

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Evaluation du pouvoir antifongique et études de la
composition chimique de quatre huiles essentielles de
plantes locales**

Présenté par :

M^{elle} : ABDI Khadidja

M^{me} : MOULAI Hanane

Devant le jury :

Présidente : M ^{me} AOUISSI Hadjer	M.A.A	École Normale Supérieure - Laghouat
Rapporteur : Mr OUINTEN Mohamed	Professeur	Univ. Amar Télidji - Laghouat
Co-Rapporteur : M ^{me} EL-HOUITI Fatiha	M.C.B	Univ. Amar Télidji - Laghouat
Examinatrice : M ^{elle} BENABED Khadidja Houda	M.C.B	École Normale Supérieure - Laghouat

Soutenu publiquement le : 26/06/ 2018.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Evaluation du pouvoir antifongique et études de la
composition chimique de quatre huiles essentielles de
plantes locales**

Présenté par :

M^{elle} : ABDI Khadidja

M^{me} : MOULAI Hanane

Devant le jury :

Présidente : M ^{me} AOUISSI Hadjer	M.A.A	École Normale Supérieure - Laghouat
Rapporteur : Mr OUINTEN Mohamed	Professeur	Univ. Amar Télidji - Laghouat
Co-Rapporteur : M ^{me} EL-HOUITI Fatiha	M.C.B	Univ. Amar Télidji - Laghouat
Examinatrice : M ^{elle} BENABED Khadidja Houda	M.C.B	École Normale Supérieure - Laghouat

Soutenu publiquement le : 26/06/ 2018.

Dédicaces

On dédie ce travail à :

Nos très chers parents

Toute notre famille ;

Tous nos amis ;

A tous ceux qui ont une bonne impression dans notre cœur ;

Toute la promotion du Master biochimie appliquée 2018.

Moulai Hanane

Abdi Khadidja

Remerciements

On remercie d'abord ALLAH le tout puissant qui nous a guidés et qui nous a donné la force et la volonté de réaliser ce travail.

A notre encadreur EL-HOUITI Fatiha

Docteur au département de biologie

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de nous confier ce travail. Nous vous remercions de votre patience, votre disponibilité, de vos encouragements et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail.

Votre compétence, votre dynamisme et votre rigueur ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect. Vos qualités professionnelles et humaines nous servent d'exemple. Veuillez croire à l'expression de nos profondes reconnaissances et de notre grand respect.

A notre encadreur OUINTEN Mohammed

Professeur au département de biologie

Merci d'avoir acceptée de diriger ce travail avec beaucoup d'efficacité.

A Monsieur YOUSSEFI Mohammed

Professeur à l'Université de Laghouat

Merci de nous avoir accueillis dans le laboratoire de recherche sciences fondamentales et nous avoir mis à notre disposition tout le matériel nécessaire.

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

On exprime nos sincères remerciements à Mr. Gourine et Mr. Harrath, équipe de laboratoire des sciences Fondamentales à l'Université AMMAR THELIDJI de Laghouat pour leurs aides, leurs conseils et leur disponibilité.

Nos remerciements sont adressés aussi à l'ensemble des ingénieurs du Laboratoire du département de biologie surtout Melle Gaoui Halima.

Résumé

Le présent travail a pour objectif l'étude de la composition chimique et l'activité antifongique des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis*.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. Les résultats obtenus ont montré que la teneur, des plantes est de 2%, 1,3%, 2,38% et 0,72% (m/m) respectivement.

L'analyse chimique par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) nous a permis d'identifier quarante-quatre constituants chimiques au total. Les composés majoritaires caractérisant l'huile essentielle de *Mentha piperita* étant le Pipéritone (57,51%) et le Limonène (28,29%). L'huile essentielle de *Mentha pulegium* est caractérisée principalement par la présence de Carvone (70,8%), pour L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* les composés majoritaires sont le Carvacrol Acétate (14,16%), le Limonène (11,49%), α -Terpényl acétate (10,79%), α -Pinène (9,26%) et le Camphre (7,61%). Cette analyse a révélé que le Carvacrol est le constituant le plus abondant dans le *Thymus vulgaris* (63,42%).

Les différentes huiles essentielles testées ont révélé des activités antifongiques intéressantes vis-à-vis de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. La plus forte activité a été enregistré pour l'huile essentielle *Thymus vulgaris* contre *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Mots clés : *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis*, huile essentielle, activité antifongique, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*.

Abstract

This work aims to study the chemical composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* and *Thymus algeriensis*.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation. The results obtained showed that the content in the plants are : 2%, 1,3%, 2,38% and 0,72% (w/w) respectively.

Chemical analysis by Gas Chromatography (GC) allowed us to identify forty-four chemical components. The major components of the essential oil of *Mentha piperita* are Piperitone (57,51%) and Limonene (28,29%). The essential oil of *Mentha pulegium* is characterized mainly by the presence of Carvone (70,8%), in the *Thymus algeriensis*, the major components are Carvacrol Acetate (14,16%), Limonene (11,49%), the α -Terpenylacetate, (10,79%), the α - Pinene (9,26%) and Camphre (7,61%). This analysis revealed that the Carvacrol (63,42%) is the most abundant in *Thymus vulgaris*

The different essential oils tested revealed interesting antifungal activities against *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. The strong activity was observed for the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*.

Key words : *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* and *Thymus algeriensis*, essential oils, antifungal activity, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*.

مُلخَص

يهدف هذا العمل إلى دراسة التركيب الكيميائي، والنشاط المضاد للفطريات للزيوت العطرية لنباتات النعناع الفلفلي، الفليو، زعتر الجبل والجرتيل . تم استخراج الزيوت العطرية بطريقة التقطير المائي وأظهرت النتائج أن مردودية هذه النباتات: 2%، 1,3%، 2,38%، 0,72% (ك/ك) على التوالي.

باستعمال كروماتوغرافيا الطور الغازي استطعنا التعرف على حوالي 44 مركب كيميائي لهذه الزيوت. المكونات الأساسية لزيت النعناع الفلفلي هي البيبيريتون (57,51%)، والليمونين (28,29%)، زيت الفليو يتميز بوجود الكارفون (70,8%) و زيت الجرتيل يتميز بوجود الكرفاكرولاسيئات (14,16%)، الليمونين (11,49%)، α -ترينيلاسيئات (10,79%)، α -بينان (9,26%)، والكامفر (7,61%) كما اظهر هذا الكشف ان الكافاكرول هو المركب الاكبر نسبة في زيت زعتر الجبل(63,42%)

كشفت الزيوت العطرية المختلفة التي تم اختبارها ضد الفطريات *Fusarium* و *Fusarium graminearum* على ان زيت زعتر الجبل يملك أكبر فعالية.

