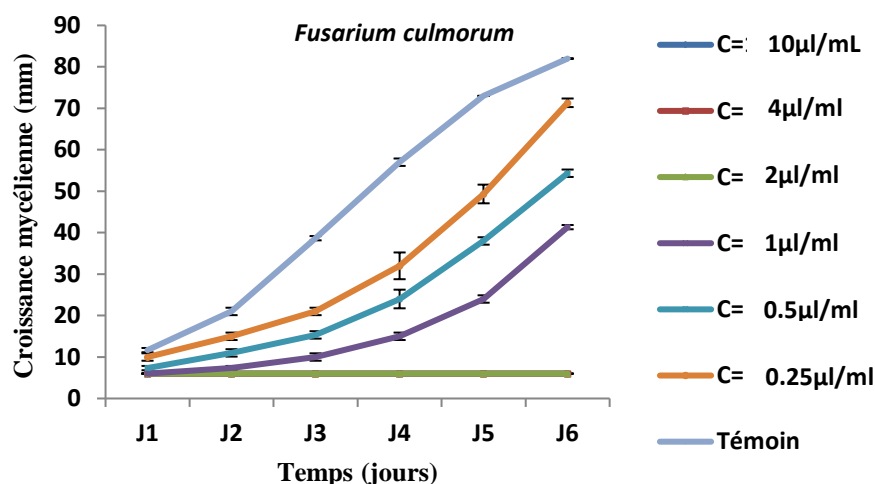
**Figure 24:** La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *Citrus aurantium*

Nous avons remarqué que le diamètre de la croissance augmente en fonction de temps et une absence d'effet de l'huile essentielle. En effet, nous avons constaté que la croissance a atteint son maximum dans les concentrations de 0,25 µl/ml à 4µl/ml. Cependant, leur effet ne se manifeste qu'à partir de la concentration 10 µl/ml ; avec une activité inhibitrice

relativement faible. Ce résultat indique qu'il y a une résistance de la souche testée vis-à-vis de l'HE de *Citrus aurantium* ; même à fortes concentrations.

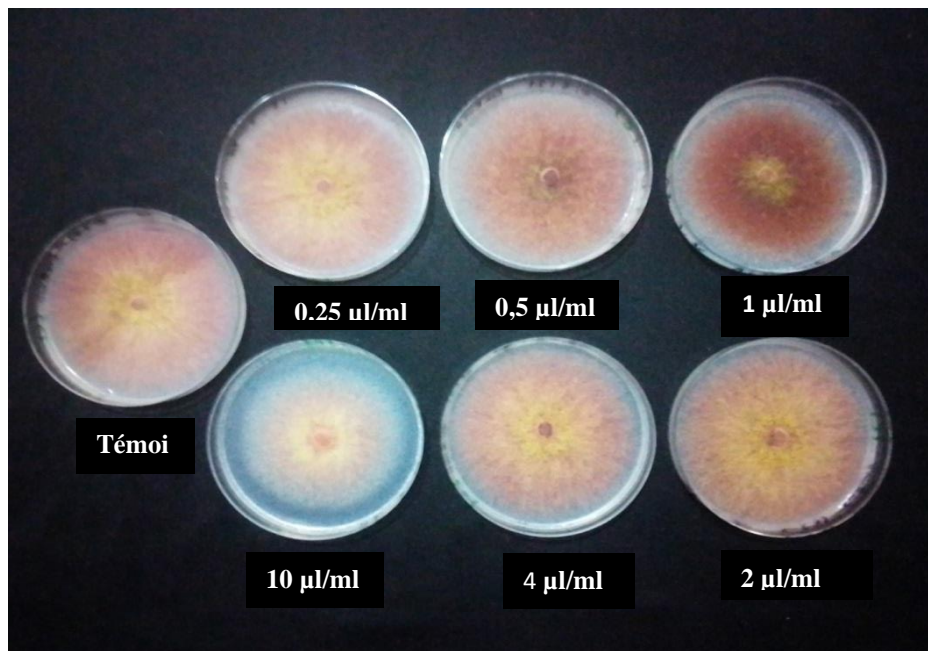
### III.3.1.2. L'huile essentielle de *Mentha piperita*

La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* BD17 (figure 25) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Mentha piperita*, montre que cet extrait est plus efficace que celui de *Citrus aurantium*.

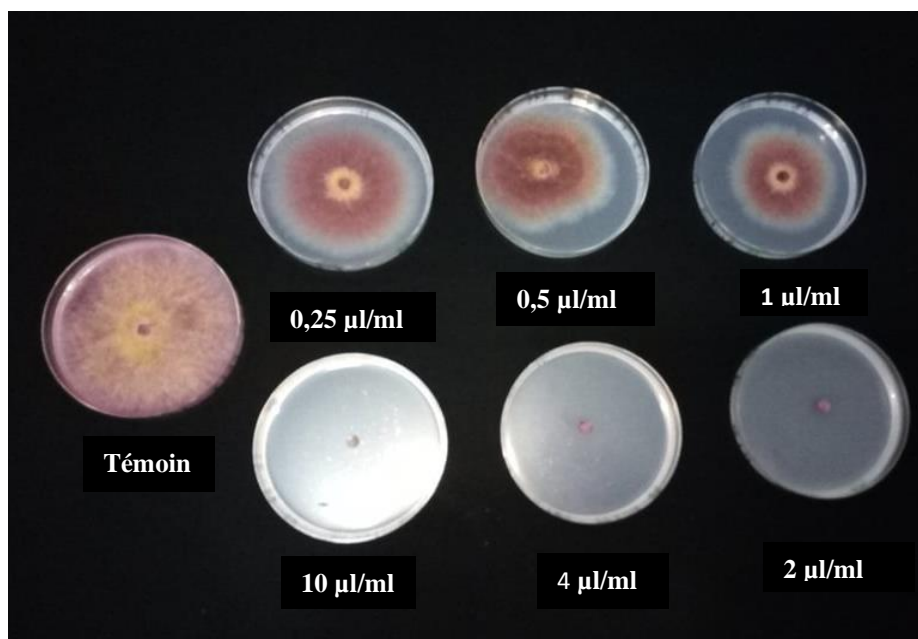


**Figure 25:** La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *Mentha piperita*

Une diminution des diamètres a été constatée dès le premier jour jusqu'au sixième jour aux concentrations de 0,25 µl/ml à 1 µl/ml. Cependant, aux concentrations de 2 µl/ml, 4 µl/ml et 10 µl/ml aucune croissance n'a été observée ; ce qui révèle une sensibilité élevée de cette souche à ces concentrations d'huile essentielle.



**Figure 26:** L'effet de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

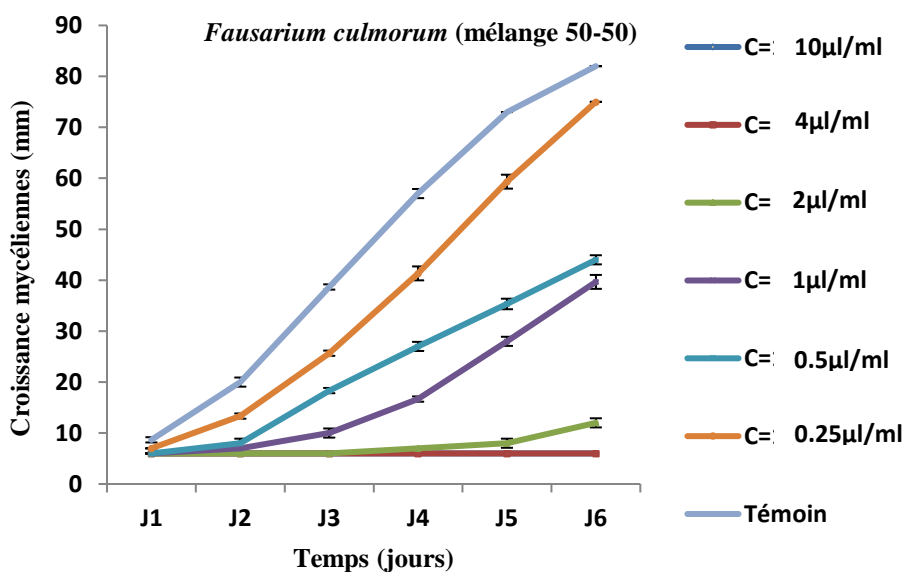


**Figure 27:** L'effet de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

### III.3.1.3. Les combinaisons de mélanges des deux huiles essentielles

#### ➤ Le mélange 50 % *Mentha piperita* /50 % *Citrus aurantium*

La cinétique de la croissance mycélienne de la *Fusarium culmorum* BD17 en présence de mélange de deux d'HEs à un pourcentage de (50% HE *Citrus aurantium* / 50% HE *Mentha piperita*) est présentée dans la figure 28.

