

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي الأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Microbiologie
Option : Microbiologie Environnementale
Infectieuse

Par :
Gueffaf Hadjer et Kiboub Samah

THEME

**Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles
d'une espèce d'astéracées vis-à-vis de cinq souches de *Fusarium***

Soutenu publiquement, le samedi 04 juin 2016, devant le jury composé de:

Mme Takhi Djalila	M.A.A.	Présidente
Mlle Benabed Houda	M.A.B.	Examinatrice
Mme El Houiti Fatiha	M.A.A.	Rapporteur
Mme Aouissi Hadjer	M.A.B.	Co-rapporteur

Année Universitaire 2015/2016

Titre du mémoire : Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles d'une espèce d'astéracées vis-à-vis de cinq souches de *Fusarium*.

Nom : Gueffaf et Kiboub **Prénom :** Hadjer et Samah **Encadreur :** Elhouiti Fatiha

Résumé :

La fusariose est une maladie courante des végétaux causée par le genre *Fusarium*. Dans le but de chercher d'autres alternatives de lutte contre ce champignon phytopathogène, nous étudions dans ce travail le pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens*. Cette activité a été recherchée in vitro, sur un milieu solide gélosé par la méthode de contact direct vis-à-vis de cinq souches du genre *Fusarium*.

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation de la partie aérienne (fleurs) de la plante. La teneur de notre échantillon, en huile essentielle est de $1,16 \pm 0,2$ ml/100g de matière sèche à savoir environ 11,6 ml/Kg.

L'huile a été testée à différentes concentrations et les résultats montrent que l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration des huiles essentielles, elle varie d'une espèce fongique à une autre. L'évaluation de l'activité antifongique a permis d'obtenir des valeurs de CMI de $20 \mu\text{l/ml}$ et l'IC50 varie entre 0.5 et $1 \mu\text{l/ml}$.

Mots clés : huiles essentielles, activité antifongique, *Fusarium*, CMI, CI50.

عنوان المذكرة: تقييم نشاط الزيوت العطرية لنوع من نبات المركبات ضد الفطريات الممرضة للنباتات

المؤطر: الحويطي فتيحة

الاسم: هاجر و سماح

اللقب: قفاف و قيبوب

ملخص :

الفيوزاريوس من الأمراض النباتية الأكثر شيوعا الذي ينجم عن نوع من الفطريات المغزلية (*Fusarium*). من اجل البحث عن بدائل أخرى للحد من هذه الفطريات المسببة للأمراض، قمنا في هذا العمل بدراسة النشاط المضاد للفطريات الناتجة عن الزيوت العطرية لنبات *Asteriscus graveolens*. وتم البحث على هذا النشاط في المخبر باستعمال وسط صلب وتم تعيينه بواسطة طريقة الاتصال المباشر ضد خمسة أنواع من الفطريات التي تنتمي إلى نوع المغزلويات.

تم استخلاص الزيت العطري عن طريق التقطير البخار للأجزاء الهوائية (الأزهار). محتوى الزيت النباتي للعينة المدروسة لدينا هو 1.16 ± 0.2 مل / 100 غرام من المادة الجافة أي حوالي 11.6 مل / كغ.

تم اختبار الزيت بتركيز مختلفة وتظهر النتائج أن تثبيط نمو الفطر يزداد مع زيادة تركيز الزيوت العطرية، و يختلف الأمر من نوع فطري إلى آخر. يظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات ان القيم المثبطة الدنيا MIC تقدر ب 20 ميكرولتر/مل، وقيمة IC50 قدرت ما بين 0.5 و 1 ميكرولتر/مل.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، النشاط المضاد للفطريات، الفيوزاريوس، CMI, CI50.

Memory title: Evaluation of the antifungal activity of essential oils of a species of Asteraceae vis-à-vis five *Fusarium* strains.

Name: Gueffaf et Kiboub **First name:** Hadjer et Samah **Directed by:** Elhouiti Fatiha

Abstract:

Fusarium head blight is a common disease of plants caused by the genus *Fusarium*. In order to seek alternatives to fight this phytopathogenic fungi, we study in this work the anti-fungal power of *Asteriscus graveolens* essential oil. This ability has been realized *in vitro* on a agar solid medium by the method of direct contact with five strains of *Fusarium* genus.

The essential oil was extracted by steam distillation of the aerean part of the plant (flowers). The essential oil content is about 1.16 ± 0.2 ml / 100g of material dry, approximately 11.6 ml/kg.

The oil has been tested at different concentrations and the results show that the inhibition of mycelial growth increases with the concentration of essential oil, it varies from one fungal specie to another. The MIC values have been estimated at 20 μ l/ml and the IC50 varies between 0.5 and 1 μ l/ml.

Key words: essential oils, antifungal activity, *Fusarium*, CMI, IC50.

Dédicaces

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

A :

*Mes très chers parents avec toute ma reconnaissance. A ma chère
maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que
j'atteigne ce niveau.*

*Mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et
encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour
moi d'un grand réconfort.*

Mes chers grands parents

Mes chers frères Youcef, Said, Lamine et Rafik.

Mes deux familles paternelle et maternelle.

Mon fiancé Hamza Taieb Rahmani

Ma belle famille

Ma chère amie Samah

*Mes chères copines Abla, Aridj, Amina, Khadidja, Hadjer et tous
mes camarades de la promotion.*

Hadjer

Dédicaces

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

A :

*Mes très chers parents avec toute ma reconnaissance. A ma chère
maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que
j'atteigne ce niveau.*

*Mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et
encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour
moi d'un grand réconfort.*

Ma chère grand-mère

A la mémoire de mes oncles

Ma chère sœur Ikram

Mes chers frères Walid et Imad

Mes deux familles paternelle et maternelle.

Mes chères amies Hadjer et Aridj

Mes chères copines et tous mes camarades de la promotion.

Samah

Remerciements

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

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

Nous remercions vivement les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

Sans oublier de remercier l'ensemble du personnel de laboratoires de biologie et de l'ENS de Laghouat d'avoir mis à notre disposition le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail.

Nous voudrions aussi exprimer toute notre gratitude et nos remerciements à tous les enseignants de Master de "Microbiologie" à l'Université Amar Telidji, Laghouat.

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

Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction.....	02

Etude bibliographique

I.1. Les huiles essentielles.....	05
I.1.1. Histoire et origine des huiles essentielles.....	05
I.1.2. Définition des huiles essentielles.....	06
I.1.3. La localisation et lieu de synthèse.....	06
I.1.4. Le rôle physiologique.....	07
I.1.5. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	07
I.1.5.1 Propriétés physiques.....	07
I.1.5.2. Composition chimique.....	07
I.1.6. L'extraction des huiles essentielles.....	09
I.1.6.1. Choix de la méthode d'extraction.....	09
I.1.6.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	10
A. La distillation.....	10
A.1.Hydrodistillation simple.....	10
A.2.Entrainement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée).....	10
A.3.Hydrodiffusion.....	10
A.4.Hydrodistillation par micro-ondes sous vide.....	10
B. L'expression à froid.....	11
I.1.7. Toxicité des huiles essentielles.....	11
I.1.8. Conservation des huiles essentielles.....	11
I.1.9. Activité biologique des huiles essentielles.....	12
I.1.9.1. L'activité anti-infectieuse.....	12
I.1.9.2. L'activité antioxydante chez les huiles essentielles.....	13
I.1.9.3. Anti-inflammatoires.....	14

Matériels et méthodes

II.1. Matériels.....	16
II.1.1. Matériel végétal (huiles essentielles testées).....	16
II.1.1.1. La description botanique de la plante.....	16

II.1.1.2. Usages en médecine traditionnelle.....	17
II.1.1.3. La systématique de la plante.....	17
II.1.2. Matériel fongique (souches phytopathogènes étudiées).....	18
II.1.2.1. Les souches fongiques.....	18
II.2. Méthodes expérimentales.....	20
II.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	20
II.2.1.1. Le procédé d'extraction.....	20
II.2.1.2. La teneur en huile essentielles.....	20
II.2.2. L'étude de l'activité antifongique.....	21
II.2.2.1. La pré-culture des champignons.....	21
II.2.2.2. L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct.....	21
II.2.3. Analyse statistique.....	22
Résultats et discussion	
III.1. La teneur en huile essentielle.....	24
III.2. L'évaluation de l'activité antifongique.....	24
III.2.1. La cinétique fongique.....	24
Conclusion générale.....	35
Références bibliographiques.....	38
Annexe.....	46

Liste des tableaux

Tableau 01 :	La systématique de l'espèce <i>Asteriscu sgraveolens</i>	17
Tableau 02 :	Références et origines des souches fongiques étudiées.....	18
Tableau 03 :	La taxonomie du genre <i>Fusarium</i> selon (Link., 1809).....	18

Liste des figures

Figure 1 :	Unité isoprénique (C5).....	08
Figure 2 :	monocyclique : thymol.....	09
Figure 3 :	acyclique : myrcène.....	09
Figure 4 :	photo de plante prise à l'endroit de la récolte.....	16
Figure 5 :	Photo illustrant l'effet d'HE (fleurs), à différentes concentrations, sur la croissance de la souche <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	25
Figure 6 :	Variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (Foa) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE de notre échantillon.....	25
Figure 7 :	Variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE de notre échantillon.....	26
Figure 8 :	Variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lisi</i> (Fop) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE de notre échantillon.....	26
Figure 9 :	Variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium culmorum</i> 124 (Fc 124) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE de notre échantillon.....	27
Figure 10 :	Variation du diamètre de croissance de <i>Fusarium culmorum</i> 319 (Fc 319) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE de notre échantillon.....	27
Figure 11 :	Comparaison entre les taux d'inhibitions des huiles essentielles testées (fleurs) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées.....	28
Figure 12 :	Taux d'inhibitions des IC50 et des CMI des extraits vis-à-vis des cinq souches testées.....	30
Figure 13 :	Taux d'inhibition de F1 et F2 en fonction de la concentration d'huile essentielle d'A. herba alba.....	32
Figure 14 :	Photos illustrants l'effet d'HE à différentes concentrations sur la croissance des souches testées. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (Foa), <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol), <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lisi</i> (Fop) et <i>Fusarium culmorum</i> 319.....	48

Liste des abréviations

AFNOR	: Association française de normalisation
ANSM	: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
°C	: Degré Celsius
CI50	: Concentration inhibitrice à 50%
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
F	: <i>Fusarium</i>
FC	: <i>Fusarium culmorum</i>
FOA	: <i>Fusarium oxysporum f.sp albedinis</i>
FOL	: <i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i>
FOP	: <i>Fusarium oxysporum f.sp pisi</i>
F.sp.	: Forme spéciale
G	: Gramme
H	: Heure
HE	: Huile essentielle
I (%)	: Pourcentage d'inhibition
J.-C	: Jésus-Christ
µl	: Microlitre
ml	: Millilitre
Mm	: Millimètre
PDA	: Potato Dextrose Agar
Kg	: Kilogramme
SRPVG	: La Station Régionale de la Protection des Végétaux de Ghardaïa
T%	: Teneur en huile essentielle
V	: Volume

Introduction

Introduction générale

Historiquement, l'homme a utilisé son environnement et en particulier les plantes médicinales pour traiter différentes maladies. Aujourd'hui On estime que les deux tiers des médicaments actuels sont d'origine naturelle, obtenus par hémisynthèse ou par modification d'un produit naturel et seulement un tiers des médicaments commercialisés ont une origine purement synthétique (Ismaili et *al.*, 2014) . Ces plantes qui demeurent la principale source de substances naturelles de plus en plus utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques ou agro-alimentaires occupent une place de choix dans l'agriculture, l'industrie, la recherche scientifique, la médecine et l'environnement. D'ailleurs, les plantes médicinales sont considérées comme une richesse pour les pays en voie de développement. Pour près de 90% de la population, dans certains pays d'Afrique, les plantes médicinales représentent l'unique source de remèdes thérapeutiques traditionnels. L'Algérie est dotée d'une biodiversité végétale, avec un très grand nombre de plantes utilisées comme herbes, et à des fins thérapeutiques.