الكلمات المفتاحية: النعناع الفلفلي، الفليو، زعتر الجبل، الجرتيل، الزيت العطري والنشاط المضاد للفطريات *Fusarium*

Fusarium culmorum، *graminearum*

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX	I
LISTE DES FIGURES	II
LISTE DES ABREVIATIONS	IV
INTRODUCTION	2
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I.1. LES HUILES ESSENTIELLES (HE).....	5
I.1.1. Introduction.....	5
I.1.2. Bref historique	5
I.1.3. Définitions des huiles essentielles	6
I.1.4. Répartition, Localisation et rôle des huiles essentielles	6
I.1.4.1. La répartition	6
I.1.4.2. La localisation	7
I.1.4.3. Le rôle.....	7
I.1.5. Propriétés physiques	7
I.1.6. Facteurs de variabilité des huiles essentielles	7
I.1.6.1. Facteurs intrinsèques	7
I.1.6.2. Facteurs extrinsèques.....	8
I.1.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	8
I.1.7.1. La distillation	8
I.1.7.2. L'expression à froid.....	9
I.1.8. Conservation des huiles essentielles.....	10
I.1.9. La composition chimique des huiles essentielles	10
I.1.9.1. Les terpènes	10
I.1.9.2. Les composés aromatiques	11
I.1.9.3. Les composés d'origines diverses.....	11
I.1.10. Notion de chémotype	12
I.2. LA FAMILLE DES LAMIACEES.....	12
I.3. QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	12
I.3.1. Propriétés antibactériennes	13
I.3.2. Propriétés anticancéreuses	13
I.3.3. Propriétés antiparasitaires.....	13
I.3.4. Propriétés antivirales.....	13
I.3.5. Propriétés antifongiques	13
I.4. MODE D'ACTION DES HUILES ESSENTIELLES	14
I.5. LES MOISSURES	15
I.5.1. Généralités	15
I.5.2. Les principaux genres fongiques	16
I.5.3. Les caractères cultureux.....	17
I.5.4. Biologie des champignons du genre <i>Fusarium</i>	17
I.5.4.1. <i>Fusarium culmorum</i>	18
I.5.4.2. <i>Fusarium graminearum</i>	19
I.6. LA MALADIE CAUSEE PAR LES <i>FUSARIUM</i> (LA FUSARIOSE).....	20
I.6.1. Les symptômes	20
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	24
II.1. MATERIELS BIOLOGIQUES	24
II.1.1. Les plantes étudiées	24
II.1.1.1. Les caractéristiques botaniques des plantes étudiées	24

II.1.1.2. Caractéristiques systématiques.....	26
II.1.2. Les souches fongiques sélectionnées.....	26
II.2. LES METHODES EXPERIMENTALES	27
II.2.1. L'extraction des huiles	27
II.2.1.1. Calcul du rendement	27
II.2.2. L'analyse des huiles essentielles.....	28
II.2.2.1. Les conditions opératoires de la CPG	28
II.2.2.2. L'identification des constituants	28
II.2.3. Etude de l'activité antifongique	28
II.2.3. 1. La préculture des champignons.....	29
II.2.3.2. Milieux de culture.....	29
II.2.3.3. La détermination de l'activité par la méthode de contact direct	29
II.2.4. L'analyse statistique.....	30
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION	32
III.1. LES TENEURS EN HUILES ESSENTIELLES	32
III.2. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	34
III.3. ACTIVITE ANTIFONGIQUE	40
III.3.1. Cinétique de la croissance mycélienne	40
III.3.2. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.....	44
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
ANNEXES.....	65

Liste des tableaux

Tableau 1: Les plantes étudiées, leurs noms scientifiques, communs et le mois de la collecte.....	24
Tableau 2: Caractéristiques systématiques des plantes étudiées	26
Tableau 3 : Les souches fongiques, leurs codes et leurs lieux de collecte	26
Tableau 4: Teneurs, des plantes étudiées, en huiles essentielles.....	31
Tableau 5 : La composition chimique des différents échantillons d'HE analysées par CPG	36
Tableau 6: Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne du <i>Fusarium graminearum</i>	45
Tableau 7 : Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre <i>Fusarium graminearum</i>	46
Tableau 8: Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne du <i>Fusarium culmorum</i>	49
Tableau 9 : Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre <i>Fusarium culmorum</i>	50

Liste des figures

Figure 1: Appareil utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	8
Figure 2 : Cycle biologique de <i>Fusarium</i> (F.P. : <i>Gibberella</i>) sur les céréales	17
Figure 3 : Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphes de <i>Fusarium culmorum</i>	18
Figure 4 : Caractéristiques de <i>Fusarium culmorum</i>	19
Figure 5 : Caractéristique de <i>Fusarium graminearum</i>	19
Figure 6 : La fusariose sur le blé de printemps	20
Figure 7: La fusariose sur l'orge	21
Figure 8 : Grains sains (à gauche) et grains endommagés par le <i>Fusarium</i> dans le cas du blé (en haut), de l'orge (au centre) et de l'avoine (en bas).....	22
Figure 9: Montage d'hydrodistillation (Batterie de quatre appareils de type Clevenger).....	27
Figure 10: Les teneurs moyennes en huiles essentielles étudiées	33
Figure 11: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Mentha piperita</i>	35
Figure 12: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i>	37
Figure 13: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	38
Figure 14: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	39
Figure 15: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. piperita</i>	40
Figure 16: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. piperita</i> vis-à-vis de <i>Fusarium culmorum</i> (BD17).	40
Figure 17: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> vis-à-vis de <i>Fusarium graminearum</i> (INRA349)	41
Figure 18: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> vis-à-vis de <i>Fusarium culmorum</i> (BD17),	41
Figure 19: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>Fusarium graminearum</i> (INRA349).	42
Figure 20: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>Fusarium culmorum</i> (BD17).	43
Figure 21: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> vis-à-vis de <i>Fusarium graminearum</i> (INRA349).	44
Figure 22: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> vis-à-vis de <i>Fusarium culmorum</i> (BD17).	44
Figure 23: Effet de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>F. graminearum</i>	47
Figure 24: Effet de l'huile essentielle de <i>M. piperita</i> vis-à-vis de <i>F. graminearum</i>	47
Figure 25: Effet de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> vis-à-vis de <i>F. graminearum</i> -	47
Figure 26: Effet de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> vis-à-vis de <i>F. graminearum</i>	47
Figure 27: Résultats du test de CMI de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>Fusarium graminearum</i>	48
Figure 28: Résultats du test de CMF de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>Fusarium graminearum</i>	48
Figure 29: Effet de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>F. culmorum</i>	50

Figure 30: Effet de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> vis-à-vis de <i>F. culmorum</i>	50
Figure 31: Effe de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> vis-à-vis de <i>F. culmorum</i>	50
Figure 32: Effet de l'huile essentielle de <i>M. piperita</i> vis-à-vis de <i>F. culmorum</i>	51
Figure 33 : Résultats du test de CMF de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis de <i>Fusarium culmorum</i>	51
Figure 34: Profils chromatographique de l'huile essentielle de <i>M. piperita</i> obtenu par CPG.....	66
Figure 35: Profils chromatographique de l'huile essentielle de <i>M. pulegium</i> obtenu par CPG	66
Figure 36 : Profils chromatographique de l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> obtenu par CPG	67
Figure 37 : Profils chromatographique de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i> obtenu par CPG.....	67

Liste des abréviations

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
CMF	: Concentration minimale fongicide
CMI	: Concentrations minimales inhibitrices
CPG	: Chromatographie en phase gazeuse
FAO	: Food and Agriculture Organisation
FID	: Détecteur à ionisation de flamme
H	: Heure
H.E	: huiles essentielle
H.E.C.T	: Huile Essentielle Chémotypée
IK	: Indices de Kovats
IRL	: Indice de Rétention Linéaire
J	: Jour
min	: Minute
ml	: Millilitre
PDA	: Potato Dextrose Agar

Introduction

Introduction

L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident. Comme en témoignent les textes, rédigés plusieurs millénaires avant notre époque, les sumériens, les égyptiens, les chinois et les indiens, possédaient toute une panoplie de remèdes à base de plantes **(Labioud, 2016)**.

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. Les traitements par les plantes tiennent une place prépondérante et connaissent un nouvel engouement vu la part croissante d'utilisation des plantes médicinales. La phytothérapie apparaît dès lors comme providentielle. Elle offre un axe de recherche et de développement stratégique.

L'industrie médicale mondiale utilisant les Plantes Aromatiques et Médicinales « PAM » a augmenté de façon exponentielle au cours de ces dernières décennies et connaît un succès accru, suite à la révolution « bio », « environnement sain » et « développement durable ». Le règne végétal est une source présumée inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels **(Chikhi, 2014)**.

L'aromathérapie fait partie de ce patrimoine végétal qu'il faudrait préserver et protéger **(Zhiri et Baudoux, 2005)**.