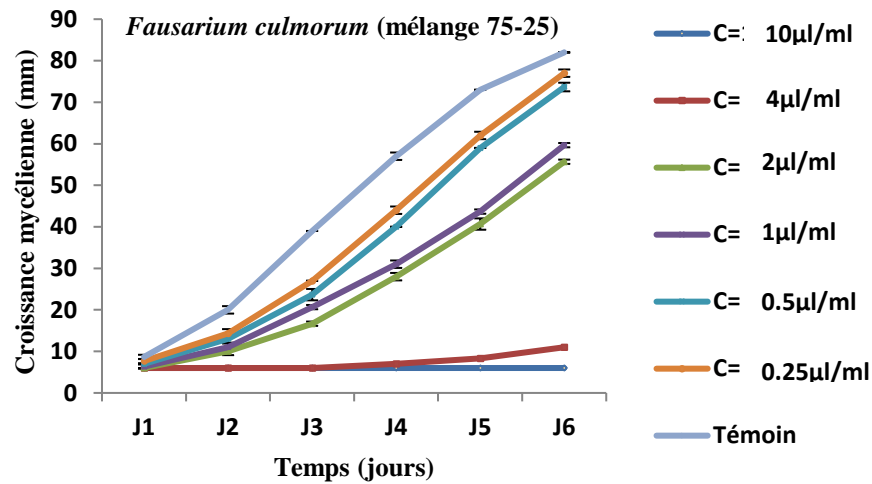


**Figure 28:** La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, en présence de différentes concentrations du mélange des HE de *Mentha piperita* et de *Citrus aurantium* (50%/50%).

Pour l'effet de deux huiles essentielles mixtes à un pourcentage de 50/50, nous avons remarqué que le mélange retarde la croissance mycélienne de la souche testée, au cours des 6 jours d'incubation, aux concentrations 0,25µl/ml à 1µl/ml. Pour la concentration 2µl/ml, la pousse mycélienne débute à partir du troisième jour, avec une inhibition de croissance plus importante. Alors qu'aucune croissance n'a été pas enregistrée aux concentrations 4 µl/ml et 10µl/ml.

➤ **Le mélange 75 % *Citrus aurantium* /25 % *Mentha piperita*.**

La courbe ci-après (**figure 29**) illustre la variabilité des diamètres de la croissance mycélienne (en mm) de la souche fongique de *Fusarium culmorum* B17, en fonction du temps et en présence de différentes concentrations du mélange des deux huiles essentielles aux proportions 75% *Citrus aurantium* / 25% *Mentha piperita*.



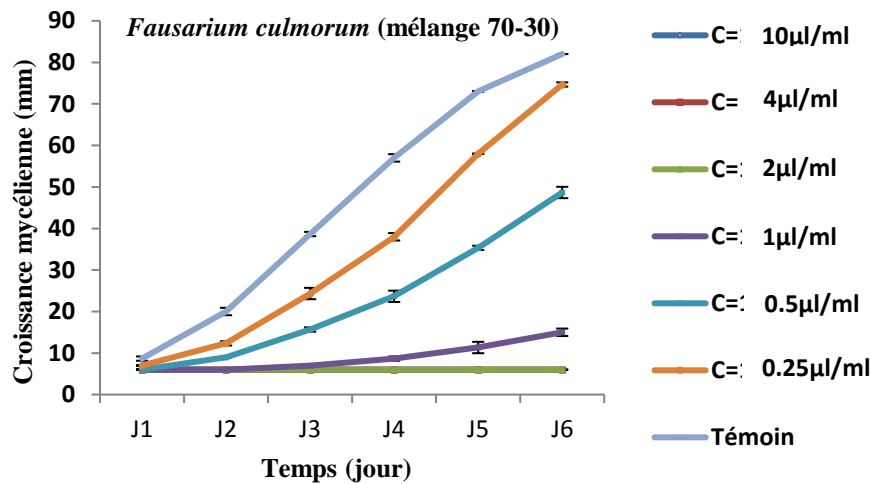
**Figure 29:** La cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, en présence de différentes concentrations du mélange des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Mentha piperita* (75%/25%)

Ce mélange s'est avéré moins actif que le mélange 50/50. Nous avons remarqué qu'il y a une diminution, respective, dans la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17 à partir du premier, jour jusqu'au sixième jour, pour les concentrations 0,25µl/ml, 0,5µl/ml, 1µl/ml et 2µl/ml.

À une concentration de 4µl/ml, cette huile provoque une réduction de croissance mycélienne remarquable où la croissance commence à partir de quatrième jour et elle est complètement inhibée à une concentration de 10µl/ml.

➤ **Le mélange 70% *Citrus aurantium* / 30% *Mentha piperita***

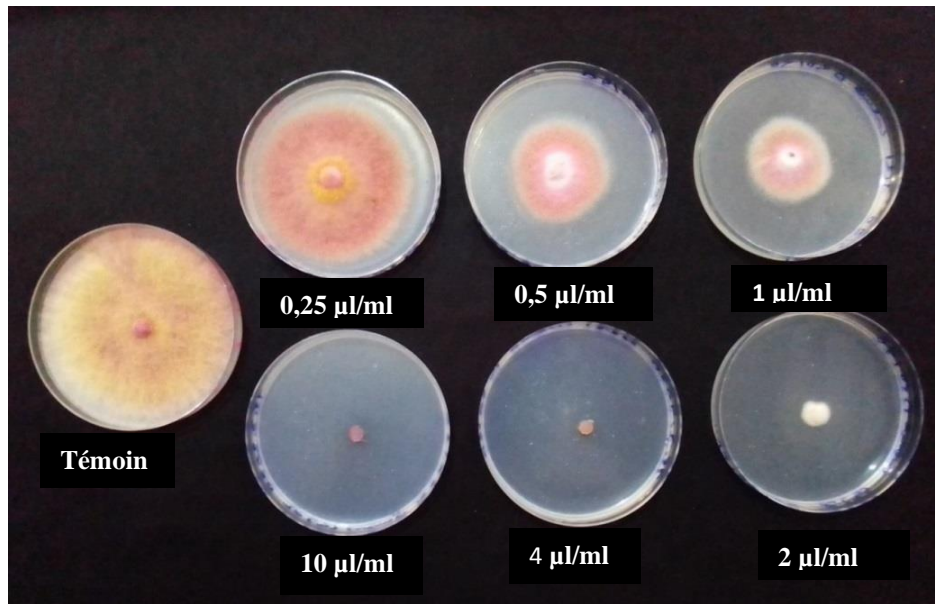
La Figure 30 représente la cinétique de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, sous l'effet de différentes concentrations du mélange (30/70) des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*.