Sa flore comporte de milliers d'espèces présentant, dans une certaine mesure, une matière pour la recherche scientifique.

Parmi les milliers de molécules produites par le métabolisme secondaire des plantes, l'homme sélectionne, régulièrement, celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions des autres, agents physiques et organismes vivants pathogènes, et de corriger ses troubles métaboliques ; entre autres, les huiles essentielles.

Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique (Dung et *al.*, 2008).

Plusieurs espèces de la famille des astéracées sont connues pour leur production d'huiles essentielles et sont utilisées en médecine traditionnelle pour leurs vertus thérapeutiques et leurs effets biologiques contre plusieurs maladies.

Les moyens de luttés directes contre les agents phytopathogènes ont fait penser longtemps que l'on pouvait faire abstraction des moyens préventifs. En revanche, l'Agriculture Biologique se base sur les préceptes des équilibres naturels.

Des études récentes et des perspectives menées à comprendre comment nous pouvons éliminer naturellement avec des produits naturels une population de *Fusarium*.

Dans ce contexte, et en se basant sur des travaux antérieurs, notre objectif s'est fixé à valoriser le potentiel antifongique d'*Asteriscus graveolens*, une plante qui pousse à l'état spontané dans différentes régions du sud saharien, et cela en testant des huiles essentielles extraites de ses parties aériennes (fleurs).

Nous avons choisi d'entamer le manuscrit par une étude bibliographique où sont traitées quelques généralités liées à notre sujet d'étude.

La partie pratique, deuxième partie de ce document : Dans cette partie nous avons testé l'activité antifongique de l'huile essentielle sur la croissance de cinq champignons phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium*, en appliquant la méthode de contact direct.

La troisième partie du mémoire a été consacrée à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Enfin, nous terminerons cette étude par une conclusion générale.

Étude bibliographique

Partie I : Etude bibliographique

I.1. Les huiles essentielles

Depuis des siècles, l'homme a utilisé les plantes dans plusieurs domaines, tels que la parfumerie, la pharmacologie et l'agroalimentaire, grâce à leurs propriétés découvertes par hasard. Les plantes produisent un grand nombre de composés, dont, il n'y a pas très longtemps, on ne connaissait pas le rôle pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires. C'est après le développement de la chimie que les huiles essentielles extraites de plantes commencent à livrer leurs secrets et leurs composants principaux ont été identifiés. Actuellement, plus de 100 000 substances sont connues. Des recherches récentes ont montré que bon nombre d'entre elles ont un rôle défensif pour les plantes (Anton, 2005).

I.1.1. Histoire et origine des huiles essentielles

Les premiers rapports sur la fabrication et l'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Baser et Buchbauer, 2010).

Reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques et utilisées depuis des millénaires en Chine (cannelle, anis, gingembre), en Inde, au Moyen Orient (khella, pin, fenouil...), en Egypte, en Grèce, en Amérique (Azèques, Mayas, Incas : bois de Hô, sassafras) et en Afrique (encens, myrrhe, ravensare), les huiles essentielles tombent dans l'oubli au Moyen Age. A ce moment, l'Europe connaît un retour à la barbarie déclin général du savoir. Il faudra attendre l'arrivée des Arabes pour assister à un nouvel essor de la médecine par les plantes qui retrouvent alors une place de choix dans l'arsenal thérapeutique de l'époque (Zhiri et al., 2005).

L'extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau naît à l'époque de la révolution industrielle et permet le développement de produits alimentaires et de parfums.

Au début du XXème siècle, des chercheurs (Chamberland, Cadéac, Martindale) démontrent, par leurs expérimentations, le pouvoir antiseptique des huiles essentielles. Mais les véritables «pères» de l'aromathérapie sont Gattefossé puis Valnet et ses disciples. R.M. Gattefossé, pionnier de la parfumerie moderne se brûlant les mains lors d'une

explosion dans son laboratoire, a le réflexe génial de plonger ses mains dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande.

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

I.1.2. Définition des huiles essentielles

La norme AFNOR NF T 75-006 (février 1998) a donné comme définition d'huile essentielle (essences est synonyme d'huiles volatiles): «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche».

Selon ANSM : « 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.» (ANSM 2008).

Donc ce sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau pressage ou incision des végétaux qui les contiennent (Teuscher et *al.*, 2005). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (Sanon et *al.*, 2002). Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie.

I.1.3. La localisation et lieu de synthèse

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

De plus la composition chimique de l'huile essentielle d'une même espèce végétale peut varier selon sa localisation. C'est le cas de l'orange amère, par exemple, le zeste

fournit l'«essence de curaçao» la fleur fournit l'«essence de Néroli», et les feuilles, ramilles et petits fruits «l'essence du petit grain bigaradier». La composition de ces trois huiles essentielles et cependant est très différentes (Bruneton, 2009).

I.1.4. Le rôle physiologique

La fonction des huiles essentielles dans la plante reste obscure. Il a été pensé qu'elles ont un rôle écologique. Leur rôle d'inhibiteur de la germination a été prouvé expérimentalement, ainsi que leur rôle dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs (Bruneton, 2009). Elles ont une odeur agréable et donnent à la plante un arôme typique (thym, lavande, roses...) (Heldt H.W., Piechulla B., 2011) (Baser K.H.C., Buchbauer G., 2010).

Elles semblent avoir, aussi, pour rôle, la conservation de l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques, par leurs vapeurs aromatiques qui saturent l'aire autour de la plante (Belaïche, 1979).

I.1.5. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

I.1.5.1 Propriétés physiques

Sont acres, inflammable et très odorants. Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Sont généralement insolubles dans l'eau et solubles dans l'alcool. Leur densité est inférieure à celle de l'eau (0.759 à 1.096). Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.

I.1.5.2. Composition chimique

Les composants des huiles essentielles sont généralement dits aromatiques, en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique ; ce qui pourrait prêter à confusion (Pibiri, 2005). Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe pouvant contenir plus de 300 composés différents (Croteau et *al.*, 2000).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- ❖ Le groupe de terpénoïdes ;
- ❖ Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après Pibiri (2006), la structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon Mailhebiau (1994), cette structure varie en fonction :

- ✓ Du nombre d'atomes de carbone qui les constitue : Les monoterpènes, Les sesquiterpènes, Rarement les diterpènes.
- ✓ Du caractère saturé ou insaturé des liaisons ;
- ✓ De leur agencement : linéaire ou cyclique ;
- ✓ De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...);
- ✓ De la nature des groupes fonctionnels à savoir : Terpènes : $R_1-HC=CH-R_2$;

Alcools terpéniques: $R-OH$, Cétones: R_1-CO-R_2 , Phénols: C_6H_6-OH , Aldéhydes: $R-CHO$, Esters: $R_1-COO-R_2$, Ethers: R_1-O-R_2 .

➤ Les terpènes et les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette isoprénique à 5 atomes de carbone de C_5H_8 (figure 01). Les terpènes contenant de l'oxygène sont appelés « terpénoïdes » (Hernandez-ocoa, 2005).

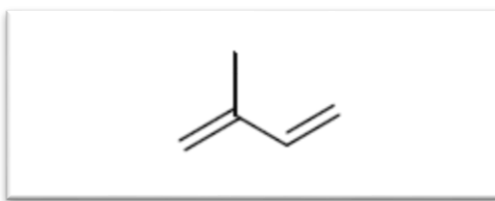


Figure 01 : Unité isoprénique (C₅).

Ils sont divisés selon le nombre d'unités isoprènes :

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

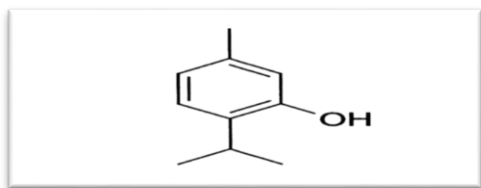


Figure 02 : monocyclique : thymol.

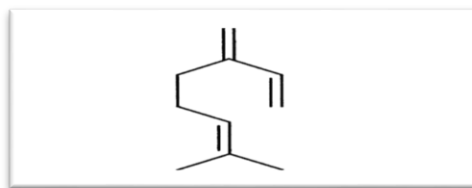


Figure 03 : acyclique : myrcène.

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

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

➤ Composés aromatiques

Beaucoup moins fréquents que les Terpénoïdes, ce sont des dérivés du Phénylpropane (C₆-C₃) ou en C₆-C₁ dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) (Cohen, 2013).

➤ Les composés d'origines diverses

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

I.1.6. L'extraction des huiles essentielles

I.1.6.1. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fernandez et *al.*, 1995).

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;

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

I.1.6.2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

A. La distillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Ce procédé se base sur le fait que les composants odorants volatils, contenus dans le végétal, sont entraînés par des aérosols de vapeur, à cause de leur point d'ébullition, relativement bas, et de leur caractère hydrophobe (ils ne sont ni retenus, ni solubilisés dans l'eau) (Verdan, 2002 ; Bruneton, 2009).

A.1. Hydrodistillation simple

Le matériel végétal (intact ou éventuellement broyé) est immergé directement dans un alambic rempli d'eau et porté à ébullition. Les vapeurs hétérogène sont condensées, refroidies, sur une surface froide, puis décantées. Par la suite, l'huile essentielle est séparée par différence de densité (Verdan, 2002 ; Bruneton, 2009).

A.2. Entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée)

Dans ce cas, le végétal n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est pulsée à travers la masse, disposée sur des plaques perforées. Les cellules se relâchent et les particules d'huile se libèrent. La récupération de l'huile essentielle se fait par la même procédure que dans l'hydrodistillation (Verdan, 2002 ; Lahlou, 2004 ; Bruneton, 2009).

A.3 Hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (entre 0,02-0,15 Bar) du haut vers le bas, à travers la masse végétale. Les composés obtenus par cette méthode sont qualitativement différents de ceux obtenus par la méthode classique. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 2009).

A.4. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide

Ce procédé permet d'extraire les huiles essentielles en un temps court, consommant peu d'énergie et d'eau et avec un rendement relativement élevé. Il consiste à chauffer sélectivement la plante par un rayonnement micro-ondes, dans une enceinte dont la

pression est réduite de façon séquentielle. Le produit obtenu est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 2009).

Certaines fleurs dont les molécules sont trop fragiles pour survivre à une hydrodistillation sont extraites soit par solvants organiques (hexane, éther de pétrole, éthanol) qui permettent l'obtention de concrètes ou d'absolues (Mimosa, Narcisse...) soit sur des supports lipidiques par la technique ancienne de l'enfleurage (Jasmin et Rose de Grasse). Les qualités organoleptiques de ces produits sont surtout exploitées dans l'industrie des arômes alimentaires et de la parfumerie (Bruneton, 2009).

B. L'expression à froid

L'expression à froid est un procédé d'extraction très simple. Il est, principalement, utilisé pour les écorces d'agrumes (citron, pamplemousse, bergamote, orange douce, orange amère et mandarine). Cette opération mécanique vise à casser les cavités contenant l'essence dans les zestes des agrumes frais. Dans ce cas on utilise le terme "essence" plutôt qu'huile essentielle (Buronzo).

I.1.7. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont dans certains cas provoqué des réactions indésirables : l'effet convulsif des huiles essentielles de camphre et d'eucalyptus chez les jeunes enfants est ainsi connu depuis longtemps. Des dangers existent et certaines associations de consommateurs réclament désormais une plus grande transparence sur le contenu des produits et aussi sur leur toxicité. C'est dans ce but que des travaux scientifiques sur la toxicité sont aujourd'hui entrepris.

En raison de la multiplicité des applications des huiles essentielles, leur toxicité et leurs dangers sont observés selon les trois voies d'exposition : inhalation, ingestion et contact (Degryse et *al.*, 2008).

I.1.8. Conservation des huiles essentielles

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

I.1.9. Activité biologique des huiles essentielles

L'utilisation des qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Les chercheurs se sont intéressés à des composés, biologiquement actifs, isolé à partir d'espèces végétales pour le contrôle des micro-organismes pathogènes qui ont fini par développer une résistance aux antibiotiques utilisés (Essawi et Srour, 2000).