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments. En outre, les huiles essentielles se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques comme antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux et anticancéreux **(Lahlou, 2004)**. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants ; valeur dépendant de l'intégralité de ses constituants et pas seulement des composés majoritaires **(Lahlou, 2004)**.

La fusariose est une des maladies les plus importantes altérant le blé dans le monde **(Leplat, 2012)**. Plusieurs espèces du genre *Fusarium* causent des dégâts très importants du point de vue agroalimentaire, elles sont considérées comme des champignons du champ, infectant principalement le blé et le maïs. Ce qui se traduit non seulement par une réduction du rendement des cultures par la fusariose, mais aussi par la production d'une large gamme de mycotoxines.

Le déoxynivalénol est une toxine appartenant à la famille des trichothécènes. Il est produit principalement par les espèces *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* (Gutleb *et al.*, 2002).

La lutte chimique utilisant des fongicides présente plusieurs inconvénients tels que les problèmes de pollution environnementale qui est aussi considérée comme un problème sérieux pour la santé humaine. De plus, l'utilisation de ces produits de synthèse peut stimuler la biosynthèse des mycotoxines et entraîner le développement de souches résistantes (Kanda, 2003 ; Caron et Laverdiere, 2003).

Plusieurs méthodes de lutte ont été utilisées telles que la méthode chimique, génétique, culturale, ainsi que la méthode biologique, mais toutes ces méthodes sont restées vaines. Par contre, une nouvelle discipline voit le jour. Elle fait partie des méthodes biologique. Cette méthode consiste à utiliser des huiles essentielles (Kolai *et al.*, 2012).

Dans ce travail, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles de quatre plantes (*Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* poussant localement et qui sont plus fréquemment employé dans la tradition algérienne) sur la croissance des moisissures (*Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*) de fusariose des céréales comme substances naturelles alternatives des produits chimiques utilisées dans le traitement. Nous avons, aussi, étudié la composition chimique de ces quatre huiles.

Nous avons organisé notre travail en trois grandes parties :

- La partie I : la synthèse bibliographique sur les huiles essentielles et les moisissures.
- La partie II : la description des plantes étudiées, l'étude expérimentale et les méthodes analytiques de notre travail.
- La partie III : la présentation des résultats obtenus ainsi que leurs interprétations et discussion.
- Enfin, nous terminerons ce document par une conclusion, suivie de perspectives de recherche à venir puis la liste des références bibliographiques et les annexes.

Étude bibliographique

Partie I : Etude bibliographique

I.1. Les huiles essentielles (HE)

I.1.1. Introduction

Les plantes, de façon générale, et aromatique, en particulier, se caractérisent par deux types de métabolismes : le métabolisme primaire fournit les constituants de base en quantité élevée. Les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines. Le métabolisme secondaire produit des métabolites, en faible quantité, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier en pharmaceutique et cosmétique, voire nutritionnel, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles, ou essences, les alcaloïdes et les phénols font partie de ce groupe de métabolites.

I.1.2. Bref historique

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales « P.A.M. » est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, 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.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles HE datent de l'an 3000 avant J.C. (**Sofowara, 2017 in Fekih, 2015**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine, depuis ses premières genèses.

En Egypte, l'utilisation de baumes et résines aromatiques remonte à l'époque des pharaons : embaumement, momification et divers autres usages. Les grands prêtres et médecins égyptiens ont transcrit leurs connaissances sur des papyrus et leur savoir, a constitué le fondement de l'aromathérapie.

Dans l'histoire moderne, les vertus thérapeutiques des huiles essentielles occupent une place de plus en plus importante. En 1928, le chimiste français René-Maurice Gatte fosse a utilisé le terme aromathérapie pour décrire les propriétés curatives des huiles essentielles lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brûlure à sa main. En 1964 le docteur français Jean Valun et a connu du succès en traitant des patients en médecine et en psychiatrie. Aujourd'hui, nous reconnaissons que les huiles essentielles ont des effets pharmacologiques, psychologiques et physiologiques sur l'homme (**Bassene, 2012 et Garreta, 2007 in Fekih, 2015**).

I.1.3. Définitions des huiles essentielles

Une huile essentielle est un liquide aromatique issu de plantes. On l'extrait de certains organes de plantes riches en essences odorantes (**Festy, 2014**).

La norme AFNOR définit une huile essentielle comme étant l'extrait obtenu à partir d'une matière première végétale, par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche ou par expression des épicarpes de *Citrus* (**AFNOR, 1989**).

Cette définition par procédé d'obtention est restrictive. Elle exclut les produits obtenus par tout autre procédé d'extraction (solvants organiques, fluides à l'état supercritique, enflourage ...etc.).

Ainsi, c'est l'origine de la matière première et le mode technologique de préparation qui définissent une huile essentielle.

Pour la Pharmacopée européenne (6^e édition), une huile essentielle est un Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie. Le plus souvent, séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif dans sa composition (**Bruneton, 2009**).

I.1.4. Répartition, Localisation et rôle des huiles essentielles

I.1.4.1. La répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Il y aurait, selon Lawrence, 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles telles que *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Poaceae*...etc. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux. On en trouve dans les fleurs (bergamotier, tubéreuse), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et, plus rarement, dans l'écorce (cannelier), le bois (bois de rose, santal), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits (toute-épice, anis, badiane) et les graines (muscade) (**Bruneton, 2009**).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. Ainsi, dans le cas de l'oranger amer (*C. aurantium* Lssp. *Aurantium* ; *Rutaceae*), le «zeste», c'est-à-dire le péricarpe frais du fruit, fournit l'huile essentielle d'orange amère ou «essence de Curaçao», la fleur fournit «l'essence de Néroli» et l'hydrodistillation de la feuille, des ramilles et des petits fruits produit «l'essence des petites graines du Bigaradier». La composition de ces trois huiles essentielles est différente (**Bruneton, 2009**).

Quantitativement, les teneurs en huile essentielle sont plutôt faibles. Assez souvent, inférieures à 10 ml/kg. Des teneurs fortes, comme celle du bouton floral du giroflier (150 ml/kg et plus dans le bouton séché), sont exceptionnelles.

I.1.4.2. La localisation

L'huile essentielle se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage (**Bruneton, 2009**). Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (*Myrtaceae, Rutaceae*), dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae, Composées*) ou dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

I.1.4.3. Le rôle

Les huiles essentielles permettent, entre autres, à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés répulsives ou attractives vis-à-vis des insectes. La pollinisation des fleurs est, économiquement, très importante pour les arbres fruitiers. Elles présentent aussi des propriétés antiseptiques dirigées contre les parasites du sol et des propriétés inhibitrices sur la germination des graines sur le sol (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**). Pour quelques auteurs, les composants terpéniques des huiles essentielles pourraient constituer des supports à une «communication», d'autant plus que leur variété structurale autorise le transfert de «messages biologiques» sélectifs (**Bruneton, 2009**).

I.1.5. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont des substances odorantes volatiles contenues dans les végétaux. En général, elles sont liquides à la température ambiante. Leur densité est généralement inférieure à 1 ; leur indice de réfraction est souvent élevé ; elles sont dotées d'un pouvoir rotatoire. Peu solubles dans l'eau, mais sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Elles peuvent être incolores ou colorées (**Samate, 2002**). Sensibles à l'altération, elles ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

I.1.6. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

I.1.6.1. Facteurs intrinsèques

Liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (Période de récolte, type de sol, climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire, au moment de la récolte dans la journée.

I.1.6.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs de l'environnement comme l'humidité relative de l'air, la température, la durée de l'insolation, l'altitude et autres influent directement sur la proportion des différents constituants d'une huile essentielle, surtout chez les espèces dont les structures sécrétrices sont superficielles (Cas des poils sécréteurs des lamiacées), les conditions de culture (Nature du sol, apport en engrais...), le procédé d'extraction, le temps d'extraction, d'autres facteurs tels que les traitements préliminaires (Conditions de transport, durée de séchage et de stockage du matériel végétal...) peuvent engendrer une grande variabilité de la composition d'une huile essentielle, suite à des dégradations enzymatiques (**Besombes, 2008**).