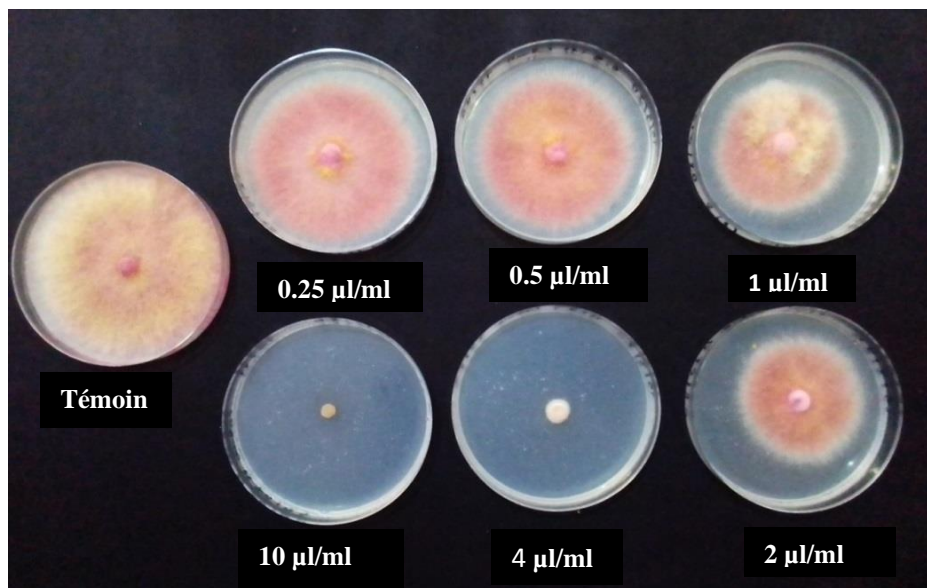
**Figure 30:** La cinétique de la croissance mycélienne dès la souche de *Fusarium culmorum* B17, en présence de différentes concentrations de l'extrait du mélange des huiles essentielles de de *Mentha piperita* et de *Citrus aurantium* (70%/30%)

Concernant l'effet du mélange (30% *Citrus aurantium* / 70% *Mentha piperita*), nous observons qu'il y a une diminution de la croissance mycélienne de la souche testée, dès le premier jour et cet effet continue jusqu'au sixième jour pour les concentrations 0,25 µl/ml à 0,5 µl/ml. Cependant, la concentration 1 µl/ml induit une forte inhibition de la croissance mycélienne. Une inhibition totale de la croissance mycélienne a été enregistrée pour les concentrations de 2 µl/ml, 4 µl/ml et 10 µl/ml.

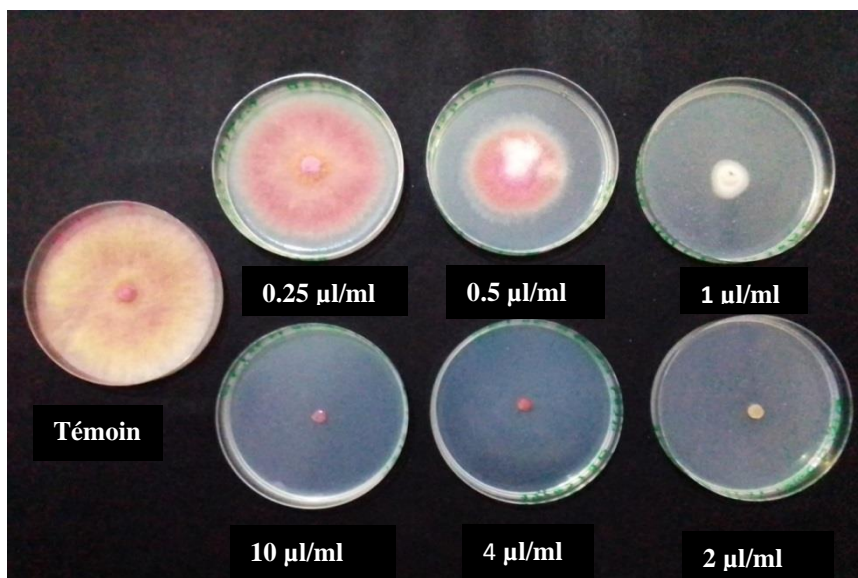
Ce résultat nous a permis de noter que ce mélange s'est avéré plus actif que le mélange 50/50.



**Figure 31:** L'effet du mélange des huiles essentielle de *Mentha piperita* et de *Citrus aurantium* (50/50) sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, à différentes, après 6 jours d'incubation



**Figure 32:** L'effet de l'extrait du mélange des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita* (75/25), sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation.

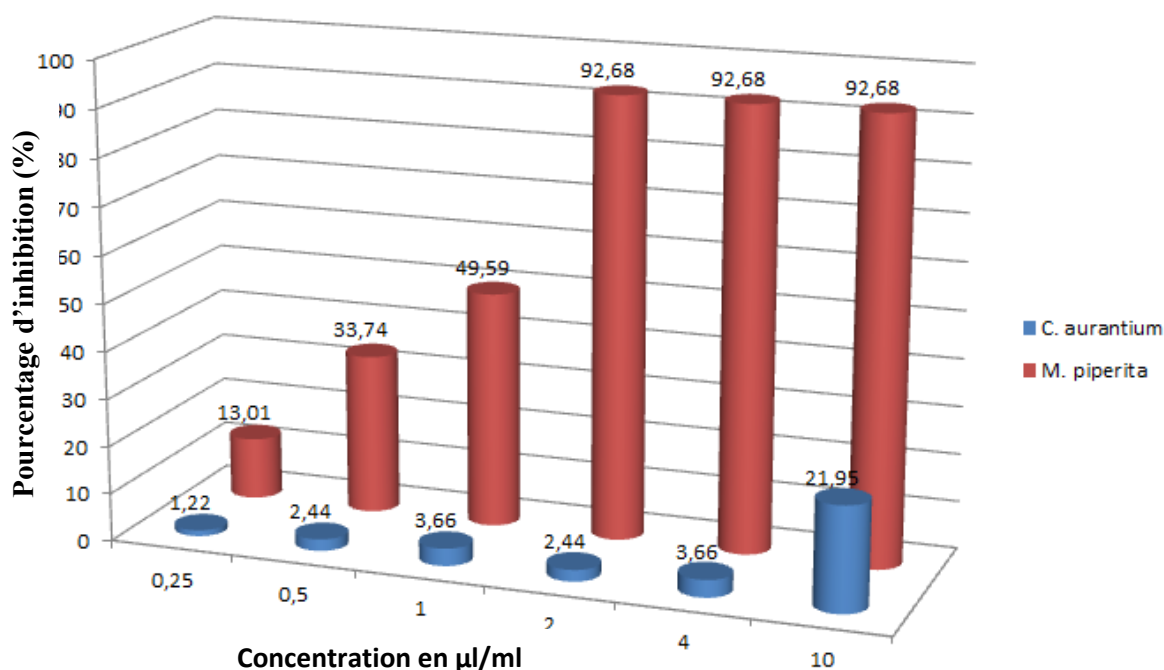


**Figure 33:** L'effet de différentes concentrations du mélange d'huiles essentielles de *Mentha piperita* et *Citrus aurantium*(70/30), sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* B17, à différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

#### III.4. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D'après les résultats obtenus, on observe que les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne augmentent avec l'augmentation en concentrations d'huile essentielle. De plus, une variation significative de taux d'inhibition a été notée entre les deux espèces végétales testées séparément.

Les histogrammes de la (Figure 34) représentent le pourcentage d'inhibition du mycélium de *Fusarium culmorum* BD17, en présence des huiles essentielles de *citrus aurantium* et *Mentha piperita*, séparément, pour chaque concentration d'huile essentielle testée, au sixième jour d'incubation.