I.1.9.1. L'activité anti-infectieuse

Les huiles essentielles ont toutes au moins une vertu (Maach et Jemali, 1986 ; Blayn, 1980) et on peut citer certaines :

- **Antibactérienne** : De récentes études, pratiquées sur plus d'une centaine d'huiles essentielles et de composés d'arômes, ont permis de sélectionner une trentaine d'huiles dirigées, spécifiquement, contre les quatre bactéries pathogènes les plus répandues (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) et contre les bactéries d'altération des aliments (*Pseudomonas*, *Serratia liquefaciens*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sake*) (Caillet et Lacroix, 2007).

Une collection de 20 huiles essentielles de diverses plantes ont été évaluées, en vue d'obtenir un aperçu de la susceptibilité des bactéries de la carie dentaire et estimer le potentiel des huiles dans des traitements préventifs (Deans, 2007, In Lawrence, 2007).

Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol) (Charchari et al., 1996 ; De Billerbeck, 2007 ; Satrani et al., 2007 ; Amarti et al., 2010).

- **Antivirale** : Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent de sérieux problèmes de nos jours. Les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (Shukla et al., 1989 ; Salah-Fatnassi et al., 2010 ; Tkachenko, 2006).

- **Antifongique** : Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons : *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (Kalemba et Kunicka, 2003). D'autres études ont montré l'effet antifongique des huiles essentielles (El Ajjouri et al., 2008 ; Ghfir et Dargent, 1995 ; Garg et Siddiqui, 1992).

- **Antiparasitaire** : Comme c'est le cas dans la lutte contre les bactéries, les phénols manifestent une action puissante à l'encontre des parasites. Les monoterpénols sont ici d'une efficacité proche de celle des phénols et sont très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons antihelminthiques.

Les cétones, quant à elles, possèdent une réputation antiparasitaire bien établie mais nécessitent des précautions d'emploi en raison de leur toxicité (Pierron, 2014), Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites. (Tchoumboungang et *al.*, 2009).

- **Antiseptique** : Les molécules aromatiques sont capables de détruire les germes infectieux, et de s'opposer à leur prolifération tant dans les organismes vivants que dans l'environnement.

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (Lacoste et *al.*, 1996 ; Caillard, 2003).

I.1.9.2. L'activité antioxydante chez les huiles essentielles

Les huiles essentielles et leurs composants commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (Caillet et *al.*, 2007 in Barkat et *al.*, 2007). Cependant, la recherche de nouvelles molécules s'est avérée nécessaire car, ces substances synthétiques ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation ; Elles se sont avérées responsables d'effets indésirables. En effet, le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) sont suspectés avoir des effets carcinogènes (Belhadj et *al.*, 2006 in Barkat et *al.*, 2011).

Les nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font des agents de Conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire. Le recours aux huiles essentielles s'avère être un choix pertinent face à un risque de contamination précis ou à la nécessité de réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques (Caillet et *al.*, 2007 in Barkat et *al.*, 2011).

I.1.9.3. Anti-inflammatoires

Les molécules aromatiques sont susceptibles d'agir de différentes manières sur l'inflammation. Elles possèdent également une action antihistaminique remarquable utile dans certaines formes d'allergie et en particulier l'asthme. Le chamazulène issue de l'huile essentielle de Matricaire (*Matricaria recutita*) par exemple agit de cette manière (Pierron, 2014).

Matériels et méthodes

Partie I : Matériels et méthodes

Ce travail que nous avons entrepris s'inscrit dans la continuité d'une précédente étude réalisée par d'autres personnes (Aouissi, 2013). Il s'agit ici d'une étude de l'action antifongique d'un extrait d'huile essentielle de la plante *Asteriscus graviolens* pure vis-à-vis des champignons phytopathogènes du genre *Fusarium*.

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel végétal (huiles essentielles testées)

II.1.1.1. La description botanique de la plante

Espèce saharo-arabique commune dans tout le Sahara, surtout dans les cuvettes sablo-argileuses. Sous-arbrisseau vivace touffu à tiges dressées. Les rameaux sont étalés et ils se divisent en dessous des fleurs. De grands capitules jaunes d'or entourés par les feuilles supérieures. A maturité akènes un peu arqués (Alilou, 2012). La plante a été récoltée à la fin de la saison de floraison (mois de juin 2013) d'une région du sud algérien (figure 04).



Figure04 : photo de la plante prise à l'endroit de la récolte.

II.1.1.2. Usages en médecine traditionnelle

Par infusion (une poignée de plante dans un verre d'eau) de la plante entière est utilisée, en gargarisme, pour calmer les maux de dents et de gencives, dans le même but, on mastique des feuilles fraîches. La poudre de feuilles, prise par le nez, est indiquée contre les migraines. La décoction (une poignée de plante dans une théière) de la plante est employée par les femmes pour combattre la stérilité (Bellakhdar et *al.*, 1987) .

Cette plante a été utilisée dans la médecine traditionnelle au Sahara pour traiter la fièvre, les déséquilibres des tractus gastro-intestinaux, les douleurs céphaliques, la bronchite et comme anti-inflammatoire (Cheriti, 2000).

II.1.1.3. La systématique de la plante

La systématique de l'espèce *Asteriscus graveolens* a été établie selon NCBI (Juin 2011).

Tableau 01 : La systématique de l'espèce *Asteriscus graveolens*.

Règne	<i>Plante</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Asterales</i>
Famille	<i>Asteraceae</i>
Sous famille	<i>Asteroideae</i>
Tribu	<i>Inuleae</i>
Genre	<i>Asteriscus</i>
Espèce	<i>A.graveolens (Forssk)</i>

II.1.2. Matériel fongique (souches phytopathogènes étudiées)

Pour l'activité antifongique, le choix s'est porté sur un genre de champignon phytopathogène en raison des dégâts qu'il cause aux végétaux (tableau02).

Tableau 02 : Références et origines des souches fongiques étudiées.

Souche fongique	Référence	Source
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	Isolat	LINA
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	Isolat	SRPVG (Ghardaïa)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	Isolat	Laboratoire de mycologie, faculté du Blida département d'agronomie
<i>Fusarium culmorum</i> 124 et 319	Isolat	mycotheque El-houiti

II.1.2.1. Les souches fongiques

L'agent pathogène de la fusariose

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées (Dorotée., 2013).

Tableau 03 : La taxonomie du genre *Fusarium* selon (Link., 1809).

<i>Règne</i>	<i>Fungi</i>
<i>Division</i>	<i>Ascomycota</i>
<i>Classe</i>	<i>Sordariomycetes</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Hypocreomycetidae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Hypocreales</i>
<i>Famille</i>	<i>Nectriaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Fusarium</i>

Les souches de *F. oxysporum* isolées du sol et incapables de provoquer la fusariose sur les plantes sont dites saprophytes ou non pathogène, par contre La forme pathogène semble plus importante dans la rhizosphère des variétés sensibles. Ils pénètrent dans les racines induisant soit la pourriture des racines ou Trichomycose quand ils envahissent le système vasculaire (Tantaoui, 1993).

Nous avons testé dans cette étude cinq souches de *Fusarium* dont trois *Fusarium oxysporum* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) deux souches de *Fusarium culmorum* 124 et 319.

➤ ***Le Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis***

Depuis plus de 100 ans, les palmeraies du Maroc et d'Algérie sont dévastées par un champignon du sol, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, qui provoque un dépérissement rapide du palmier dattier. Cette fusariose vasculaire, communément appelée Bayoud, affecte tout particulièrement les meilleures variétés productrices de dattes (Fernandez et al., 1995). Il a été isolé de palmier infecté du Bayoud.

➤ ***Le Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***

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

➤ ***Le Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi***

Fusarium oxysporum f.sp. *pisi* (Fop) est un agent pathogène infectant les pois, dans le monde entier (Karkachi, 2013).

➤ ***Fusarium culmorum***

Est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des *Nectriaceae*. C'est un agent phytopathogène responsable de divers symptômes tels que fonte des semis, pourriture racinaire, fusariose de l'épi, pourriture de la tige, etc. chez de nombreuses espèces de plantes mono- et dicotylédones, en particulier chez les céréales. C'est l'un des champignons responsables de la pourriture sèche du tubercule de la pomme de terre.

Chez *Leymus mollis*, graminée américaine des dunes littorales, *Fusarium culmorum* se comporte comme un symbionte non pathogène conférant à la plante une double tolérance au sel et à la sécheresse (Rusty, R., et Regina, R., 2008).

II.2. Méthodes expérimentales

II.2.1. Extraction des huiles essentielles

La plante utilisée dans notre étude a été séchée, à température ambiante et à l'abri de la lumière, durant une semaine puis broyée légèrement avant de procéder à l'extraction.

II.2.1.1. Le procédé d'extraction

L'extraction de l'huiles essentielles a été faite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil, de type Clevenger. 200g de matériel végétal (fleurs) est introduit dans un ballon de deux litres, imprégné d'un litre d'eau portée à une ébullition à l'aide d'un chauffe ballon qui est surmonté dans une colonne et connecté à un réfrigérant permettant la condensation de gouttelettes d'huile essentielle avec de l'eau. On obtient deux phases : l'eau et l'huile. Qui sont ensuite recueillies sous forme de distillat dans une ampoule à décanter.

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche (en ml par Kg de plante). Après l'ajout du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toutes trace d'eau. L'huile essentielle a été récupérée dans des flacons en verre, bien sellés, enveloppés et conservés, au réfrigérateur, à une température de $+4^\circ\text{C}$ (protection contre la chaleur, l'évaporation et la lumière).

II.2.1.2. La teneur en huile essentielles

La teneur en huiles essentielles est exprimée en volume (ml) d'HE obtenu à partir d'un Kilogramme de matière végétale (Hilan et al., 2005) :

$$T' = \frac{V}{m}$$

Où :

T' : Teneur en HE (ml/kg).

V : Volume d'HE extraite (ml).

m : Masse de la matière végétale (kg).

II.2.2. L'étude de l'activité antifongique

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

II.2.2.1. La pré-culture des champignons

Pour le *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*, l'inoculum se présente sous forme d'un disque fongique de 5 mm de diamètre, provenant d'une culture de 7 jours, sur milieu PDA à une température d'incubation de 25°C.

II.2.2.2. L'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de contact direct

Du fait de la non miscibilité des huiles essentielles avec l'eau, et donc avec les milieux de culture, leur mise en émulsion a été réalisée au préalable, en utilisant une solution d'agar agar à 0,2 % selon la méthode rapportée par Remmal *et al.*, (1993) et Satrani *et al.*, (2008), Elle permet d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des huiles essentielles et d'augmenter au maximum le contact germe/composé.

Préparation des différentes concentrations

Des dilutions sont préparées au 1/5^e, 1/10^e, 1/25^e, 1/50^e, 1/100^e et 1/200^e, dans la solution d'agar agar à 0,2 % qui a été choisie comme agent émulsifiant du fait qu'elle soit dépourvue de toute influence sur l'activité des huiles essentielles (Ouraini *et al.*, 2005). On ajoute 1,5 ml de chacune des dilutions à des tubes à essais contenant, chacun, 13,5 ml de milieu PDA, stérilisé à l'autoclave (20 min à 121 °C) et refroidis à 45 °C, de façon à obtenir les concentrations finales de 1/50, 1/100, 1/250, 1/500, 1/1.000 et 1/2.000 (v/v).

On agite convenablement les tubes afin de bien disperser l'huile essentielle dans le milieu de culture avant de les verser dans les boîtes de Pétri. Des témoins, contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2 % seule, sont également préparés (El Ajjouri *et al.*, 2008).

Après le refroidissement et la solidification de ce mélange sur la paillasse, des disques mycéliens de diamètre de 5 mm sont issus à partir de la périphérie du thalle provenant d'une culture de 7 jours, sur PDA. Ces disques mycéliens ont été prélevés avec

un emporte-pièce et inoculés au centre de chaque boîte (1 disque/boîte). Chaque concentration est répétée trois fois. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 25°C ; les mesures sont prélevées après 72 h d'incubation.