I.1.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

La majorité des huiles essentielles sont extraites, à partir des plantes, par différents types de distillation ou bien par expression à froid, dans le cas des huiles des zestes des citrus (mandarine, orange, citron...).

I.1.7.1. La distillation

La distillation est le procédé le plus courant d'extraction des huiles essentielles.

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

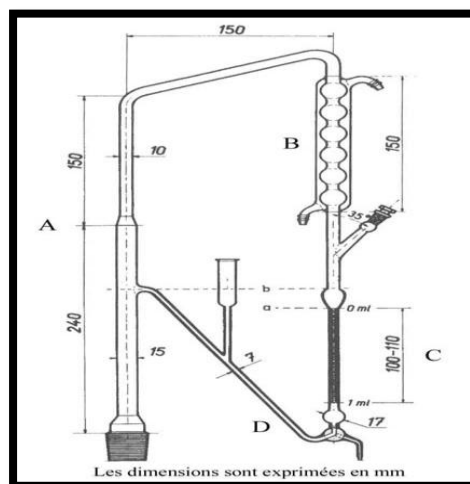


Figure 1: Appareil utilisé pour l'extraction des huiles essentielles

(**Bruneton, 2009**).

B. Entraînement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée) : Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est pulsée à travers la masse végétale, disposée sur des plaques perforées. Les cellules se relâchent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle se fait par la même procédure que dans l'hydrodistillation. Ce procédé a été mis au point de façon à éviter l'hydrolyse des composants de l'huile essentielle (**Bruneton, 2009; Muther, 2015**).

C. Hydrodiffusion : Elle consiste à propulser de la vapeur d'eau à très faible pression (entre 0,02-0,15 Bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas. 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 ; Figueredo, 2007**).

D. Hydrodistillation par micro-ondes, sous vide : Une nouvelle technique, récemment développée, est rapportée par plusieurs auteurs. Elle permet d'extraire les huiles essentielles en un temps court et avec un rendement relativement élevé (**Paré et al., 1989 ; Collin et al., 1991 ; Bouzid et al., 1997 ; Brosseau, 1997 ; Chiasson et al., 2001 ; Ghouami et al., 2001 in Lahlou, 2004**). Ce Procédé, très rapide et consommant peu d'énergie et d'eau, 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 de l'hydrodistillation traditionnelle (**Bruneton, 2009**).

Microwave assisted process ou *MAP* utilise des micro-ondes pour exciter les molécules d'eau présentes dans les tissus de la plante, en causant la rupture des cellules et la libération des huiles essentielles piégées (**Bélangier et al. 1991 in Lahlou, 2004**).

I.1.7.2. L'expression à froid

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles d'agrumes (citron, orange, bergamote, mandarine, ...etc.). Le principe de l'extraction consiste à rompre les poches à essence par un moyen mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. L'huile essentielle mélangée à l'eau cellulaire est séparée par décantation ou centrifugation.

Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (**Bruneton, 1993 in Samate, 2002**).

I.1.8. Conservation des huiles essentielles

Les molécules constituant les huiles essentielles sont instables ; ce qui rend leur conservation difficile. Les possibilités de dégradation sont nombreuses. Elles peuvent modifier les propriétés du produit. Pour la conservation, on utilise des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydables ou en verre teinté anti actinique, presque entièrement remplis et scellé par un bouchon étanche, afin d'éviter l'évaporation.

La conservation des huiles essentielles se fait à une température variante entre 5°C à 35°C. Dans ces conditions, les huiles essentielles pures et naturelles se conserveront pendant, au moins, 5 ans. Certaines huiles, telles que les essences de Citrus, se conservent un peu moins (3 ans) (Bruneton, 2009 ; Zhiri et Baudoux, 2005).

I.1.9. La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes, d'une part, et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 2009).

I.1.9.1. Les terpènes

D'une manière générale, les huiles essentielles ne contiennent que les terpènes les plus volatils ; ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : les mono- et les sesquiterpènes (Bruneton, 2009).

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'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈). Ils sont subdivisés, selon le nombre d'entités d'isoprènes en **monoterpènes**, formés de deux isoprènes (C₁₀H₁₆), en **sesquiterpènes**, formés de trois isoprènes (C₁₅H₂₄), en **diterpènes**, formés de quatre isoprènes (C₂₀H₃₂). **Les tétraterpènes** sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. **Les polyterpènes** ont pour formule générale (C₅H₈)_n où 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 représentant la majorité des constituants des H.E ; parfois plus de 90%. Ils peuvent être acyclique (Myrcène, o-Cymène), monocyclique (Terpinène, p-Cymène) ou bicyclique (pinène, Sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique :

- Alcools : géranol, menthol ;
- Aldéhydes : Géranol, Citronellal, Sinalal ;
- Cétones : Carvone, Menthone, β - Vétivone ;
- Esters : acétate de géranyle, acétate de linalyl, acétate de cédryle, acétate α Terpényl ;
- Peroxydes : ascaridol, allicine (**Bruneton, 2009**).

• Les sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme telles que β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α - bisabolol, farnésol (**Bruneton, 2009**).

I.1.9.2. Les composés aromatiques

De manière moins systématique que les terpénoïdes, une autre famille chimique est fréquemment rencontrée parmi les composés volatils. Il s'agit des dérivés du phénylpropane (C_6-C_3). Ce sont très souvent des allyle- et des propénylphénols ; parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés C_6-C_1 comme la vanilline (assez fréquente) ou l'anthranilate de méthyle.

Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) sont, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînés par la vapeur d'eau. Elles sont également présentes dans certaines huiles essentielles (**Bruneton, 2009**).

I.1.9.3. Les composés d'origines diverses

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles :

- Composés issus de la dégradation d'acides gras ;
- Composés issus de la dégradation des terpènes ;
- Composés azotés et soufrés.

Ces composés contribuent, souvent, aux arômes des fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'elles sont entraînés par la vapeur d'eau (**Bruneton, 2009**).

I.1.10. Notion de chémotype

Le chémotype d'une HE est une forme de classification chimique, biologique et botanique, désignant la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante (la géo-localisation, le climat, le sol, l'exposition des végétaux, les facteurs phytosociologiques et la période de récolte) qui peuvent influencer la composition de l'huile essentielle. Il s'agit, dans ce cas, d'une Huile Essentielle Chémotypée "H.E.C.T". Cette variation chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Romarin officinalis*, et *Eucalyptus* sp (**Zhiri et baudoux, 2005**).

I.2. La famille des lamiacées

La famille des lamiacées ou labiées, aussi nommée labiacée, est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences. Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 258 genres et 6970 espèces.

La famille des lamiacées est très importante dans la flore d'Algérie. Ses espèces sont souvent des plantes herbacées, ou sous arbrisseaux à poils glanduleux, en général aromatiques. Leur tige est carrée. Certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs bisexuées, irrégulières groupées, à l'aisselle des feuilles, en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est synsépale, bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle est un tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure (**Labioud, 2016**).

I.3. Quelques activités biologiques

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. Elles sont utilisées, en phytothérapie, pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, telles que les bactéries endo canalaires (**Billerbeck, 2008 in Randrianarivelo, 2010**) ; et d'origine fongique contre les dermatophytes (**Duarte, Figueira, Sartoratto, Rehder et Delarmelina, 2005 in Randrianarivelo, 2010**). Elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (**Bakkali et al., 2008**) qui les rapprochent, en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre, des antiseptiques et des désinfectants.

De nombreuses études ont montré que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (**Lahlou, 2004**) et les effets synergiques entre les composants.

Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, ainsi que leurs proportions jouent un rôle déterminant (**Pibiri, 2006**).