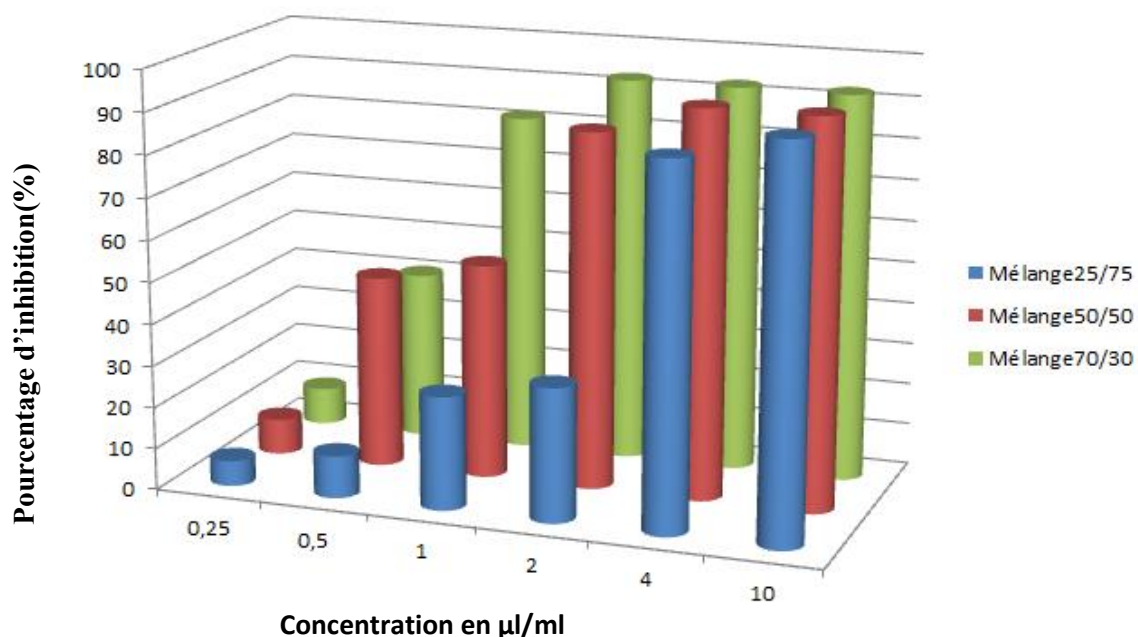


**Figure 34:** Les taux d'inhibition de la croissance de la souche fongique étudiée, à différentes concentrations des deux huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*

Nous avons constaté que l'huile essentielle de *Citrus aurantium* se caractérise par une activité antifongique relativement faible. On remarque que le taux d'inhibition maximum de 21,95% a été enregistré pour la plus forte concentration d'huile (10 $\mu\text{l/ml}$ ). D'autre part, les autres concentrations de 0,25  $\mu\text{l/ml}$  à 4  $\mu\text{l/ml}$  ont engendré des taux presque nul ; variant de 1,22 % à 3,66%. Il est à noter que cet extrait n'inhibe pas complètement la croissance mycélienne.

Cependant, un pouvoir antifongique important de l'huile essentielle de *Mentha piperita* a été observé contre le *Fusarium culmorum*, avec un taux d'inhibition de 13%, pour la plus faible concentration de 0,25  $\mu\text{l/ml}$ . Une forte inhibition (92,68%) a été enregistré pour les concentrations de 2  $\mu\text{l/ml}$  à 10 $\mu\text{l/ml}$ . Ainsi, nous estimons que la concentration minimale inhibitrice CMI supérieure à 2  $\mu\text{l/ml}$ .

La figure 35 représente le pourcentage d'inhibition de la souche de *Fusarium culmorum* BD17, à différents mélanges des deux huiles essentielles, pour chaque concentration, au sixième jour d'incubation.



**Figure 35:** Les taux d'inhibition de la croissance fongique de la souche fongique étudiée, à de différentes concentrations du mélange des deux huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*

Concernant le pourcentage d'inhibition de croissance du mycélium de *Fusarium culmorum* BD17, à différents mélanges, les deux combinaisons (50/50) et (30/70) présentent un pouvoir antifongique important ; avec un taux d'inhibition de 8%, pour la plus faible concentration en huile essentielle (0,25 µl/ml). Les deux mélanges ont révélé un fort pourcentage d'inhibition de (92,68%) à partir des concentrations de 4 µl/ml à 10 µl/ml pour le mélange 50/50 et à partir des concentrations de 2 µl/ml à 10µl/ml en présence de mélange 30/70.

Le pourcentage d'inhibition en présence du mélange (75/ 25) est moins efficace, avec un taux d'inhibition de 6% pour la plus faible Concentration (0,25 µl/ml) et augmente jusqu'à 92,68% pour la plus forte concentration de 10 µl/ml.

D'après ces résultats, nous estimons que la concentration minimale inhibitrice (CMI) du mélange 30/70 est supérieure à 2 µl/ml. Pour le mélange 50/50 la CMI est supérieure à 4 µl/ml. Cependant, la CMI du mélange 75/25 est supérieure à 10 µl/ml.

D'après ces résultats préliminaires d'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de l'écorce des fruits du *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*, par la méthode

de contact direct, on constate que l'huile essentielle de *Mentha piperita* présente une activité antifongique importante. Cependant, l'huile essentielle de *Citrus aurantium* n'exerce aucun effet inhibiteur sur *Fusarium culmorum* B17. Cette différence du pouvoir antifongique des huiles essentielles pourrait être attribuée à la composition chimique des huiles essentielles et plus précisément à leurs composés majoritaires.

Nos résultats concordent avec ceux de **Abdi et Moulai (2018)** où ils ont trouvé que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec l'augmentation de la concentration en huiles essentielles et que la même l'huile essentielle de *Mentha piperita* a une activité antifongique importante contre les deux souches de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* BDI ; avec une concentration minimale inhibitrices (CMI) de 2µl/ml, pour les deux souches. **Mehani et al., (2015)** révèlent que l'HE de *Mentha piperita* possède une activité inhibitrice importante vis-à-vis de trois espèces du genre *Fusarium* (*F. sporotrichioides*, *F. graminearum* et *F. langsethiae*).

L'étude de **Reddy et al., (2017)** sur l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha piperita* montre une forte activité antifongique vis-vis de plusieurs espèces Fongiques phytopathogènes (parmi lesquelles *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*). D'après les résultats obtenus par **Mahmoudi et Touati, (2017)**, sur l'effet de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sur l'*Oïdium*, il s'avère que cette huile empêche partiellement la croissance mycélienne.

Les résultats obtenus sur l'huile essentielle de *Citrus aurantium* sont en accord avec les travaux de **Trabelsi et al., (2014)** où il a été révélé que l'HE de *Citrus aurantium* n'inhibe pas la souche fongique de *Candidas albicans* et bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa*.

Une étude faite par **Yousif et Mahmoud, (2015)** montre, cependant, que l'HE des écorces des fruits de *Citrus aurantium* a inhibé la croissance de *P. oxalicum* avec une concentration de 4,5% tandis que *P. expansum* et *F. oxysporum* à une concentration de 5% et *F. proliferatum* à une concentration de 5,5%. D'autre part, **Bendali et al., (2019)** indiquent une activité antifongique significative de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* contre *Fusarium oxysporum*.

Cependant, **Verma et al., (2011)** montrent que les deux huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita* possèdent, individuellement, une activité antifongique importante vis-à-vis des souches d'*Aspergillus niger* et de *Geotrichum candidum*.

Généralement, la variabilité des résultats est probablement dûe à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les huiles essentielles utilisés (**Bessdik et Khenfer, 2015**).

Par ailleurs, concernant l'effet antifongique de la combinaison d'huile essentielle de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita*, les deux mélanges (70/50) et (50/50) présentent une activité importante ; très proche de celle déterminée, séparément, pour *Mentha piperita*. De ce fait, il est possible d'utiliser l'HE de *Citrus aurantium* comme support ; Ainsi, on gagne plus d'huile avec le même niveau d'activité.