La lecture se fait par la mesure du diamètre du mycélium développé (en millimètre). Une observation à l'œil nu nous a aidés à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

L'effet fongicide a été déterminé par transfert des disques à partir des boîtes de Pétri où l'inhibition de la croissance par l'HE était totale, sur milieu PDA dépourvu d'HE. L'effet est fongistatique s'il y a croissance et fongicide dans le cas contraire (Aouissi, 2011).

La relation suivante nous a permis de calculer le pourcentage d'inhibition correspondant à chaque concentration d'huile (Aoudou et *al.*, 2010) :

$$I (\%) = \left(1 - \frac{D_0}{D_T}\right) \times 100$$

Où :

I : Pourcentage d'inhibition.

D₀ : Diamètre de la zone de croissance du témoin en mm.

D_T : Diamètre de la zone de croissance en présence d'HE.

II.2.3. Analyse statistique

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

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. La teneur en huile essentielle

Le procédé d'extraction a été poursuivi jusqu'à épuisement de la matière végétale, en huiles essentielles. Le temps d'extraction a duré de deux à trois heures. Les teneurs en huiles essentielles sont exprimées en ml d'HE par Kg de matière végétale sèche. Les durées d'extraction des huiles essentielles ont été déterminées par le suivi de la cinétique d'extraction, et ce jusqu'à la constance du volume d'huile obtenu au moment de ce procédé et la teneur a été estimée à $1,16 \pm 0,2$ ml/100g de matière sèche à savoir environ 11,6 ml/Kg de matière sèche.

Cristofaria et *al.*, 2012 ont étudié la diversité chimique de l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens* qui a été récolté au Maroc sur l'emplacement de Mellab. Le rendement en huile essentielle était environ 0.31% de la partie fleur. En comparaison avec nos résultats 1%, le rendement était plus élevé même il s'agit de la même plante .cette différence peut être due à la variation du site géographique (recueillie au Maroc) donc les conditions climatiques qui pourront être à l'origine de cette différence.

Des travaux antérieurs de Bencheqroun et *al* 2012 visés sur l'Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. La teneur moyenne en huile essentielle de cette espèce est 0,5% par rapport à la matière sèche. Ces résultats montrent que les plantes de la famille des astéracées sont moyennement riches en huiles essentielles.

III.2. L'évaluation de l'activité antifongique

Pour évaluer L'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens* sur la croissance des cinq souches de champignons à tester, nous avons adopté la technique de contact direct sur gélose à différentes concentrations. Le suivi des diamètres de croissance durant les 7 jours d'incubation, nous a permis d'avoir les résultats suivants.

III.2.1. La cinétique fongique

Les résultats ont montré que notre huile essentielle a une activité significative contre les champignons phytopathogènes testés. Nos cinq souches de champignons ont continué de croître sur les milieux sans HE, ce sont des témoins et aussi sur les milieux dont la concentration en huiles essentielles est moyennement faible (figure 05).

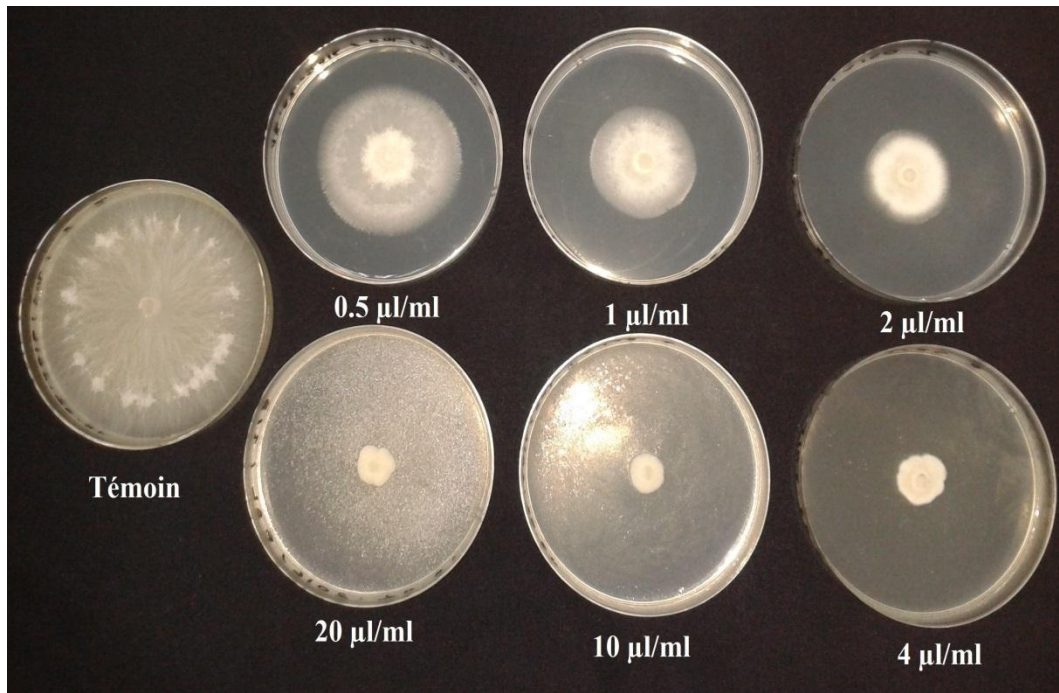


Figure 05 : Photo illustrant l'effet d'HE (fleurs), à différentes concentrations, sur la croissance de la souche *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Ces résultats obtenus, nous ont permis d'établir les courbes de la cinétique fongique qui sont présentées dans les figures suivantes :

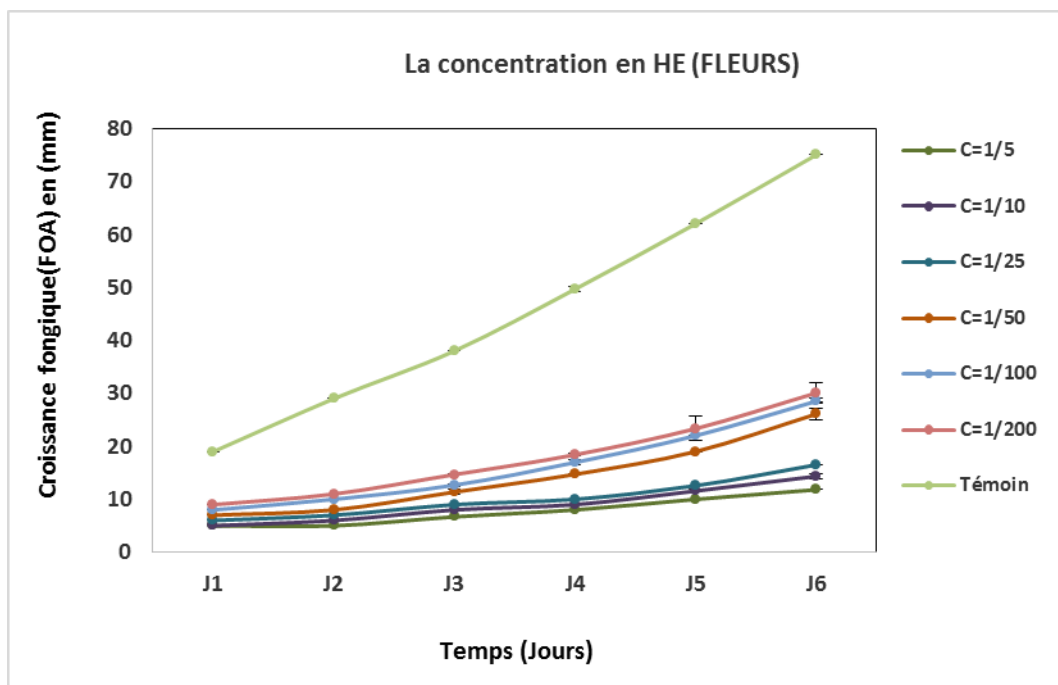


Figure 06 : Variation du diamètre de croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE.

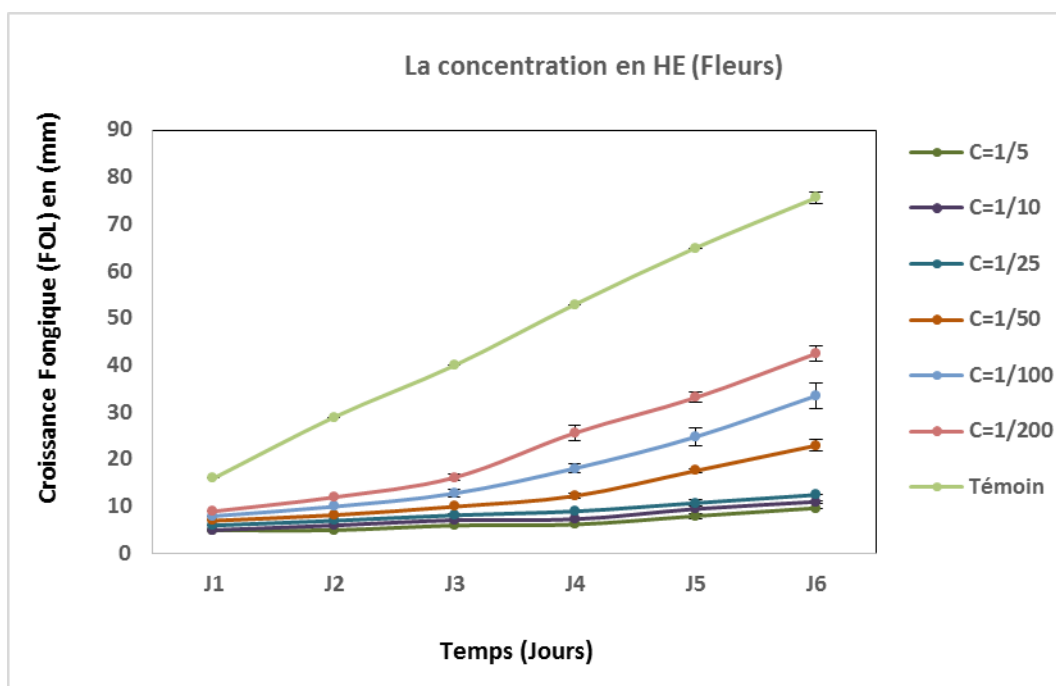


Figure 07 : Variation du diamètre de croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE.

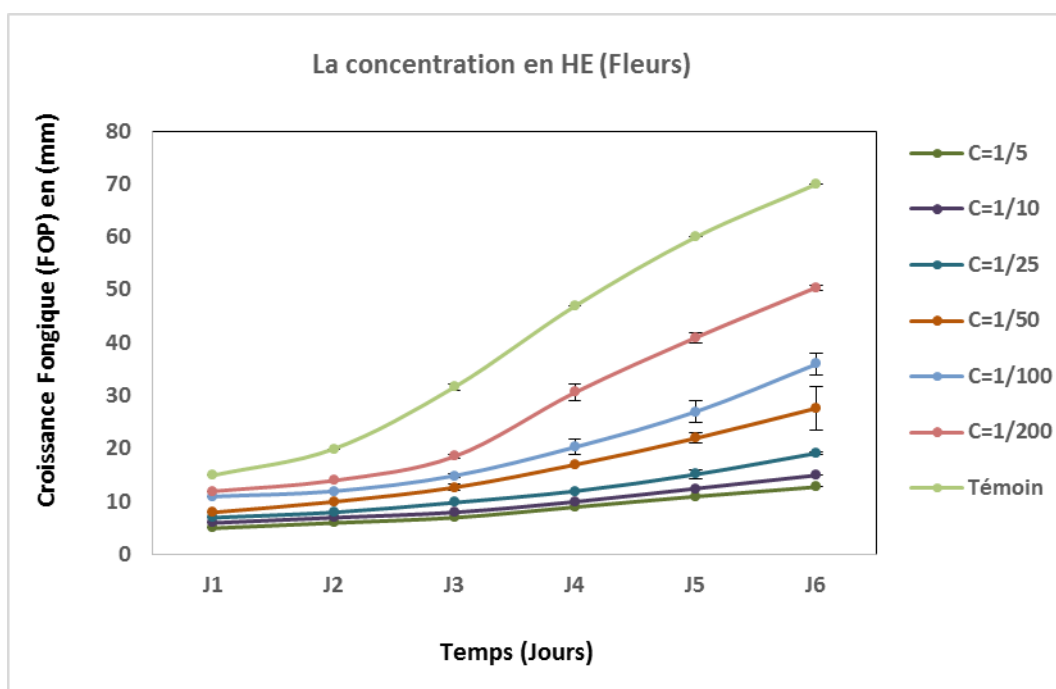


Figure 08 : Variation du diamètre de croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE.