I.3.1. Propriétés antibactériennes

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de contrôler les bactéries les plus puissantes, comme le staphylocoque, le bacille de Koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde). Les huiles essentielles ont une double action contre les bactéries: elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles peuvent en arrêter la prolifération (effet bactériostatique) (**Fekih, 2015**).

Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols. Elles sont contenues, par exemple, dans l'huile essentielle du clou de girofle (**Mayer, 2012**).

I.3.2. Propriétés anticancéreuses

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa L.*, démontre une activité cytotoxique in vitro contre différentes lignées tumorales. In vivo, elle limite la prolifération des métastases hépatiques (**Toure, 2015**).

I.3.3. Propriétés antiparasitaires

Les huiles essentielles détruisent les parasites. Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites ; celle des cétones et des lactones l'est moins. Le Nérolidol, un sesquiterpène actif dans les feuilles de la plante *Viola surinamensis* d'Amazonie, possède une activité anti-malaria, prouvée par les études de **Lopes et al., (1999)**. Son huile essentielle cause 100% d'inhibition du développement de l'agent infectieux. Cette activité serait liée à l'inhibition de la biosynthèse des glycoprotéines (**El-houiti, 2010**).

I.3.4. Propriétés antivirales

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles. Ce fait confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire (**Fekih, 2015**).

I.3.5. Propriétés antifongiques

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons: *C. albicans*, *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus* et *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* (**Kalemba et Kunicka, 2003 in Labiod, 2016**).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature, pour leurs propriétés antifongiques, appartiennent à la famille des *Lamiaceae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin et sauge. Etant donnée la grande complexité de la composition chimique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies, certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir, ensuite, le comparer à l'activité globale de l'huile.

Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou *et al.*, 1988 in Labiod,2016**).

Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : phénols, alcools, aldéhydes, cétones, éthers et hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldehyde s'est révélé le plus actif (**Hsu *et al.*,2007**).

I.4. Mode d'action des huiles essentielles

Très peu d'études ont porté sur le mode d'action des HE vis-à-vis des microorganismes. Cependant, plusieurs effets ont été notés :

En général, les HE empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines chez les bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium. Sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et influent la toxicogénèse.

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson *et al.*,2002 in Labiod, 2016**). Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. Le mode d'action des HE dépend, en premier lieu, du type et des caractéristiques des composants actifs. Leur propriété hydrophobe leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne ; ce qui semble induire un changement de conformation de la membrane.

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- * Interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- * Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- * Destruction ou inactivation du matériel génétique, conduisant à la mort ; (**Labiod, 2016**).

I.5. Les moisissures

I.5.1. Généralités

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important.

Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs ...). Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leur développement) et ubiquistes.

La caractéristique majeure des champignons est leur mode de reproduction ; ils produisent un grand nombre de spores, ce qui leur assure un pouvoir de contamination considérable. Les spores sont issues de plusieurs modalités de reproduction sexuée ou asexuée qui représentent le principal critère de leur classification. **(Tabuc, 2007).**

L'appareil végétatif des champignons est un thalle composé de filaments (hyphes) ramifiés dont l'ensemble constitue le mycélium. Ils se reproduisent grâce à des spores. Celles-ci sont issues soit d'une reproduction sexuée (champignon téléomorphe) ou d'une multiplication asexuée (champignon anamorphe). Certains champignons, chez qui les deux formes coexistent sont appelés holomorphes. Différents groupes de moisissures ont été définis suivant leur mode de reproduction sexuée et les caractéristiques de leurs spores : Les zygomycètes possèdent des spores contenues à l'extérieur d'une cellule renflée ; Les ascomycètes ont des spores regroupées dans des sortes de sacs ; Les basidiomycètes qui ont des spores portées par des basides ; Les hyphomycètes constituent un groupe hétérogène dont on ne connaît pas, actuellement, pour la plupart, la forme de reproduction sexuée **(Nguyen, 2007)**. Les Moisissures se rencontrent dans tous les groupes, en particulier dans les Hyphomycètes mais sont assez peu nombreuses chez les Basidiomycètes. Dans le cas d'une reproduction asexuée, il y a formation, à partir d'un hyphe spécialisé nommé conidiophore, de spores mitotiques qui sont des excroissances appelées conidies **(Nguyen, 2007)**.

La prolifération des moisissures pathogènes entraîne une diminution de l'innocuité des aliments et représentent un risque pour la santé du consommateur. La production de métabolites secondaires comme les mycotoxines est responsable d'un taux élevé de toxicité et la présence de ces métabolites représente donc un risque sanitaire majeur pour la santé humaine et animale. Une espèce donnée de champignon microscopique peut générer plusieurs types de mycotoxines, et une même mycotoxine peut être produite par plusieurs espèces de moisissures.

L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) estime qu'environ de 25% des céréales produites dans le monde sont contaminées par des mycotoxines (**Rice, 1994**). Les mycotoxines sont soit d'origine endogène et dans ce cas on peut les retrouver dans les spores ou le thalle, soit d'origine exogène, on les retrouve alors au sein du substrat de développement de la moisissure. Les mycotoxines les plus répandues sont les aflatoxines, produites par des espèces d'*Aspergillus*, les ochratoxines produites par certaines espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, les fumonisines, les trichothécènes et les zéaralénones produites par des espèces de *Fusarium*, et la patuline produite par un certain nombre d'espèces d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Paecilomyces* (**Marin, 2013**). L'ochratoxine A, considérée comme l'une des mycotoxines les plus nocives pour la santé humaine, est présente essentiellement dans les produits tels que les céréales, le cacao et le café, et c'est la mycotoxine principalement retrouvée dans le raisin, le vin et le jus de raisin (**Terra, 2012**). La patuline, très toxique pour la consommation humaine, est présente au niveau des fruits et notamment dans les pommes et les poires (**Moss, 2008**).

I.5.2. Les principaux genres fongiques

Les genres les plus connus qui sont à l'origine de problèmes économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusariums* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale. Dans notre étude nous nous sommes intéressés beaucoup plus au genre *Fusarium*.

Ce genre inclue des champignons imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques Ascomycètes, espèces de *Fusarium*, sont connues. Elles appartiennent à l'ordre des Hyphocreales, famille des Nectriaceae, genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*). Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade 39 parfait n'est pas connu. Le genre comprend près de 40 espèces, souvent, largement répandues (**Nelson et al., 1983**). Sur le plan économique, le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles de causer des maladies (fusarioses) chez de nombreuses espèces de plantes. De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge et avoine), des légumes, des plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers. La majorité des espèces de *Fusarium* sont susceptibles de produire des mycotoxines et sont ainsi impliquées dans des intoxications chez les animaux d'élevage (**Tabuc, 2007**).

I.5.3. Les caractères culturaux

Les *Fusarium* poussent sur le milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu PDA (Potato-dextrose-agar). Leur température optimale de croissance est comprise entre 22 et 37°C. Les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleurs variables (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas), selon l'espèce. Le revers peut être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette *et al.*, 1993).

I.5.4. Biologie des champignons du genre *Fusarium*

• Cycle biologique

L'infection d'une plante par une espèce du genre *Fusarium* peut avoir plusieurs origines :

- Une origine biotique dans le cas d'un oiseau ou d'un insecte qui transporterait des spores et les disséminerait dans la nature ;
- Ou bien une origine abiotique lorsque c'est le vent ou la pluie qui permet la dissémination des spores dans la nature (Mongrain *et al.*, 2000).