Certains travaux ont été effectués afin de tester l'activité antifongique de la combinaison d'huiles essentielles. Une étude réalisée par **Bessedik et Khenfer (2015)**, sur l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* et d'*Eucalyptus globulus* sur des souches fongiques montre que l'HE de *T. algeriensis* présente un effet antifongique très élevé, même à faible concentration. Tandis que l'huile essentielle d'*E. globulus* ne présente pas d'effet inhibiteur, même à fortes concentrations. Cependant, leur mélange révèle un bon effet antifongique.

L'étude de la combinaison des huiles essentielles est aussi présente dans la recherche pharmaceutique. Les travaux effectués par **Lakhrissi et al.,(2016)** sur l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* et d'*Origanum majorana* vis-à-vis de *Candida albicans*, révèlent que l'effet d'HE de l'*Origanum vulgare* est plus efficace que celle d'*Origanum majorana*. Le mélange des deux huiles essentielles présente un bon effet antifongique. Selon cette étude, il est possible d'utiliser l'HE d'*Origanum majorana* comme support.

Dans une étude, **Mouhi, (2017)** a effectué une évaluation de l'activité antifongique de deux combinaisons comprenant l'HE du thym dans celle de l'orange douce ainsi que dans celle de la menthe poivrée sur de souche fongique (*Candidas albicans*). Les résultats montrent que l'HE de *Citrus sinensis* seule est inefficace contre *candidas albicans*. En l'associant avec l'HE de *Thymus fontanesii*, elle marque une efficacité intéressante et pratiquement identique à celle de l'HE de *Thymus fontanesii*.

Concernant *M. piperita*, elle ne présente aucune activité vis-à-vis de *Candida albicans*. Néanmoins, en l'associant avec l'HE de *Thymus fontanesii*, elle marque une efficacité intéressante et identique à celle de l'HE de *Thymus fontanesii* seule.

# *Conclusion*

---

---

## Conclusion

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la valorisation des produits naturels qui peuvent se substituer aux produits chimiques utilisés pour lutter contre les champignons phytopathogènes, responsables d'effets néfastes sur l'économie, l'environnement et la santé de l'homme.

Notre étude a pour objectif d'étudier l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita* sur la croissance de *Fusarium culmorum* BD17, et évaluer l'effet antifongique des mélanges de ces huiles. L'évaluation de cette activité antifongique a été réalisée par la méthode de contact direct.

L'extraction des huiles essentielle des écorces des fruits de *Citrus aurantium* et des feuilles de *Mentha piperita* a été faite par hydrodistillation à l'aide d'un appareille de type Clevenger. Nous avons obtenu, respectivement un rendement de 0,8% (v/m) et de 2% (m/m).

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et de *Mentha piperita* par CPG a permis à identifier, respectivement, dix-huit et trente et un constituants chimiques. L'HE de *C. aurantium* est composée, majoritairement, de : Cis- $\beta$ -Ocimène (96.07%), Yomogi alcool (1,68%), Cis-thujone (0,48%) et le  $\alpha$ -Pinène (0,4%). L'HE de *M. piperita* est constituée par du Pipéritone (53.8%), Cis - $\beta$ -Ocimène (31,16%), du Sabinène (2,442%) et du Menthol (1,29%), comme des composés majoritaires.

Par ailleurs, la méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence la capacité antifongique de deux extraits vis-à-vis de la souche testée. L'huile essentielle de *Mentha piperita* montre une activité antifongique. Cependant, l'huile essentielle de *Citrus aurantium*, même à de fortes concentrations, ne présente aucun effet inhibiteur sur la souche étudiée. Le Mélange des deux HE révèle que les combinaisons (50/50) et (30/70) présentent une activité inhibitrice importante, comparable à l'effet de l'HE de *Mentha piperita* seule ; le mélange (75/25) présente un effet plus faible.

Vu que les deux mélanges possèdent une activité antifongique importante, nous pensons qu'il serait possible d'utiliser l'huile essentielle de l'écorce des fruits de *Citrus aurantium* comme solvant ; ce qui nous permettrait de gagner de la substance antifongique active.

L'ensemble de ces résultats préliminaires obtenus ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelles biologiquement actives. Cette étude devrait être complétée de manière plus approfondie avec le test activité fongistatique/fongicide, essais sur d'autres souches fongiques, plus de tests sur l'effet de la combinaison avec des huiles essentielles d'autres plantes, l'identification des composés responsables de l'activité antifongique, et une application in vivo.

*Références*

*bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

**Abadlia, M., & Chabour, A.H. (2014).** Etude des huiles essentielles de la *plante mentha piperita* et tester leurs effet sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de master, Université de Constantine, 68p.

**Abdi, K., & Moulai, H. (2018).** Evaluation du pouvoir antifongique et études de la composition chimique de quatre huiles essentielles de plantes locales. Mémoire de master, université Amar Téliidji, Laghouat, 88p.

**Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., El Ajjouri, M., & Chaouch, A. (2010).**Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Du Maroc. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*,14(1), 141-148.

**Attou, A. (2011).** Contribution à l'étude phyto-chimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister, Université de Tlemcen, 119p.

**Attou, A. (2017).**Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent), étude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat, université Abou Bekr Belkaid,Tlemcen, 101p.

**Azhdarzadeh, F., & Hojjati, M. (2016).**Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Leaf, Ripe and Unripe Peel of Bitter Orange (*Citrus aurantium*) Essential Oils. *Nutrition and Food Sciences Research*, 3(1), 43-50.

### B

**Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

**Ben gana , K. (2018 ).**Etude de l'ativité anti oxydant et composition chimique des huiles essentielles de quelques plantes de la famille de lamiacee. Mémoire de master , université de Laghouat ,68p.

- Benabdallah, A. (2017).** Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie). Mémoire de Doctorat, université des Frères Mentouri, Constantine 1, 151p.
- Benabdi, B., & Otmani, A. (2019).** Evaluation des activités antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Citrus reticulata*. Mémoire de Master, université Akli Mohand Oulhadj, Bouira 71p.
- Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées stockées. Mémoire, université Mohammed V-Agdal, Rabat, Maroc. 61p.
- Bendali, A., Oulebsir, C., El' hadi, D., & Djazouli, Z.E. (2019).** Impact de la formulation sur le potentiel antifongique de l'huile essentielle du bigaradier *citrus aurantium*. *Revue Agrobiologia* 9(2), 1677-1693.
- Benlahbib, S. (2013).** Composition chimique et activité biologique d'huile essentielle de *citrus aurantium*. Mémoire de master université Amar Téliidji Laghouat, 57p.
- Bereksi, Y & Reguig, L. (2016).** Interaction entre l'huile essentielle de *Thymus capitatus*, *Mentha pipérita* *Carthaus caeruleus* et de leur composant majoritaire : effet du synergisme ou d'antagonisme sur activité antioxydant. Mémoire de master, université Abou Baker Bel kaid, Tlemcen, 48p.
- Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M., & Gaset, A. (1988).** Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie. *Informations chimie*, (298), 179-184.
- Besombes, C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de Doctorat, université de La Rochelle, France, 120p.
- Bessedik, M., & Khenfer, B. (2015).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Mémoire de Master, université de Kasdi Merbah, Ouargla. 64p.