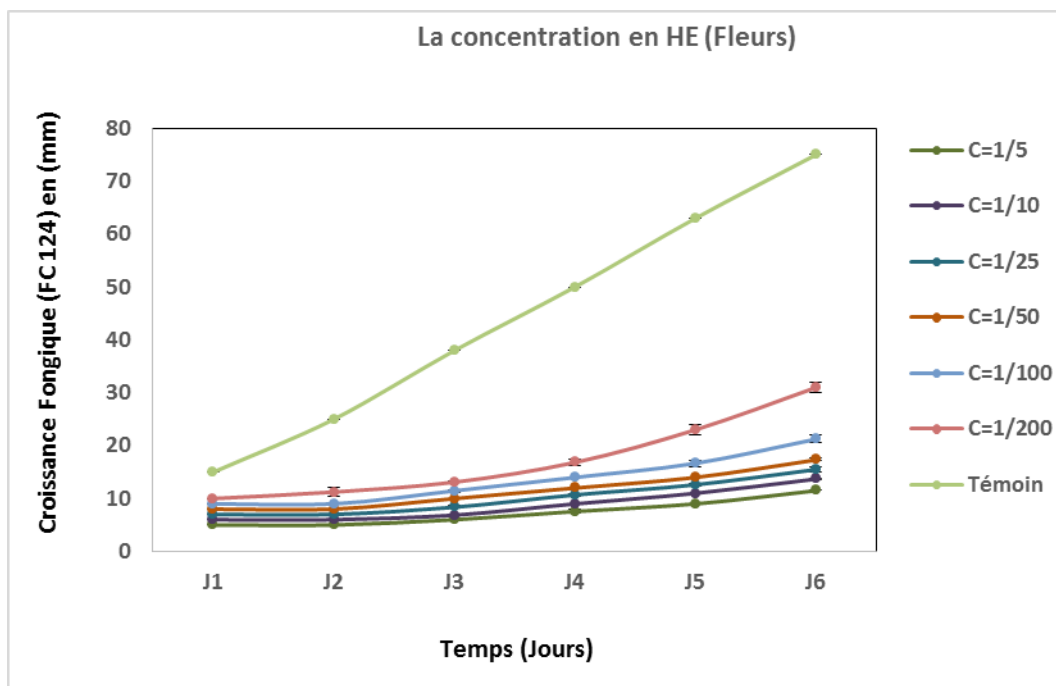


Figure09 : Variation du diamètre de croissance de *Fusarium culmorum* 124 (Fc124) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE.

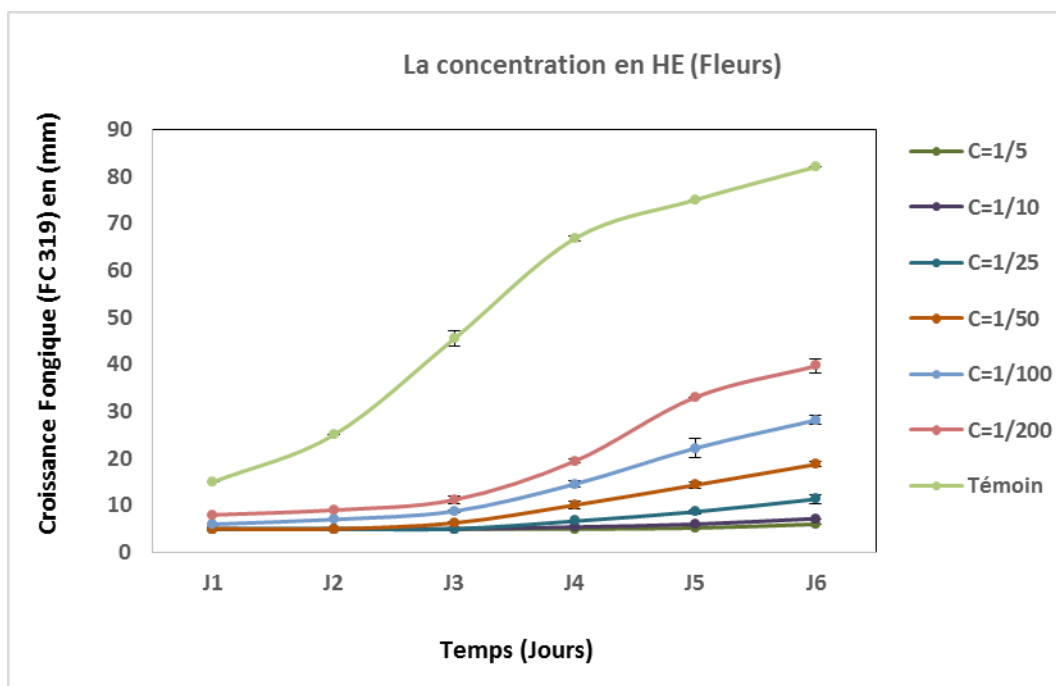


Figure 10 : Variation du diamètre de croissance de *Fusarium culmorum* 319 (Fc319) en fonction du temps, en réponse à un traitement avec de l'HE.

D'après les figures des courbes, nous pouvons constater que la croissance mycélienne continue pour toutes les cultures observables avec différents diamètres. On a constaté pour les dilutions 1/50, 1/100 et 1/200 que l'évolution des diamètres était

remarquable pour toutes les souches, par contre il y a une légère croissance pour les dilutions 1/5, 1/10 et 1/25.

Nous constatons, aussi, en comparant les courbes du traitement en HE, avec celles du témoin que la culture de ce dernier évolue avec le temps jusqu'à envahissement de la boîte cela prouve que notre huile essentielle a exercé un effet inhibiteur sur la croissance radiale des espèces de *Fusarium* testées (*F. oxysporum* f.sp. *albedinis*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *pisi*, *F. culmorum*).

Selon les courbes on remarque que les diamètres de la croissance fongique augmentent durant le temps avec la diminution de la concentration de l'huile essentielle, cette augmentation de diamètres reflète une diminution de l'effet de l'huile sur la croissance mycélienne.

Ainsi, à chaque fois qu'on augmente la concentration de l'huile, le diamètre du mycélium diminue jusqu'à atteindre un arrêt de la croissance à la dilution 1/5 pendant les premiers jours.

Ces résultats nous ont permis d'établir les histogrammes présentés ci-dessous qui montre qu'il y a toujours une relation entre le taux d'inhibition et la concentration de l'huile essentielle vis-à-vis les cinq souches testées.

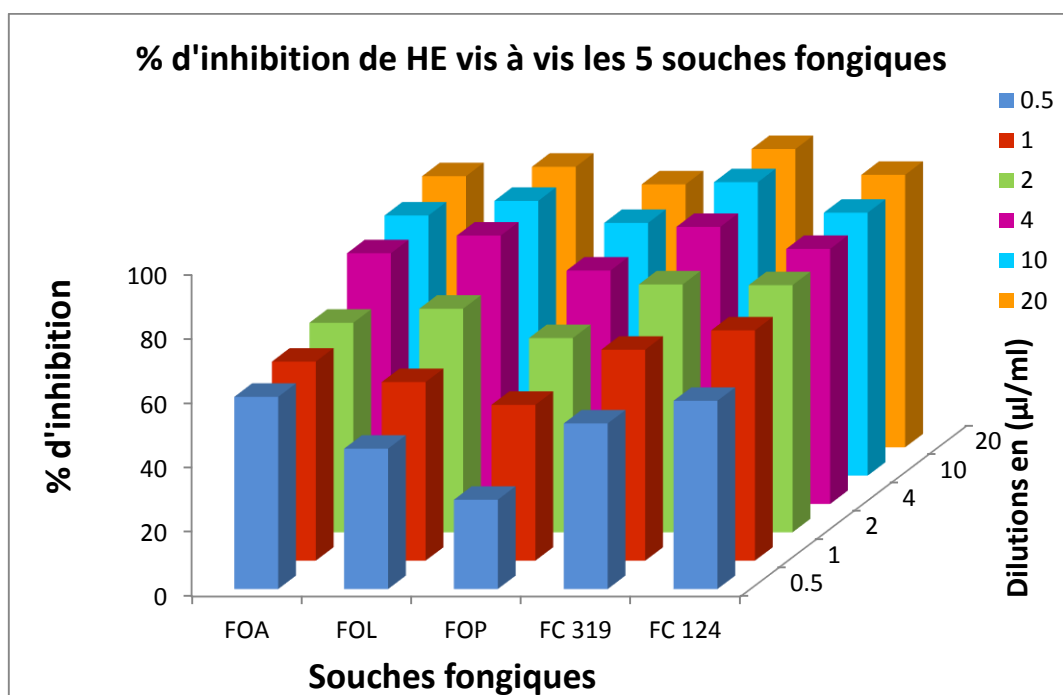


Figure 11: Comparaison entre les taux d'inhibition des huiles essentielles testées (fleurs) sur la croissance mycélienne des souches fongiques étudiées.

Toutes les concentrations testées de l'HE des fleurs (allant de 0,5µl/ml à 20µl/ml) ont donné des taux d'inhibition supérieures à 50% vis-à-vis des cinq souches fongiques étudiées. En exception, la souche Fop et Fol montrent une certaine résistance manifestant des taux d'inhibition faibles de 27,86% et 43,79% respectivement à la dilution 0.5 (µl/ml).

Les histogrammes montrent que l'huile essentielle a donné des taux d'inhibition élevés vis-à-vis des cinq souches respectivement Fop, Foa, Fc124, Fol, Fc319.

La valeur du CI50 est inversement liée à la capacité antifongique d'un produit, car elle exprime la quantité requise pour diminuer la croissance fongique de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antifongique du produit est importante.

En outre, nos résultats du pouvoir antifongique de notre échantillon d'huile essentielle montre l'existence d'une relation proportionnelle entre les taux d'inhibition et les concentrations testées, plus la concentration des extraits diminue plus le diamètre de la croissance mycélienne augmente. Ceci nous a permis d'estimer des valeurs de CMI et de CI 50 propre à chaque souche. Elles varient d'une espèce fongique à l'autre selon la physiologie de la souche testée.

Rappelons la CMI a été définie comme étant la plus faible concentration en HE inhibant la croissance mycélienne.

Les taux d'inhibitions des CI50 et des CMI de chaque souche sont indiqués dans la figure suivante :

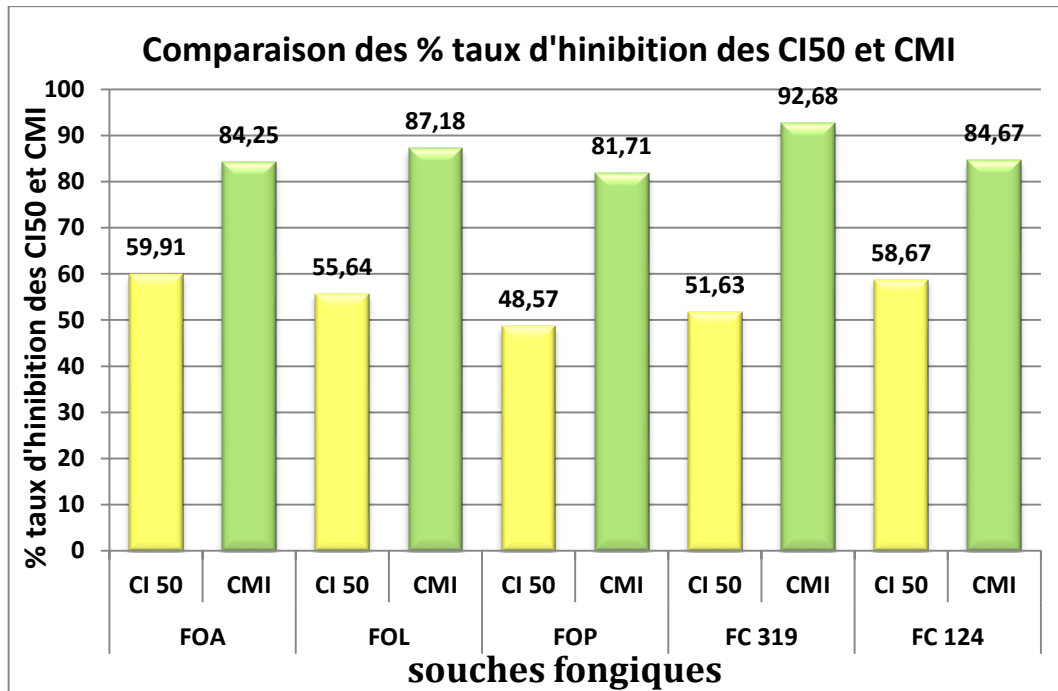


Figure 12 : Taux d'inhibitions des IC50 et des CMI des extraits vis-à-vis des cinq souches testées.