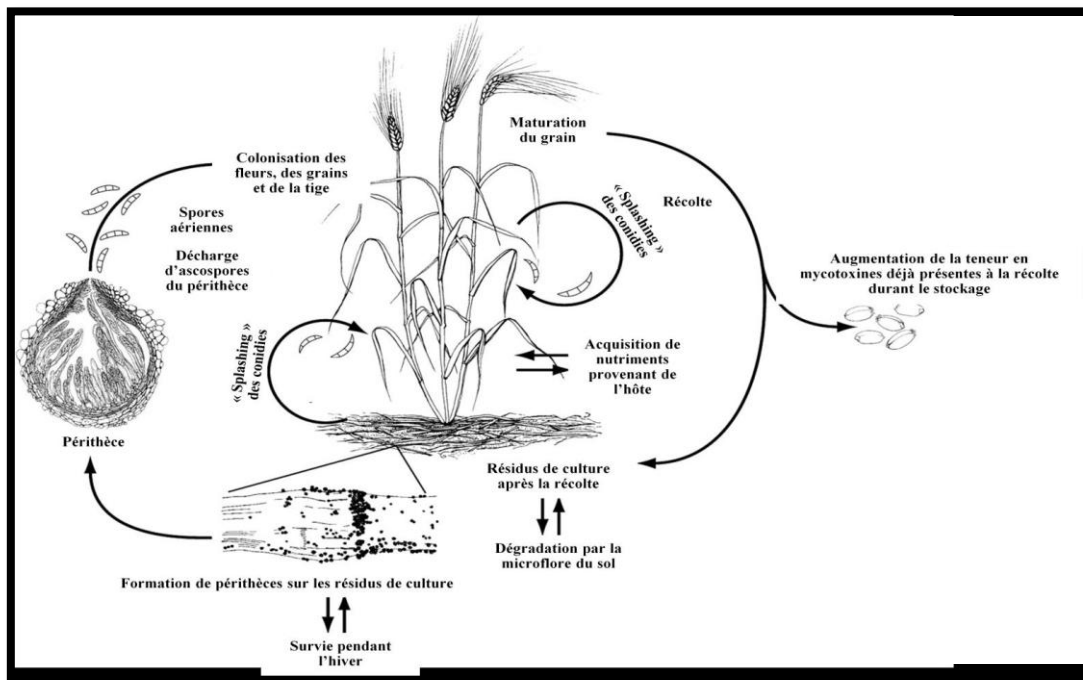


Figure 2 : Cycle biologique de *Fusarium* (F.P. : *Gibberella*) sur les céréales (Trail, 2009)

•L'infection

La spore qui se trouve sur la plante hôte germe en produisant un mycélium. Les hyphes qui forment le mycélium parviennent à pénétrer dans la plante, c'est-à-dire à l'infecter, par des ouvertures naturelles ou des blessures, à la surface de la plante. Lorsque le champignon s'introduit dans un tissu, celui-ci commence par progresser de manière intercellulaire, c'est la phase asymptomatique de la maladie.

L'hyphe pénètre dans les cellules de l'hôte (Figure3) en traversant la paroi. Le champignon rejoint les vaisseaux conducteurs du xylème et se développe, ainsi, dans la moelle de la tige. Cela permet au champignon de progresser dans l'ensemble de la plante. C'est le début de la phase symptomatique, avec formation de nécroses, sur la tige et décoloration des tissus. (**Kang et Buchenauer, 2002**).

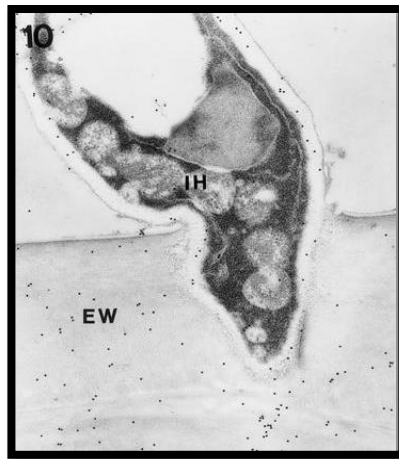


Figure 3 : Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphe de *Fusarium culmorum* (**Kang et Buchenauer, 2002**).

EW : Paroi de la cellule de l'épiderme ; **IH :** Hyphe du parasite.

I.5.4.1. *Fusarium culmorum*

Le thalle est à croissance rapide. Il est d'abord blanc à jaunâtre ou rose puis ocracé à rouge brunâtre avec un revers rouge à pourpre. Les microconidies sont absentes. Les phialides sont courtes et larges, formées sur le mycélium aérien ou groupées en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, courbes, septées, à cellule apicale courte et pointue. Les chlamydospores sont intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, subglobuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (**Jeunot, 2005**) ; la figure 4 présente les caractéristiques morphologiques de *Fusarium culmorum*.

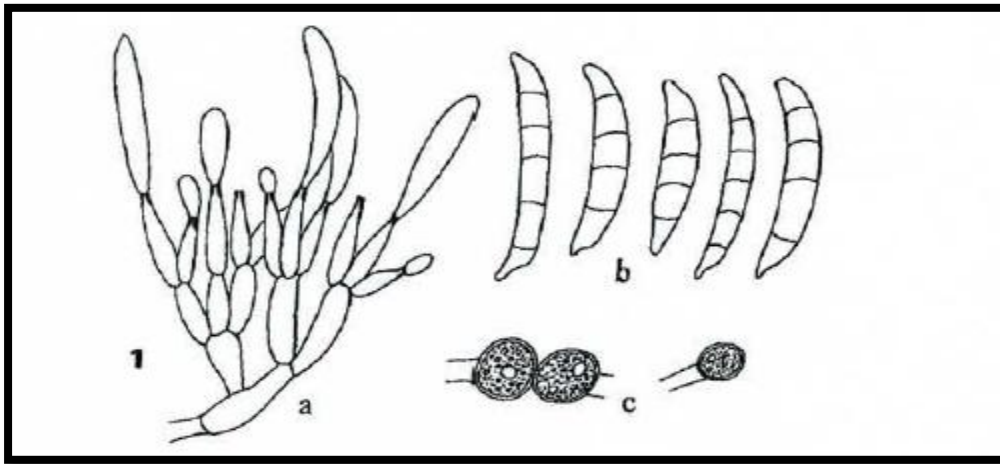


Figure 4 : Caractéristiques morphologiques de *Fusarium culmorum* (Jeunot, 2005)

1. *Fusarium culmorum* ; a. macrophialides et macroconidies ; b. macroconidies ;
c. chlamydospores.

I.5.4.2. *Fusarium graminearum*

Le thalle est rose grisâtre ou rouge à pourpre devenant brun vineux, floconneux. Il n'y a pas de microconidies. Les phialides peuvent s'agréger en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, courbes, septées, à cellule terminale longue et pointue. Les chlamydospores sont intercalaires, globuleuses, hyalines à brun pâle, formées par le mycélium, ou plus rarement dans les macroconidies.

Les périthèces sont formés dans la nature sur un grand nombre de graminées. Les asques sont clavés et octosporés. Les ascospores sont hyalines ou brunes très claires, fusordes, triseptées (Jeunot, 2005) ; la figure 5 présente les caractéristiques de *Fusarium graminearum*.