- Bouacha, H ., Khafrabi, N & Seghairia, D. (2017).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans*. Mémoire de master, université 8 Mai 1945, Guelma, 75p.
- Bouaine, A. (2017).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de deux plantes aromatique et médicinales : Lentisque et Myrte. Mémoire de Master, université Sidi Mohammed Ben Abdellah ,44p.
- Bouchekrit, M, (2018).** Etude de la composition chimique de l'activité biologique des huiles essentielles deux apiacae *Elaeolinum asclepium* (L.) Bertol et *Margotia gummifera* (Dessf.) Lange. These de doctorat, université Ferhat Abbas Sétif 1, 159p.
- Bouchnek, F., Degaichia, H., Lamgharbi, A., & Benrebiha, F. (2018) .** Evaluation in vitro du potentielle antifongique d'huile essentielle des extraits méthanoïque d'une Astéracée *Artimasia asinhuim* L. *Revue Agrobiologia*, 8(1), 886-895.
- Bouhaddouda, N. (2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat, université Badji Mokht Annaba, 167p.
- Boukhenoufa, A., Meddah, A.T.T., Meddah, B., Gabaldón, J.A, & Sonnet, P. (2019).** Comparative study of *Artimisia herba alba* asso and Citrus aurantium essantail oil. *Journal Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 9 (3) 622-627.
- Boutigny, A. L. (2007).** Identification dans les grains de blé dur de composés inhibiteurs de la biosynthèse des trichothécènes B par Fusarium. *PhD, University of Bordeaux I, France*.
- Boutigny, A.L., Gautier, A., Basler, R., Dauthieux, F., Leite, S., Valade, R., Aguayo, J., Ioos R & Laval V. (2017).** Un outil moléculaire basé sur le séquençage haut débit pour caractériser les Fusarium sur céréales. *Innovations Agronomiques*, 59, 55-61.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M.M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N. & Anackov, G. (2006).** Caractérisation of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 1822-1828.
- Bruneton, J., (1993).** Pharmacognosie : Phyto-chimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier. 2ème édition, Paris : 915.
- Bruneton, J., (2008).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2ème Edition. Tec & Doc .Lavoisier . Paris. P: 1188.
- Bruneton,J., (1999).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. P : 1120.
- Bubzinski, H & Mazellier, P. (2013).**Contribution a l'étude de la présence et du devenir des résidus du médicament dans les compartiments aquatiques. Thèse de doctorat, l'université de Bordeaux 1.233p.
- Bur, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International of Jornal Food Microbiology*, 94 ,223-253.
- Buronzo, M.A., (2008).** Grand guide des huiles essentielles. Hachette pratique. 254p.

## 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) de l'INRS- Institut Armand- Frappier, Université de Laval, Québec, Canada, 89p.
- Chaibe, I., Zarrad, K., Sellam, R., Tayeb, W., Ben hammouda, A., Laarif, A., & Bouhamchem S. (2017).** chemical composition and alphicidal of citrus aurantium peel essential oils. *Entomologia Generalis*. 37(1).63-75.
- Cseke, L.J & Kaufman. (1999).**How and why these compounds are synthesized by plants. page 37-90 in P.B. kuaufman,L.J. Cseke,S.Warber,J.A Duke et H.L. Brielman (eds), Natural product from plants .*CRC Press, Boca Raton, FL*.

## D

**Da silva Ramos, R., Rodrigues, A.B.L., Fraix, A.L.F., Simoes, R.C., Pinheiro, M.T., Ferreira, R.M.D.A.,... & de Almeida, S.S.M.D.S.(2017).** Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *mentha piperita* L.(Lamiaceae). The scientific world journal, 1-8.

**Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat, université de Marseille, France 172p.

**Dettere, S. (2012).** Influence des étapes de production du parfum issu des écorces d'orange amère (*Citrus aurantium L ssp amara*) sur la qualité aromatique. L'institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement Agro Paris Trch, 211p.

**Djaber, M. I., Benlahbib, K., & Gourine, L. D. (2019).** Evaluation de l'activité antifongique de six huiles essentielles vis-à-vis de quelques formes spéciales de *Fusarium oxysporum*. Mémoire de master, université Amar tldji, Laghuat, 82p.

## E

**El Ajjouri M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., & 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. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(4), 345-351.

**El haïb, A. (2011).** Valorisation des terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de Doctorat, université Paul Sabatier, Toulouse III, France, 157 195 p.

**Elhouiti, F. (2018).** Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités. Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah, Ouargla, 144p.

## **F**

**Fabre, N. (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat, université de Paul Sabatier Toulouse III, France, 204p.

**Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., & Chemat, F. (2010).** Citrus d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions .Ed. Office des publications universitaires, Alger, 157p.

## G

**Ghédira, K., & Goetz, P. (2015).** *Citrus aurantium L* var. amarLink. *Phytothérapie*, 13, 320-327

**Greche, H., Ouedrhiri, W., Bouhdid, S., Balouiri, M., Lalami, A. E., Moja, S., & hahdi, F.O. (2015).** Chemical composition of *Citrus aurantium L.* leaves and zest essential oils, their antioxidant, antibacterial single and combined effects. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(1), 78-84.

**Guignard, J.L. (2000).** *Biochimie végétale*. Masson. Paris, 166.

## H

**Hadipanah, A., Ghahremani, A., Aghaee, K., Zolfaghar, M., & Ardalani, H. (2015).** Four Ecotypes of *Mentha piperita* in Iran, Phytochemical study. *Biological Forum An International Journal* 7(1), 1796-1801.

**Hadjadji, A., & Chemlel, M. (2018).** Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes. Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945, Guelma, 62p.

**Haj Ammar, A., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Romdhane, M., & Zagrouba, F. (2012).** Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium L.* flowers essential oil (Neroli oil). *Pak. J. Biol. Sci.*, 15, 1034–1040.

**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.

**Houmairi, H., Oubayoucef, A., & Benchakroune, I. (2017).** Haute prévalence de *Fusarium* spp. Associés aux grains de céréales dans la région centrale du Maroc: risques pathogénique et toxigène. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* 6 (3), 355-361.

**K**

**Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.

**Kelen, M. & Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Biores. Technol*, 99, 4096 - 4104.

**L**

**Lagha-Benamrouche, S, Addar, L., Boudershem, H, Tani, S& Madani, k. (2017).** Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles, *Nature and technology*, (18) ,28-35.

**Laghchimi, A., Znini, M., Majidi , I., Renucci, F., El Harrak, A. & costa, J. (2014).** Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(1), 1770-1780.

**Laghouiter, O.K., Gherib, A., & Laghouiter, H. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* ,8 (1), 84-93.

**Laib I.(2011)** .Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : sur moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister, université Mentouri, Constantine, 121p.

**Laib, I. (2012).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. *Revue Nature & Technologie*, 07, 44-52.

**Lakhdar, L. (2015).** Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur d'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, étude in vitro .Thèse doctorat, université de mohammed V, Rabat, 178 p.

- Lakhrissi, B., Boukhraz, A., Barrahi, M., Hajar, EL Hartiti, H & Ouhssine, M. (2016).** Antifungal activity of essential oil of Oregano (*Origanum Vulgare*), Marjoram (*Origanum Majorana*) and Synergy of Two Essential Oils against *Candida Albicans*. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technolog*, 3(12), 14-17.
- Lboumhamdi, A., Znini, M., Paolini, J., Costa, J & Lhou, M. (2018).** Composition chimique et biocontrôle de l'huile essentielle des graines de cèleri (*Apium graveolens* L.) contre *Botrytis Cinerea* après la récolte des pommes. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 2(9), 292-300.
- Likibi, B.N., Tsiba, G., Madiélé, A.B, Nsikabaka, S., Moutsamboté, J.M., & Ouamba J.M. (2015).** Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperata* L. (Lamiaceae) du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 92, 8578 - 8585.
- 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.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., & Smadja, J., (2004) a.** Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043, 323-327.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., & Smadja J. (2004) b.** An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices », *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 134-138.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S., & Salunkhe, D. K. (1996).** Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspectives. *Marcel Dekker, Inc.* New York. P: 65.