Notre HE a présenté des CMI de 20 µl/ml sur l'ensemble des souches étudiées. Contrairement à l'CI50 où nous constatons une variabilité entre les souches étudiées. La CI50 de l'HE des fleurs est comprise entre 0.5 et 1 µl/ml.

Les valeurs d'IC50 et de CMI estimées, confirment que l'HE a montré une certaine efficacité contre les souches étudiées, car elle a donné des taux d'inhibition important même avec de faibles concentrations.

La CMI de FC319 est très importante 92,68% par rapport aux autres souches qui présentent les CMI suivantes : Fol 87,18% ; Fc124 84,67% ; Foa 84,25% ; et Fop 81,71%.

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

D'après nos résultats nous avons constaté que la souche Fop a montré une certaine résistance vis-à-vis de l'HE et apparaît comme la souche la plus résistante. Par contre Fc319 demeure la plus sensible pour l'extrait étudiée.

Bousnan, 2013 a également, testé l'effet inhibiteur de l'huile essentielle du *Menthapulegium* L, collecté dans la région de Sétif (Algérie). L'évaluation du pouvoir antifongique de cette huile essentielle contre l'isolat de *Fusarium* testés (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *F. oxysporum* f.sp. *albedinis*) a révélé une action inhibitrice.

La valeur de la CMI déterminée, pour l'ensemble de ces résultats, est de 3,61mg/ml, Donc ces résultats confirment que les HE ont un pouvoir antifongique prometteur vis-à-vis des souches phytopathogènes tel que le *Fusarium*.

Une étude a été menée par (Soro et *al.*, 2011) à la fois in vitro et in vivo afin d'évaluer l'activité antifongique et de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum* L. sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Forl). Une corrélation positive a été établie entre l'inhibition de la croissance radiale mycélienne du mycopathogène et la concentration du produit. Le produit (huile essentielle) a montré des taux d'inhibition nettement supérieurs au seuil de signification (25 %) pour la plus faible dose. Aucune reprise de la croissance mycélienne n'a été observée durant les 7 jours d'évaluation. Comparons à nos résultats cette huile à un effet antifongique important autant que notre échantillon.

Ces résultats sont également en accord avec d'autres auteurs (Haddouchi et *al.*, 2009) qui ont étudiés l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* sur différentes espèces de champignons phytopathogène par la méthode de contact direct tel que *fusarium oxysporum*. Leurs résultats montrent que cette huile possède une activité inhibitrice remarquable proche de 42.97% à la concentration 0.1µl/ml.

Une autre étude menée par Kolaiet *al.*, 2012 su l'effet inhibiteur de l'huile essentielle D'*Artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*.

En général, les résultats obtenus avec les différentes concentrations de l'extrait révèlent que l'activité inhibitrice croit au fur et à mesure que la concentration augmente.

Une activité inhibitrice de 100% a été remarquée par l'application d'une concentration de 200 µl/ml (figure 13); la valeur de CI50 semble être proche aux environs de concentration qui est : 0.1 % de l'extrait d'HE sur les deux souches F1 et F2.

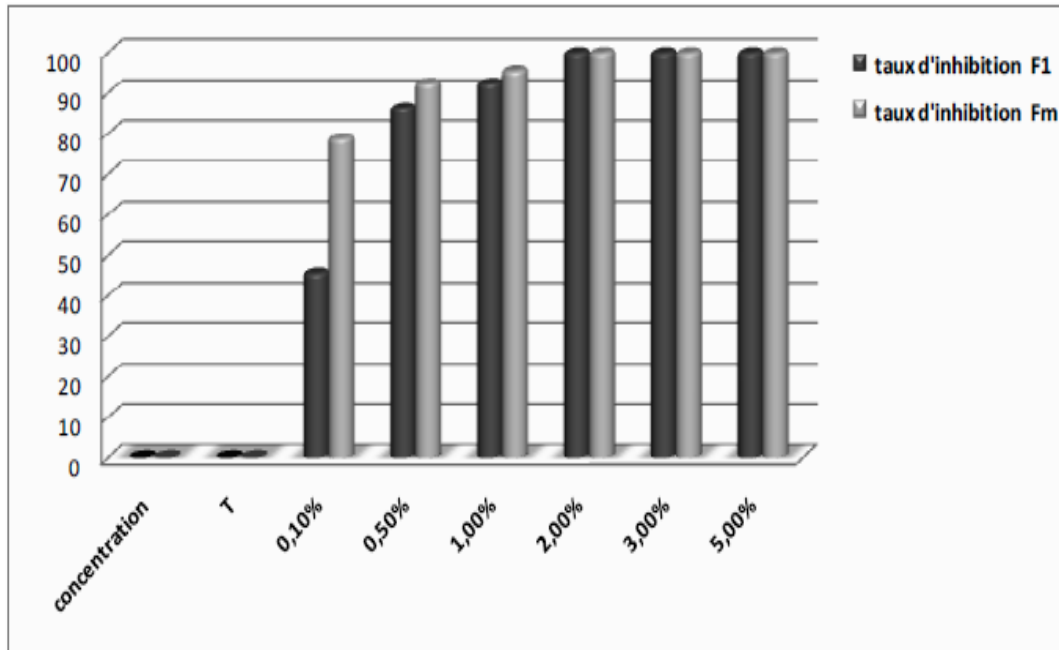


Figure 13 : Taux d'inhibition de F1 et F2 en fonction de la concentration d'huile essentielle d'A.herba alba.

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

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

Saadoudi et Ledhem 2015 ont pu évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rhanterium adpressum* qui appartient à la famille d'Asteriaceae vis-à-vis des trois souches fongiques *Fusarium oxysporum* f.sp. *Albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *psi*. Leurs résultats ont montré un pouvoir antifongique important de cette huile essentielle. Les deux extraits d'HE (feuilles et fleurs) ont présenté des CMI de 20 μ l/ml sur l'ensemble des souches étudiées. L'IC50 de l'HE des fleurs et des feuilles est comprise entre 0,5 et 2 μ l/ml. Ces résultats sont en corrélation avec les nôtres et ces plantes possèdent des propriétés antifongiques plus au moins identiques.

L'ensemble des résultats obtenus montre qu'il est possible d'envisager une formulation fongicide contre les espèces de *Fusarium* testées (*F. oxysporum* f.sp. *albedinis*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *lisi*, *F. culmorum*) au moyen de l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens*, à condition toutefois, de respecter une méthodologie bien adaptée. Ensuite, il faut signaler qu'un certain nombre de facteurs limitent l'optimisation du potentiel fongicide de l'huile essentielle. Il s'agit, entre autres, du caractère volatile de cette dernière, qui peut contribuer à réduire son efficacité ; la nature de l'émulsion et surtout les conditions de son application.

Vu la complexité de la composition chimique des huiles essentielles, il est difficile de donner une idée précise sur leurs modes d'action. Il est probable que chacun des constituants d'une huiles essentielle a son propre mécanisme (Ouraini et *al.*, 2005). Comme il a été montré dans des travaux antérieurs, il est possible que l'effet antifongique des HE soit dû à d'autres facteurs.

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

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

Conclusion

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs. Elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manières et pour les usages les plus variés. Alors ce travail s'intègre dans le cadre de la mise en valeur d'une plante de la famille des astéracées : *Asteriscus graveolens* qui est une plante saharienne poussant à l'état spontané en exploitant son huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne (fleurs) afin d'évaluer son activité antifongique contre des souches phytopathogènes.

A l'issue des résultats obtenus, la teneur de l'huile essentielle a été estimée à $1,16 \pm 0,2$ ml/100g de matière sèche à savoir environ 11,6 ml/Kg de matière sèche. Le temps nécessaire pour l'extraction de la totalité de l'huile essentielle est de 2 à 3 heures.

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

Les résultats d'un suivi quotidien de la cinétique de la croissance mycélienne de cinq souches de *Fusarium*, traitées avec l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens* révèle une activité antifongique contre toutes ces souches. Par ailleurs, Il n'a été constaté que les deux souches *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Fusarium culmorum* 124 et 319 étaient les plus inhibées et donc les plus sensibles, comparées aux souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

La CMI déterminée pour l'ensemble de ces souches est égale à 20 μ l/ml sur l'ensemble des souches étudiées. Contrairement à l'CI50 où nous constatons une variabilité entre les souches étudiées. La CI50 de l'HE est comprise entre 0.5 et 1 μ l/ml. Nous constatons, ainsi, que cette huile essentielle présente, *In Vitro*, une activité antifongique intéressante.

Malgré l'importance biologique et médicinale d'*Asteriscus graveolens*, cette espèce n'a pas été beaucoup étudiée auparavant. Pourtant, la présente étude a démontré sa valeur comme un produit naturel à intérêt considérable dans le domaine phytopharmaceutique.

De tels résultats ouvrent l'opportunité de pousser les recherches scientifiques afin de tester l'action de cette huile essentielle dans des modèles plante-agent pathogène ; ça constitue des enjeux socio-économiques très importants, pour l'agriculture.

En fin, des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

*Références
bibliographiques*

A

- 1 **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. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14 (1), 141-148.
- 2 **Amvam Zollo P.H., Biyiti L., Tchoumboungang F., Menut C., Lamaty G., Bouchet P., 1998.** Aromatic Plants of Tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical Composition and Antifungal Activity of Thirteen Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon. *Flavour and fragrance journal* 13:107-114.
- 3 **Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Gargouri S., Jamoussi B., 2013.** Propriétés antifongiques des huiles essentielles de *Biota orientalis* L.
- 4 **Anton. A. Lobstein., 2005.** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522.
- 5 **ANSM., 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Site Web de l'ANSM. [En ligne] <http://ansm.sante.fr/>.
- 6 **Aoudou Y., Léopold T.N., Pierre Michel J.D, Xavier E.F., Carl Moses M., 2010.** Antifungal properties of essential oils and some constituents to reduce food borne pathogen. *Journal of yeast and fungal research*, 1, 001-008.
- 7 **Aouissi H., 2011.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de trois espèces végétales du genre *Artemisia* : *Artemisia absinthium*, *A. herba alba* et *A. campestris*. Université Amar Téliidji, Laghouat.

B

- 8 **Barkat Malika., Imène Laib., 2007.** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*- revue de génie industriel issn 1313-8871
- 9 **Baser, K.H.C., et Buchbauer, G., 2010.** Handbook of ESSENTIAL OILS: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994 p.
- 10 **Bellakhdar, J., Baayaoui, A., Kazdari, A., Marechal, J., 1987.** Herboristes et médecine traditionnelle à Tissint, oasis présaharien du Sud Marocain (province de Tata). *Al Biruniya*. 3 (1), 7-50.
- 11 **Belaïche, P., 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 l'aromatogramme. Maloine S.A. Editeur, Paris. 204 pages.

- 12 **Benabed K.H., 2011.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des *Lamiaceae*. Université Amar Téliidji, Laghouat.
- 13 **Bencheqroun H., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Chaouch A., 2012.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc.
- 14 **Bousbia N., 2013.** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants _a partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires.
- 15 **Bousnane M., 2013.** Composition chimique, activités antifongique et antioxydante de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L.
- 16 **Buchbauer G., 2010.** Biological Activities of Essential Oils. Pp 235-273. In Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994 p.
- 17 **Buronzo, A. M.,** Grand guide des huiles essentielles, Hachette pratique, 244 p.
- 18 **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 4e édition, Lavoisier, Paris.