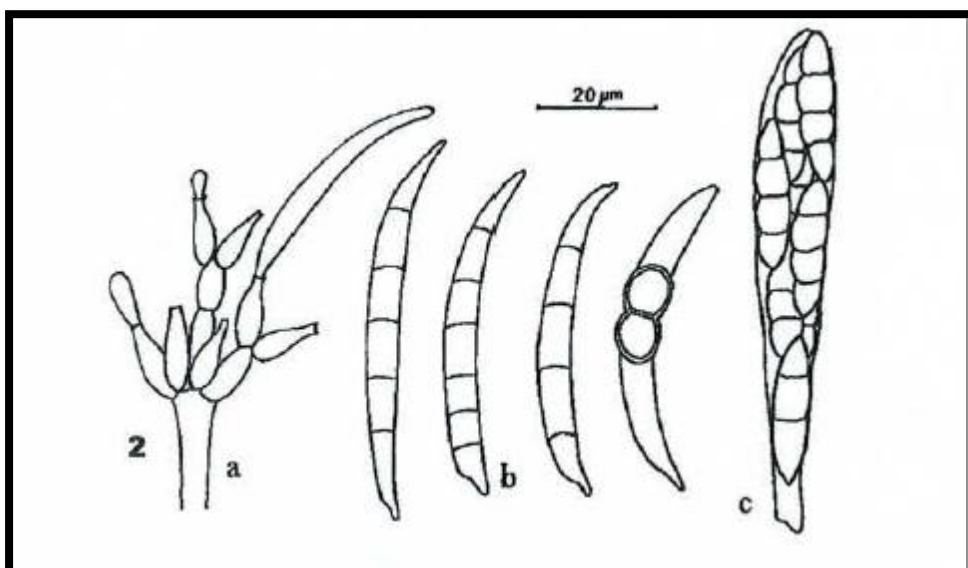


Figure 5 : Caractéristiques morphologiques de *Fusarium graminearum* (Jeunot, 2005)
a. macrophialides et macroconidies ; b. macroconidies ; c. asque octosporé.

I.6. La maladie causée par les *Fusarium* (la fusariose)

La Fusariose des céréales est une maladie fongique courante des petites céréales. Elle est causée, principalement, par *Fusarium graminearum*, un champignon qu'on trouve sur toute une large gamme d'hôtes, dont le blé, l'orge, l'avoine, le maïs, le seigle et les herbages gaminés. Cette fusariose frappe toutes les céréales communes dans la région de l'Atlantique, mais elle est particulièrement courante sur le blé de printemps. Son apparition dépend de la présence du pathogène et des conditions environnementales favorables, à partir du stade de la floraison. Selon le type de céréale, la fusariose peut entraîner des pertes de rendement, une production de grains ratatinés et légers, ou la contamination par des mycotoxines. Des infections du collet et des racines par des espèces de *Fusarium* peuvent, aussi, se manifester **(Richard, 2004)**.

I.6.1. Les symptômes

• Chez le blé

Les symptômes sont très visibles dans le champ car ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi (Figure 6).

Les premiers symptômes apparaissent, souvent, au centre de l'épi d'où ils progressent, ensuite, vers le haut et vers le bas. La maladie se développe et se propage parfois très rapidement et peut affecter la totalité de l'épi. Une coloration allant de rose à orange saumon peut apparaître sur les épillets infectés, surtout lors de périodes d'humidités prolongées. De petits organes de fructification noirs produits par le champignon peuvent apparaître tard dans la saison (Figure 6). Les grains mûrs peuvent être ratatinés, légers, blanc crayeux ou parfois roses (on parle alors de grains momifiés ou endommagés par le *Fusarium*) (Figures 6 et 7). Les grains momifiés sont souvent plus lourdement contaminés par les mycotoxines **(Richard, 2004)**.



Figure 6 : La fusariose sur le blé de printemps

- **Chez l'orge**

Les symptômes ne sont pas aussi apparents que chez le blé. L'infection peut donner aux épillets une coloration foncée et être confinée à quelques groupes d'épillets sur certains épis (Figure 7).

Les superficies infectées peuvent présenter la coloration de rose à orangée que l'on observe communément chez le blé. Les grains infectés que l'on récolte peuvent être de couleur foncée ou rose ou porter des organes fongiques noirs (Figure 8). La grosseur du grain n'est pas aussi sérieusement affectée que chez le blé. Il importe de ne pas confondre la brûlure fusarienne de l'épi avec d'autres maladies qui peuvent affecter les épis et présenter des symptômes similaires (p.ex. rayure réticulée et tache helmintho sporienne) (**Richard ,2004**).



Figure 7: La fusariose sur l'orge

- **Chez l'avoine**

Les symptômes sur le terrain sont souvent discrets et peuvent être confondus avec ceux d'autres maladies. Une coloration de rose à orangée peut apparaître sur des épillets infectés, surtout durant des périodes d'humidité prolongée. Comme pour l'orge, le grain infecté peut prendre une teinte plus foncée tirant sur le rose (Figure 8). La grosseur du grain n'est pas aussi sérieusement affectée que chez le blé (**Richard, 2004**).



Figure 8 : Grains sains (à gauche) et grains endommagés par le *Fusarium* dans le cas du blé (en haut), de l'orge (au centre) et de l'avoine (en bas)

Matériels et méthodes

Partie II : Matériels et Méthodes

II.1. Matériels biologiques

II.1.1. Les plantes étudiées

Dans ce travail, nous avons étudié quatre espèces de plantes appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Les informations (noms des plantes, régions et mois de collecte) sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1: Les plantes étudiées, leurs noms scientifiques, communs et le mois de la collecte

Nom botanique	Nom commun	Région	Mois de récolte
<i>Mentha piperita</i>	Nânâ Har	El-hadjeb(Laghouat)	Juin 2017
<i>Mentha pulegium</i>	Flio	Aflou (Laghouat)	Juin 2017
<i>Thymus vulgaris</i>	Zaâtar Djebel	Aflou (Laghouat)	Juin 2017
<i>Thymus algeriensis</i>	Djertil	Aflou (Laghouat)	Juin 2017

II.1.1.1. Les caractéristiques botaniques des plantes étudiées

• *Mentha piperita*

C'est une plante vivace d'une très grande vigueur se propageant par stolons. Elle est caractérisée par des tiges quadrangulaires le plus souvent violacées, par des feuilles simples opposées-décussées, ovales-aigues, dentées, et par des inflorescences de fleurs faiblement bilabiées de couleur pourpre groupées en épis très serrés. La multiplication se fait uniquement par voie végétative. Le développement de la plante nécessite un climat tempéré, un apport en eau et un ensoleillement suffisant. La récolte a lieu au début de la période de floraison (**Bruneton, 2009**). Elle est cultivée pour son huile dans le monde entier (**Iserin, 2001**). La *Menthe poivrée* est très active, son arôme intense et sa saveur piquante, laissant une sensation de froid, sont assez révélateurs. Elle est principalement utilisée par les industries pharmaceutiques, de la cosmétique et de la confiserie (**Baba Aissa, 2011**).

• *Mentha pulegium*

C'est une plante vivace, velue à presque glabre, haute de 10 à 40 cm, à forte odeur mentholée. Tige ascendante rameuse. Les feuilles sont opposées, brièvement pétiolées, étroitement elliptiques, de 8 à 30 mm de long et de 4 à 12 mm de large, entières ou dentées. Les fleurs sont en faux verticilles globuleux, très fournis et écartés les uns des autres. Calice bilabié de 2,5 à 3 mm de long, à dents ciliées. Corolle tubuleuse presque régulière de 5 à 7 mm de long, blanche ou mauve, à 4 lobes égaux (**Lippert et Podlech, 2008**). Le pouliot est une des menthes les plus populaires ; son emploi remonte à l'antiquité. L'odeur agréable du pouliot semble déplaire à certains parasites, et son pouvoir insecticide est bien établi.

Autrefois on en brûlait dans des locaux infectés par les puces ; on l'utilisait aussi sous forme de lotion sur le pelage des animaux domestiques pour les débarrasser de leurs nuisibles parasites (**Baba Aissa, 2011**).

• *Thymus vulgaris*

C'est une plante vivace d'un vert grisâtre (surtout l'été), à tiges ligneuses et à rameaux dressés, compacts ; feuilles très petites, ovales lancéolées, charnues, veloutées, à bords enroulés, plus ou moins sessiles et opposées ; fleurs roses ou blanchâtres, en épis courts, axillaires et terminaux ; calice bossu, velu ; tétrakènes brunâtres ; saveur aromatique légèrement piquante (**Baba Aissa, 2011**). Le thym est un arbuste odorant qui pousse spontanément dans la région méditerranéenne et c'est une plante qui a une longue tradition (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

L'utilisation du thym est l'un des remèdes populaires les plus utiles, dans les traitements des affections respiratoires (rhumes, gripes, angines) et des troubles gastriques (dyspepsies, crampes, flatuosités). Son essence a une action neutralisante spectaculaire sur les cultures microbiennes (**Baba Aissa, 2011**).