## M

- Mahmoud, E. A., & Yousif, H. A. (2015).** Effet antifongal of essential oil extracted from the yellow peel of *Citrus aurantium* on some fungi. *International Journal of Research in Science and Technology*, 5, 128-135.

- Mahmoudi, Z., & Touati, I. (2017).** Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* et de *Thymus numidicus* sur la croissance de l'oïdium sur les cultures maraichères. Mémoire de Master, université de Boumerdèse, 65p.
- Maidi, L. (2014).** Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des extraits d'*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie. Mémoire de magister, université Ziane Achour, Djelfa, 128p.
- Maihebiau, P. (1994).** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs, Lausanne, 635.
- Manner, H. I., Richard, S., Easton, S. V., Ward, D., & Elevitch, C. R. (2006).** Citrus (citrus) *Fortunella* (kumquat). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, 2, 1-35.
- Mayer, F. (2012).** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse de Doctorat, université de lorraine, 82p.
- Meflah, S. (2015).** caractérisation des huiles essentielles de citron (feuilles, fruits) de la région de 'Ouargla. Mémoire de master, université de Kasdi Merbah Ouargla. 43p.
- Meghazi, N. (2012).** Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Mémoire de magistère, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harach. Algérie, 84p.
- Mehani, M., Segni, L., Terzi, V., Morcia, C., Ghizzoni, R., Goudjil, M.B., & Bencheikh S.E. (2015).** Antibacterial, antifungal activity and chemical composition study of essential oil of *Mentha pépíríta* from the South Algerian. *Der Pharma Chemica*, 7(12), 382-387.
- Merghache, S., Hamza, M & Tabti, B. (2009).** Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. De Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).
- Meziani, L., & Saidoune, S. (2019).** Activités anti-oxydantes et antimicrobiennes des différentes parties de la bigarade. Mémoire de master, université d'A. Mira, Bejaia, 59p.

- Moghtader, M. (2013).** In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*, 7(11), 521 -527.
- Mohammadi, R., Khoobdel, M., Negahban, M., & Khani, S. (2019).** Nanoemulsified *Mentha piperita* and *Eucalyptus globulus* oils exhibit enhanced repellent activities against *Anopheles stephensi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 12(11), 520.
- Mohammedi, Z., & Atik, F. (2012).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue Nature & Technologie*, 6, 34 – 39.
- Morcia, C., Mehani, M., Salhi, N., Nazari, L., Khelil, A., Bara, A., Ghizzoni, R., Tumino, G & Terzi, V.(2015).** On the role of natural compounds in mycotoxigenic fungi control. In: A. Mendez-Vilas editor. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*, 193-198.
- Mouhi L. (2015).** Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielle de plant de la flore algérienne élaboration d'une forme pharmaceutique .Thèse Doctorat, université Houari Boumediene. 144p.

## N

- Nicolas, B. (2012).**Caractérisation de la diversité des espèces de fusarium et de leur potentielle de mytotoxinogène sur céréales française .Mémoire de stage, université de lorraine, France, 34p.

## O

- Okla, M.K., Alamri, S.A., Salem, M.Z., Ali M.H., Behiry, S.I., Nasser, R., Alaraidh, I.A., Ghtani, S.M & Soufan W. (2019).** Yield, Phytochemical Constituents, and Antibacterial Activity of essential oils from the leaves/twigs, branches, branch wood, and branch bark of Sour orange (*Citrus aurantium* L.). *Processes*, 7,367.
- Ouarghidi, A., & Abbad, A. (2020).** Étude ethnobotanique, ethno-taxonomique et ethnoécologique de *Anacyclus pyrethrum* var.*pyrethrum* (L.) Link. (Asteraceae) dans la vallée d'Ait Mhamed (Région d'Azilal, Maroc). *Revue d'ethnoécologie*,1-11.

**Ouis, N. (2015).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Mémoire de doctorat, université oran1, 223p.

**Piochon, M. (2008).** Etude des huiles essentielles des espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire de doctorat, université du Québec, Canada.213p.

## P

**Pirgozliev, V. R., Birch, C. L., Rose, S. P., Kettlewell, P. S., & Bedford, M. R. (2003).** Chemical composition and the nutritive quality of different wheat cultivars for broilerchickens. *British poultry science*, 44(3), 464-475.

**Prapagdee, B., Kuekulvong, C., & Mongkolsuk, S., (2008).** Antifungal potential of extracellular metabolite produces by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi. *International journal biological science*, 4, 330-337.

## R

**Radan, M., Parcina, A., & Burcul, F. (2018).**Chemical composition and antioxidant activity of essential oil obtained from bitter orange peel (*Citrus aurantium L.*) using two methods. *Croatica Chemica Acta*, 91(1), 125–128.

**Reddy, D.N., Al-Rajab, A.J., Sharma, M., Moses, M.M., Reddy, G.R., Albratty, M. (2017).**Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha piperita L.* (peppermint) essential oils. *J. King. Saud. Univ. Sci.*

**Richard F., (1992).** Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc. P : 1228-1242.

## S

**Salhi, N., Goumni, Z., Salhi, A., Mehani, M., & Terzi, V. (2015).** Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huille essentielles de *Laurus Nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide*. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 8 (2), 34- 44.

**Sanei-Dehkordi, A., Sedaghat, M.M., Vatandoost, H., & Abai, M.R.( 2016).** Chemical compositions of the peel essential oil of *Citrus aurantium* and its natural larvicidal activity against the malaria vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) in

comparison with Citrus paradise. *Journal Arthropod- Borne Diseases*, 10(4), 577–585.

**Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. (2013).** Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium L.* growing in Greece. *Molecules*, 18, 10639-10647.

**Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Fougrach, H., Bourkhiss, B., ... & Talbi, M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 146, 85-96.

**Schem, B., Balmas, V., Spaus, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2012).** fusarium culmorum causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *molecular plant pathologiy*, 14(4), 323-341.

**Soilhi, Z., Rhimi, A., Heuskin, S., Fauconnier, M. L. & Mekki, M. (2019).** Essential oil chemical diversity of tunisian mentha spp. Collection. *Industrial crops and products*, 131, 330-340.

**Sokovic, M.D., Vukojević. J., Marin. P.D., Brkić. D.D., Vajs.V., & Van Griensven .L.J.L.D. (2009).** Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities. *Molecules*, 14(1), 238-249.

## T

**Toure, D. (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatique médicinale de Coté d'Ivoire. Thèse de doctorat, université Félix Houphouet Boigny, Coté d'Ivoire, 113p.

**Trabelsi, D., Ammar, A., Bouabdallah, F., & Zagrouba, F. (2014).** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and methanolic extracts of Tunisian *Citrus aurantium L.* *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(5), 18-27.

## V

**Verma, R.K., Chaurasia L., Kumar M. (2011).** Antifungal activity of essential oils against selected building fungi. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(4), 448-451.

**Z**

**Zarrad, K., Chaieb, I., Ben Hamouda, A., Bouslama T., & Laarif, A. (2017).**Chemical composition and insecticidal effect of *Citrus aurantium* essential oil and its powdery formulation against *Tuta absoluta*. *Tunisian Journal of Plant Protection* 12, 83-94.

# *Annexes*



## Annexes

### Annexe I

#### Composition des milieux de culture utilisés :

##### 1-Potatoes Dextrose Agar (PDA : pour les champignons)

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle a été effectuée sur un milieu solide,

PDA : (Potato Dextrose Agar).

Pomme de terre pelées.....200 g

Glucose.....20 g

Agar-agar.....15 g

Eau distillée..... 1 L



**Figure :** Dispositif de préparation du milieu de culture PDA

##### 2. Solution d'Agar 0,2%

Agar-agar.....2 g

Eau distillée.....1 L

## Annexe II

Composition chimique des huiles essentielles de *Citrus aurantium*.