C

- 19 **Caillard, J., 2003.** Les plantes, des usines chimiques en miniature. Dossier de ressources documentaires. CRDP Midi-Pyrénées. 6 p.
- 20 **Caillet, S. et Lacroix, M., 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire, Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier. pp. 1-8.
- 21 **Charchari S., Dahoun A., Bachi F., Benslimani A. 1996.** In vitro antimicrobial of essential oils of *Artemisia herba-alba* and *Artemisia judaci* from Algeria. *Rivista-Italiana-EPPOS*. 18, 3-6.
- 22 **Chemical Diversity of Essential Oils from *Asteriscus graveolens* (Forssk.).** Gregory Cristofaria), Mohamed Zninib), Lhou Majidib), Hamid Mazouz), Pierre Tomia), Jean Costaa), and Julien Paolini. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY* – Vol. 9 (2012).
- 23 **Cheriti, A., 2000.** Plantes médicinales de la région de Bechar, sud-ouest Algérie: Etude Ethnopharmacologique. Rapport CRSTRA, Algérie.

- 24 **Cohen D., 2013.** Les huiles essentielles : à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né. Pharmaceutical sciences.
- 25 **Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G., 2000.** Natural Products (SecondaryMetabolites). Biochemistry&MolecularBiology of Plants, B. Buchanan, W.

D

- 26 **Deans, S.G., 2007.** Antimicrobial Activity of Essential Oils and Constituents of MenthaSpecies. Pp 497, 518.In Lawrence B.M., Mint, the genus menthe. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.
- 27 **De Billerbeck, VG., 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie, 5 (5), 249-253.
- 28 **Degryse A.C., Delpla I., Voinier M.A., 2008.** Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles (ATELIER SANTE ENVIRONNEMENT) .Ecole des hautes études en santé publique
- 29 **Dongmoa P., Kuateb J., Boyomc F. F., Ducelierb D., Damesseb F., Amvam Zolloa P. H., Menutd C., Bessiered J.M., 2001.** Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*.
- 30 **Dorothee Siou., 2013.** Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Université PARIS-SUD 11. 9p.
- 31 **Dung, N.T., Kim, J.M., and Kang, S.C., 2008.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidantactivities of the essentialoil and the ethanolextract of *Cleistocalyxoperculatus*(Roxb.) Merr and Perry buds. Food and Chemical Toxicology 46: pp.3632-3639.

E

- 32 **El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., Amarti, F., Aberchane, M., 2008.** Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus*Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. Biotechnol. Agron. Soc. 12 (4), 345-351.
- 33 **EL-houiti F., 2010.** Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*.

- 34 **Essawi, T., et Srour, M., 2000.** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70, 343–349. In Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* 90, 333–340.

F

- 35 **Fernandez D., Maurice I., Ouinten M., Tantaoui A., Jean-Paul G., 1995.** Le bayoud du palmier dattier (une maladie qui menace la hœniciculture). *Phytoma-La défense des végétaux*. N° 469 :36-39.

G

- 36 **Garg, SC., Siddiqui, N., 1992.** Antifungal activity of some essential oil isolates. *Pharmazie*. 47 (6), 467-468
- 37 **Ghfir, B., Dargent, R., 1995.** Activité antifongique de l'huile essentielle d'*Hyssopus officinalis* sur *Aspergillus fumigatus* (Fresenius) : Conséquences cytologiques et biochimiques. – Thèse de doctorat. Université de Toulouse 3. Toulouse, France, 213 p. hœniciculture.

H

- 38 **Haddouchi, F., Lazouni, HA., Meziane, A., Benmansour, A., 2009.** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut.
- 39 **Heldt H.W., Piechulla B., 2011.** *Plant biochemistry*. Elsevier. 4ème édition. UK. 622 p.
- 40 **Hernandez O., 2005.** Substitutions de solvants et matières actives de synthèse par combiné (solvant/actif). Thèse de doctorat l'institut national polytechnique de toulouse France. Herpes simplex viruses-1 and -2. *Phytomedicine*, 6(2): 119–123. In Baser K.H.C.
- 41 **Hilan C., Sfeir R., Jawish D., Aitour S., 2005.** Huiles essentielles de quelques plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal*, 7, 13-22.

I

- 42 **Ismaili, R., Lamiri, A., Moustaid K., 2014.** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines Université Hassan 1 Km 3, B.P. 577, Settat, Maroc

K

- 43 **Kalemba, D., Kunicka, A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10, 813-829
- 44 **Karkachi N., 2013.** Evaluation de l'effet de triasoles vis-à-vis de *fusarium oxysporium* f.sp. *albedinis*.
- 45 **Kolai, N., Saiah, F., Boudia, A., 2012.** Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'*Artimesia herba alba* sur de souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.

L

- 46 **Lacoste, E., Chaumont, JP., Mandin, D., Plumel, MM., Matos, F., 1996.** Les propriétés antiseptiques de l'huile essentielle de *Lippiasidoides* Cham. Application à la microflore cutanée. 54 (5), 228-230.
- 47 **Lahlou, M., 2004.** Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *FlavourFragr. J.* 19, 159–165.
- 48 **Lawrence B.M., 2007.** Mint, the genus menthe. *Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles*. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.
- 49 **Link, 1809.** Site internet, www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&Id=100226

M

- 50 **Maach, A., Jemali, A., 1986.** Etude des caractéristiques physico-chimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc : Menthe NaaNaa Abdi, Coriandre. *Bulletin de l'IAV Hassan II*.
- 51 **Maamri, M., 2011.** Étude de la composition chimique, de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus*. Université Amar Téliidji, Laghouat. 83 p. Rabat, Maroc.
- 52 **Mailhebiau P., 1994.** La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. 635p.
- 53 **Malo, 10^{ème} Journées Internationales, Digne-Les-Bains 5-6-7 Sept. 1991 ; p. 28 2R.** Anton. A. Lobstein. *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.* 2005. Tec & Doc, Paris, 522.

N

- 54 **National Center for Biotechnology Information: NCBI, « Centre américain pour les informations biotechnologiques »**

O

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

P

- 56 **Pibiri, M.C., 2006.** Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, pp. 28-52.

R

- 57 **Rachid Ismaili, Abdeslam Lamiri, and Khadija Moustaid 2014.** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines Université Hassan1 Km 3, B.P. 577, Settat, Maroc.
- 58 **Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., 1993.** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J Ess Oil Res* **5**, 179–184.
- 59 **Rusty, R., Regina,R.,2008.** « More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis », *Journal of Experimental Botany*, p. 1109–1114.

S

- 60 **Saadoudi,Y., Ledhem,R.,** Evaluation de l'activité antifongique d'un extrait d'origine végétal vis-à-vis le *Fusarium oxysporum* f.sp.Université Amar Thelidji-Laghouat.
- 61 **Salah-Fatnassi, BK., Salim-Bannour, A., Harzallah-Skhiri, F., Mohamed-Ali, M., Mighri, Z.,Chaumont, JP., Aouni, M., 2010.** Activités antivirale et antioxydante in vitro d'huiles essentielles de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmans. & Link de Tunisie. *Acta BotanicaGallica*. 157 (3), 433-444.
- 62 **Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A, Aafi, A., Fougrach, H., Boukhriss, B., Bousta, D., Talbi,M., 2007.** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthusmixtus* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 146, 85-96.
- 63 **Sanon, A. , M.Garba, J. Auger, J. Huiganrt., 2002.** *Journal of Stored Products Research*, 38, 129.

- 64 Soro,S., Abo,K., Kone,D., Coffi,K., Kouadio,J.Y., et Ake,S.,2011.** Comparaison de l'efficacité antifongique de l'huile essentielle d'*Ocimum gratissimum.l*.et du fongicide de synthèse mancozebe contre le mycopathogène tellurique, *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici* en culture de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sous abri en Côte d'Ivoire.
- 65 Shukla, HS., Dubey, P., Chaturvedi, RV., 1989.** Antiviral properties of essential oils of *Foeniculumvulgare* and *Pimpinellaanisum* L. *Plant Pathology. Agronomie.* 9, 277-279.
- 66 Sifi, I., 2010.** Galles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) : Composition chimique en huiles essentielles, activités biologiques et activités antioxydantes, université Amar Téliidji, Laghouat, 101p.

T

- 67 Tchoumboungang, F., JazetDongmo, PM., Sameza, ML., NkouayaMbanjo, EG., TiakoFotso, BR., AmvamZollo, PH., Menut, C., 2009.** Activité larvicide sur *Anophelesgambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc.* 13 (1), 77-84.
- 68 Teuscher E., Robert A., Annelise L. 2005.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier. Paris.
- 69 Tkachenko KG., 2006.** Antiviral activity of the essential oils of some *Heracleum* L. species. *Journal of Herbs, Spices. Medicinal plants.* 12 (3), 1-12.
- 70 Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H. et Errifi A., 1993.** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus Broussonettii*, *T.zygisand T.satureioides*. *Essent. Oil. Res*, 5, 45-53.