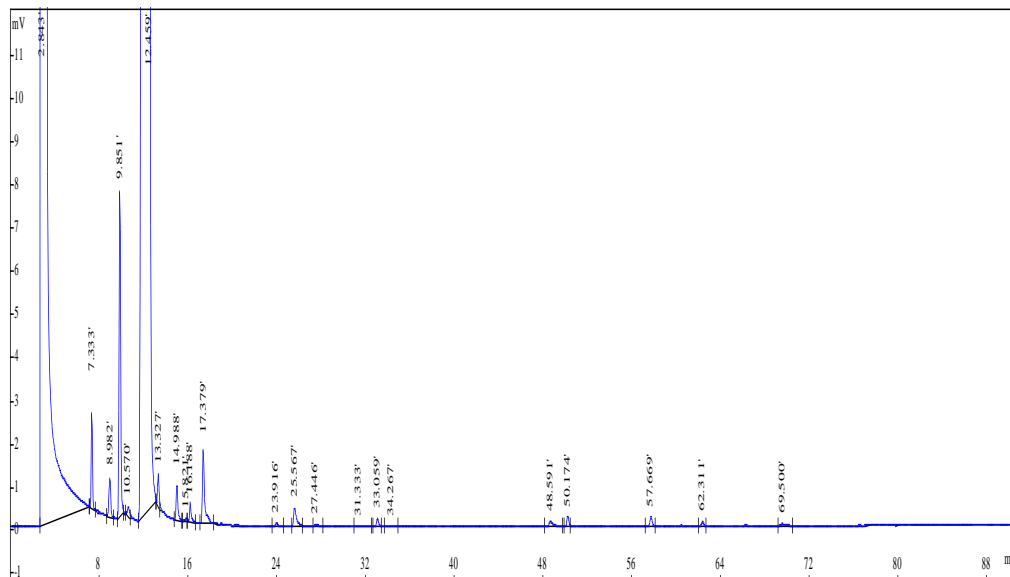
N°	IRL	Composé	Pourcentage
1	930,6864	$\alpha$ -Pinène	0,404
2	972,9252	Sabinène	0,224
3	995,1844	Yomogi alcool	1,68
4	1007,1863	$\alpha$ -Phellandrène	0,051
5	1035,8359	Cis- $\beta$ -Ocimène	96,07
6	1048,6894	Trans- $\beta$ -Ocimène	0,150
7	1073,2859	Linalool oxyde	0,193
8	1085,6212	Trans -linalool oxyde	0,022
9	1091,0558	terpinolène	0,082
10	1106,0772	Cis-thujone	0,487
11	1173,7550	Térpinène-4-ol	0,028
12	1190,8479	myrténol	0,164
13	1208,7127	verbénone	0,027
14	1242,7495	Carvone	0,024
15	1257,8633	pipéritone	0,055
16	1463,0325	1 ,2-Epoxy Menthyl acétate	0,072
17	1501,3329	Bicyclogermacrène	0,034
21	1562,7616	Oxyde de caryophyllène	0,042
<b>Total identifié : 99,809 %</b>			
<b>Hydrocarbures Monoterpéniques : 96,981 %</b>			
<b>Monoterpènes oxygénés : 2,68 %</b>			
<b>Total monoterpènes: 99,661%</b>			
<b>Hydrocarbures sesquiterénique: 0 ,0344 %</b>			
<b>Sesquiterpènes oxygénés: 0,042 %</b>			
<b>Total sesquiterpènes: 0,0764%</b>			
<b>Autre: 0,07282%</b>			

## Annexe III

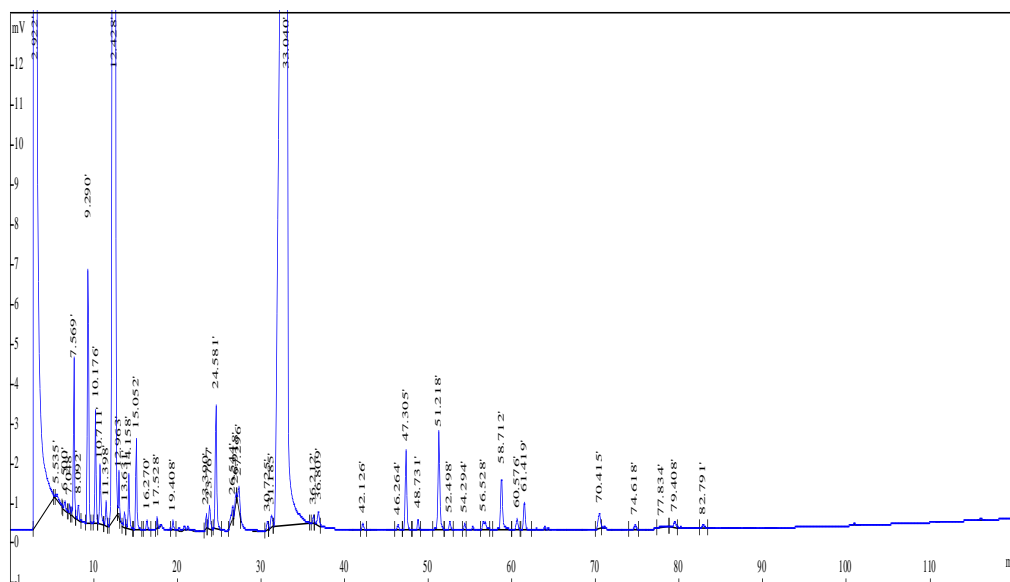
Composition chimique des huiles essentielles de *Mentha piperita*.

N°	IRL	Composé	Pourcentage
1	923.3862	Tricyclène	0.068
2	936.7315	Camphène	1.14
3	950.1280	$\alpha$ -Fenchène	0.119
4	980.8145	Sabinène	2.442
5	1002.0139	$\alpha$ -Phellandrène	0.853
6	1009.9511	$\alpha$ -tépinène	0.541
7	1020.1243	m-Cymène	0.195
8	1035.3768	Cis- $\beta$ -Ocimène	31.16
19	1043.2992	Trans- $\beta$ -Ocimène	0.291
10	1053.1911	$\gamma$ -terpinène	0.121
11	1060.9951	Cis-sabinène hydrate	0.404
12	1074.2336	Cis-linalool oxide (furanoid)	0.763
13	1092.2701	terpinolène	0.119
14	1107.6198	Cis-thujone	0.100
15	1127.0835	Chrysanthenone	0.112
16	1168.3093	Neo-menthol	0.166
17	1172.2124	Téropene-4-ol	0.255
18	1180.6398	menthol	1.296
19	1200.8143	p-Cymene-8-ol	0.285
20	1207.3992	vérbénone	0.26
21	1237.4255	Cis-carvéol	0.113
22	1241.4535	Carvone	0.165
23	1257.6970	Pipéritone	53.8
24	1285.4728	Thymol	0.083
25	1335.0234	Pipériténone	0.102
26	1369.0838	Carvacrole acétate	0.103
27	1471.6275	1,2-Epoxymentyl mentyl acétate	0.724
28	1486.9880	$\gamma$ -Muuroolène	0.139
29	1493.9348	Bicyclogemaacrène	0.355
30	1570.5801	(z)-3-Hexenyl benzoate	0.238
31	1635.5476	Cubenole	0.085
Total identifié :			96.598 %
Hydrocarbures Mono terpéniques :			37,049%
Monoterpènes oxygénés :			58.007 %
Total monoterpènes:			95.056%
Hydrocarbures sesquiterénique :			0.495%
Sesquiterpènes oxygénés :			0.085 %
Total sesquiterpènes :			0.58%
Autre :			0,962%

## Annexe IV



**Figure :** Profils chromatographique de l'huile essentielle de *C.aurantium* obtenu par CPG.



**Figure :** Profils chromatographique de l'huile essentielle de *M.piperita* obtenu par CPG.