V

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

Z

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

ANNEXE

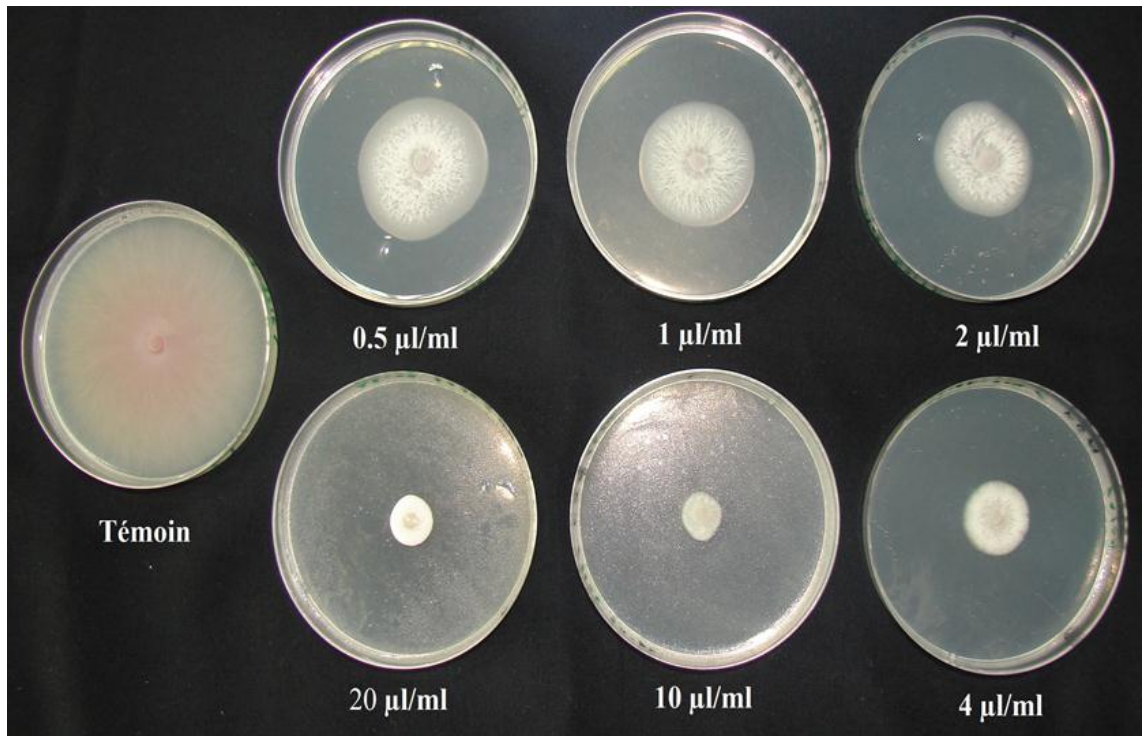
Composition du milieu de culture

1. Potatoes dextrose Agar (PDA)

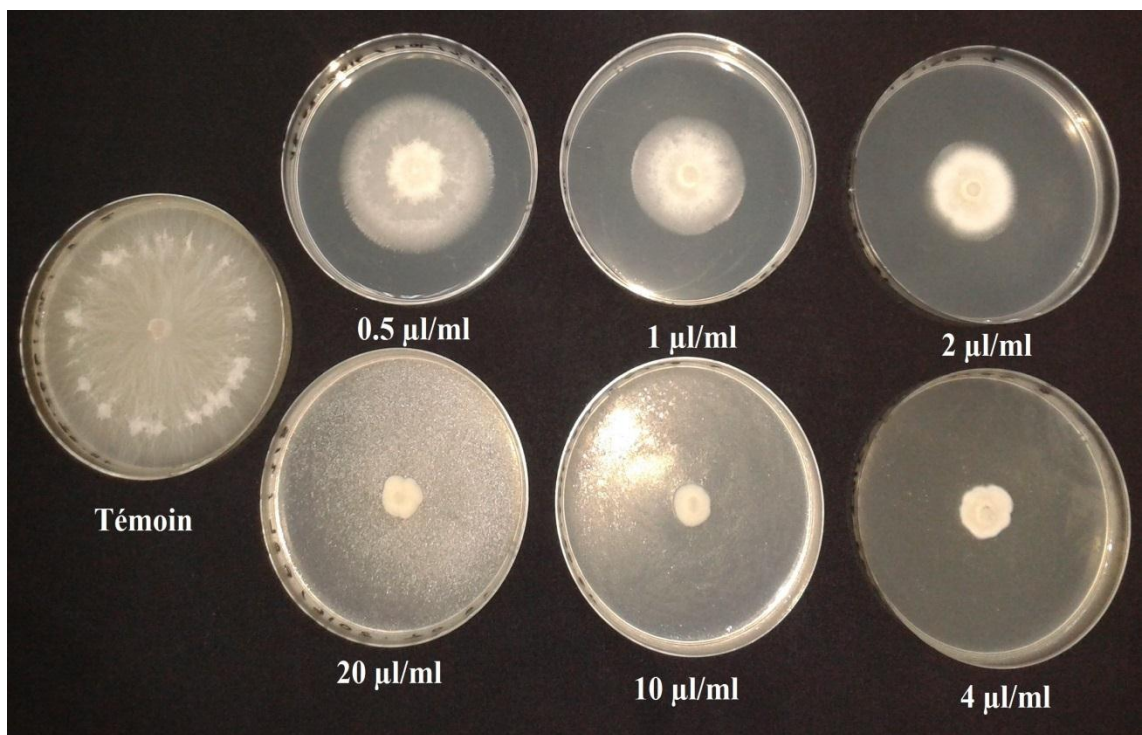
Infusion de pomme de terre -----	200 ml
Glucose -----	15 g
Agar-agar -----	20 g
Eau distillée -----	qsp 1L

2. Solution d'Agar 0,2%

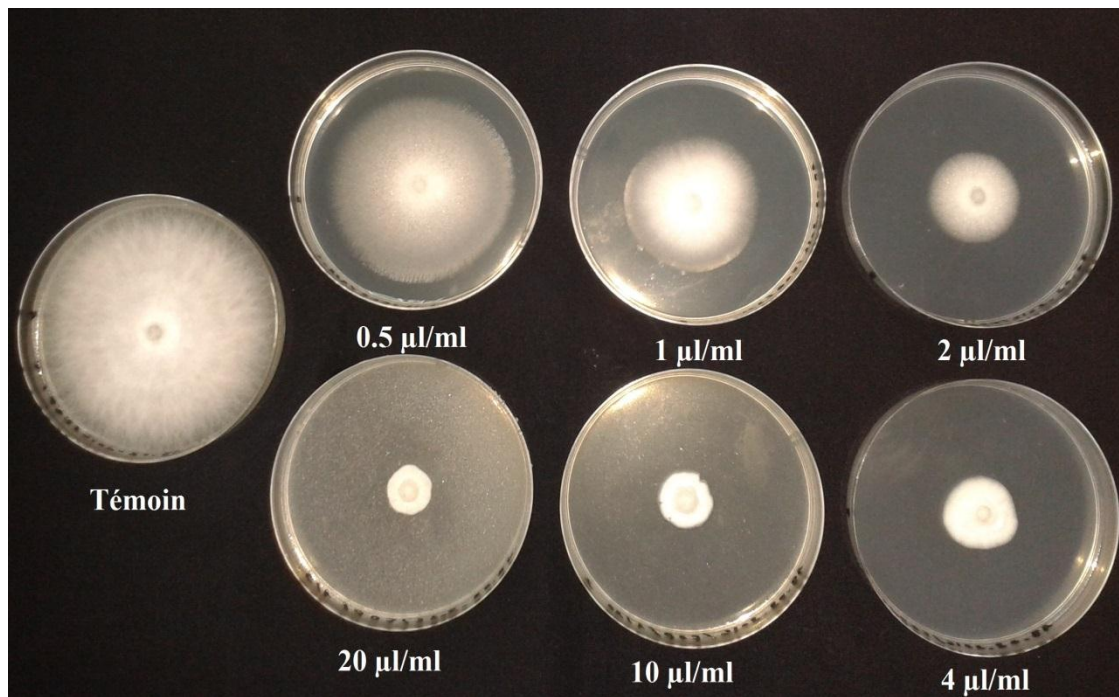
Agar-agar -----	2 g
Eau distillée -----	qsp 1L



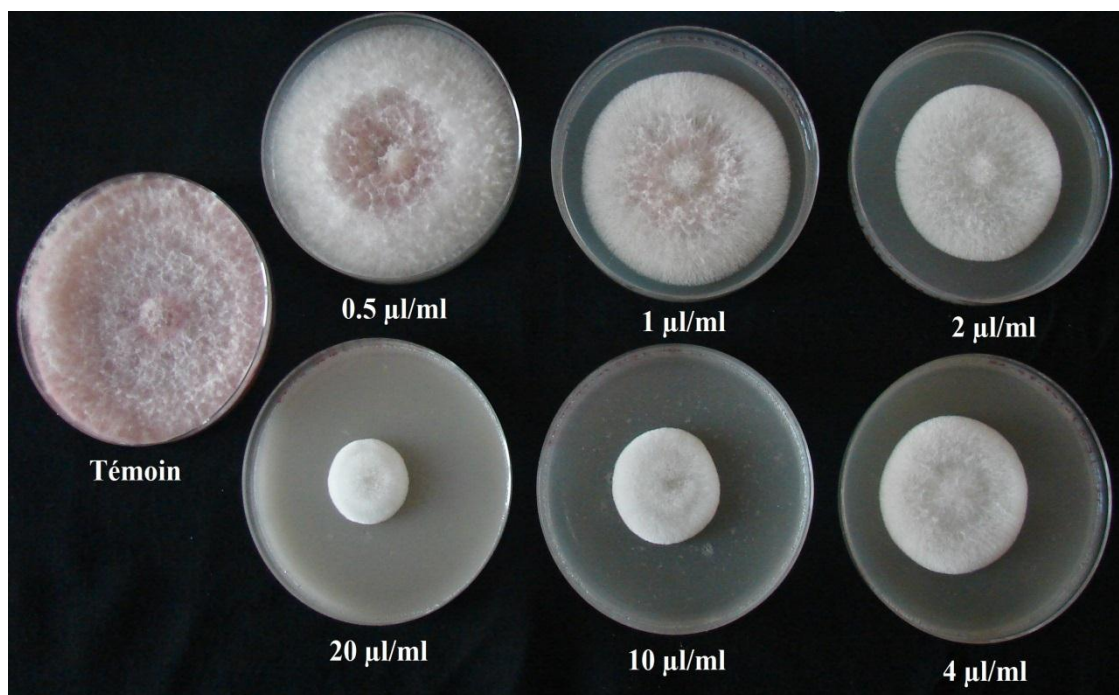
Foa



Fol



Fop



Fc 319

Figure 14 : Photos illustrants l'effet d'HE à différentes concentrations sur la croissance des souches testées. *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* (Foa), *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol), *Fusarium oxysporum* f.sp. *alisi* (Fop) et *Fusarium culmorum* 319.

Titre du mémoire : Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles d'une espèce d'astéracées vis-à-vis de cinq souches de *Fusarium*.

Nom : Gueffaf et Kiboub **Prénom :** Hadjer et Samah **Encadreur :** ELHOUITI Fatiha

Résumé :

La fusariose est une maladie courante des végétaux causée par le genre *Fusarium*. Dans le but de chercher d'autres alternatives de lutte contre ce champignon phytopathogène, nous étudions dans ce travail le pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Asteriscus graveolens*. Cette activité a été recherchée *in vitro*, sur un milieu solide gélosé par la méthode de contact direct vis-à-vis de cinq souches du genre *Fusarium*.

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation de la partie aérienne (fleurs) de la plante. La teneur de notre échantillon, en huile essentielle est de $1,16 \pm 0,2$ ml/100g de matière sèche à savoir environ 11,6 ml/Kg.

L'huile a été testée à différentes concentrations et les résultats montrent que l'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration des huiles essentielles, elle varie d'une espèce fongique à une autre. L'évaluation de l'activité antifongique a permis d'obtenir des valeurs de CMI de 20 µl /ml et l'IC50 varie entre 0.5 et 1 µl /ml.

Mots clés : huiles essentielles, activité antifongique, *Fusarium*, CMI, IC50.

عنوان المذكرة: تقييم نشاط الزيوت العطرية لنوع من نبات المركبات ضد الفطريات الممرضة للنباتات

اللقب : قفاف و قيبوب **الاسم:** هاجر و سماح **المؤطر:** الحويطي فتيحة

ملخص :

الفوزاريوس من الأمراض النباتية الأكثر شيوعا الذي ينجم عن نوع من الفطريات المغزلية (*Fusarium*). من اجل البحث عن بدائل أخرى للحد من هذه الفطريات المسببة للأمراض، قمنا في هذا العمل بدراسة النشاط المضاد للفطريات الناتجة عن الزيوت العطرية لنبات *Asteriscus graveolens*. وتم البحث على هذا النشاط في المخبر باستعمال وسط صلب وتم تعيينه بواسطة طريقة الاتصال المباشر ضد خمسة أنواع من الفطريات التي تنتمي إلى نوع المغزلاويات.

تم استخلاص الزيت العطري عن طريق التقطير البخار للأجزاء الهوائية (الأزهار). محتوى الزيت النباتي للعينة المدروسة لدينا هو 1.16 ± 0.2 مل / 100 غرام من المادة الجافة أي حوالي 11.6 مل / كغ.

تم اختبار الزيت بتركيزات مختلفة وتظهر النتائج أن تثبيط نمو الفطر يزداد مع زيادة تركيز الزيوت العطرية، و يختلف الأمر من نوع فطري إلى آخر. يظهر تقييم النشاط المضاد للفطريات ان القيم المثبطة الدنيا MIC تقدر ب 20 ميكرو لتر / مل، وقيمة IC50 قدرت ما بين 0.5 و 1 ميكرو لتر / مل.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، النشاط المضاد للفطريات، الفوزاريوس، CMI, IC50.

Memory title: Evaluation of the antifungal activity of essential oils of a species of Asteraceae vis-à-vis five *Fusarium* strains.

Name: Gueffaf et Kiboub **First name:** Hadjer et Samah **Directed by:** ELHOUITI Fatiha

Abstract:

Fusarium head blight is a common disease of plants caused by the genus *Fusarium*. In order to seek alternatives to fight this phytopathogenic fungi, we study in this work the anti-fungal power of *Asteriscus graveolens* essential oil. This ability has been realized *in vitro* on a agar solid medium by the method of direct contact with five strains of *Fusarium* genus.

The essential oil was extracted by steam distillation of the aerean part of the plant (flowers). The essential oil content is about 1.16 ± 0.2 ml / 100g of material dry, approximately 11.6 ml/kg.

The oil has been tested at different concentrations and the results show that the inhibition of mycelial growth increases with the concentration of essential oil, it varies from one fungal specie to another. The MIC values have been estimated at 20 µl/ml and the IC50 varies between 0.5 and 1 µl/ml.

Key words: essential oils, antifungal activity, *Fusarium*, CMI, IC50.