• *Thymus algeriensis*

C'est une plante ligneuse, formant souvent des coussinets. Rameaux serrés, grêles, plus ou moins dressés et velus, recouverts de feuilles opposées, effilées, courtement pétiolées, glabres, mais légèrement ciliées à la base, un peu enroulées sur les bords; limbe ponctué très glanduleux, mesurant 1 à 2 cm de long sur 2 à 3 mm de large. Les bractées sont peu différentes, lancéolées et égalant ou dépassant les calices. Fleurs rosées, en capitules terminaux, avec un calice glanduleux, glabre ou légèrement velu, long de 5 à 6mm et à 2 lèvres égales. Corolle dépassant de très peu le calice bilabié et à lobe médian plus grand (**Beloued, 2005**).

Le thym d'Algérie est un amer astringent, stomachique, diaphorétique, antispasmodique et stimulant. On utilise les sommités et les jeunes rameaux fleuris. L'infusion est utile contre toutes les maladies infectieuses, comme la grippe, la pneumonie et les affections de l'appareil respiratoire. La distillation des tiges fraîches donne une essence riche en thymol. Cet extrait entre dans la composition de gouttes contre la coqueluche. On l'utilise en friction dans les cas de névralgies et de sciatique et comme odontalgique sur les maux de dents cariées (**Beloued, 2005**).

II.1.1.2. Caractéristiques systématiques

D'après (Quézel et Santa,1963) et(Guignard et Dupont,2004 in Bouhaddouda, 2016) , la systématique de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* est représentée dans le tableau 2.

Tableau 2: Caractéristiques systématiques des plantes étudiées

	Plantes étudiées	
	<i>Mentha</i>	<i>Thymus</i>
Embranchement	Spermaphytes	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes	Angiospermes
Classe	Dicotylédones	Magnoliopsida
Sous-classe	Gamopétales	Astériadae
Ordre	Lamiales	Lamiales
Famille	Lamiacées	Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Mentha piperita</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Thymus algeriensis</i>

II.1.2. Les souches fongiques sélectionnées

Deux souches fongiques sont choisies pour l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des plantes : *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis*. Le tableau 3 présente les souches fongiques testées, leurs codes et leurs origines.

Tableau 3 : Les souches fongiques testées, leurs codes et leurs origines

Espèces	Codes	Origine
<i>Fusarium graminearum</i>	INRA 349	Appartient à la collection CBS CBS 185.32 (Centraal Bureau voor Schimmelmulturen, Netherlands)
<i>Fusarium culmorum</i>	BD17	Rouiba (Nord de l'Algérie)

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique (Bordeaux)

Il s'agit de deux champignons filamenteux *Fusarium graminearum* (INRA349) et *Fusarium culmorum* (BD17) qui sont phytopathogènes responsables de la fusariose des céréales.

II.2. Les méthodes expérimentales

II.2.1. L'extraction des huiles

L'extraction des huiles essentielles a été faite par hydrodistillation par un appareil, de type Clevenger (pendant une durée de 3 heures pour les espèces de *Mentha piperita* et *Thymus vulgaris* et une durée de 2 heures et demi pour *Mentha pulegium* et *Thymus algeriensis*) de la partie aérienne pour les quatre espèces, les traces d'eau ont été éliminées, de l'extrait, par l'ajout d'une quantité de sodium anhydre (Na_2SO_4), par la suite les huiles essentielles ont été conservées à $+4^\circ\text{C}$ et à l'abri de la lumière.

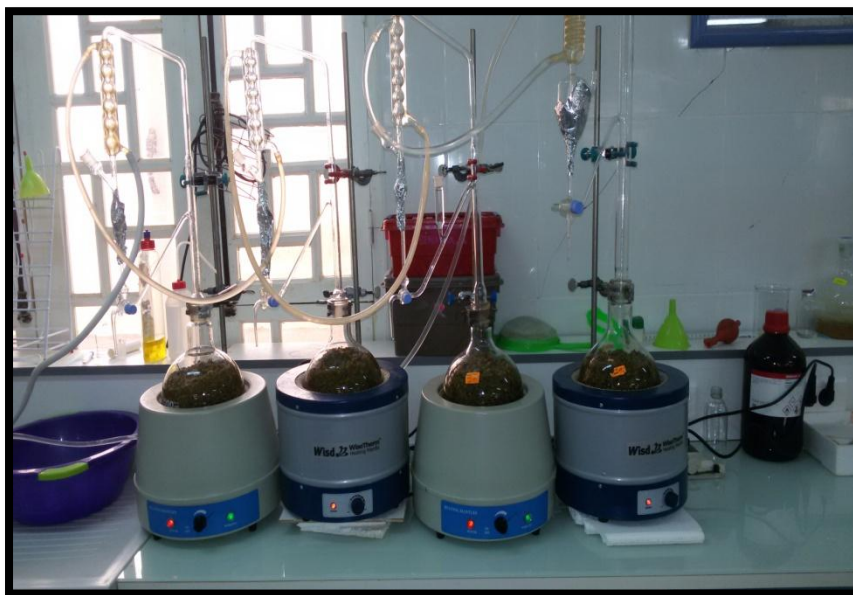


Figure 9: Montage d'hydrodistillation (Batterie de quatre appareils de type Clevenger).

II.2.1.1. Calcul du rendement

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenu et la masse du matériel végétale à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante:

$$R^{dt}(\%) = M/M_0 \times 100 \text{ (Fekih, 2015)}$$

Où :

$R^{dt}(\%)$: Le rendement des huiles essentielles.

M : la masse d'huile essentielle récupérée (g).

M_0 : la masse de matière végétale sèche (g).

II.2.2. L'analyse des huiles essentielles

L'huile essentielle obtenue après l'hydrodistillation est soumise à une analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG), cette méthode analytique nous a permis d'identifier un très grand nombre de constituants.

II.2.2.1. Les conditions opératoires de la CPG

Les analyses chromatographiques des composés volatils ont été effectuées, au Laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales à 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 5 °C/min de 50 °C à 250 °C. La température de l'injecteur et celui du détecteur a été fixée à 250°C à 280°C respectivement. Les solutions des HEs sont préparées, en dissolvant 10µl de chaque HE dans 1 ml du solvant organique pentane.

Les indices de rétention linéaire des constituants sont calculés par rapport à une série d'alcane (C₈ à C₂₀) analysée dans les mêmes conditions opératoires que celles des échantillons.

II.2.2.2. L'identification des constituants

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), en comparant leurs indices linéaires avec ceux de la littérature (**Zouari et al., 2012 ; Khan et al., 2016 ; Sokovic et al., 2009 ; Brada et al., 2007 ; Toumi et al., 2011 ; Khoury et al., 2014 ; Dahmane et al., 2015 ; Al-Wahaibi et al., 2018 ; Likibi et al., 2015 ; Babushok et al., 2011**).

L'indice de rétention des composés organiques volatils est calculé d'après la formule suivante :

$$\text{IRL} = 100 n + 100 * (\text{Tr}_x - \text{Tr}_n / \text{Tr}_{n+1} - \text{Tr}_n)$$

II.2.3. Etude de l'activité antifongique

L'effet de l'activité antifongique des HEs, sur le développement Mycélien, a été évaluée, en utilisant la méthode de contact direct. Cela consiste à mettre en contact le microorganisme avec le milieu de culture additionné d'huile essentielle, à différentes concentrations. Cette manipulation nous aide à déterminer la concentration minimale inhibitrice, la plus faible concentration en huile essentielle pour laquelle on n'observe pas de croissance mycélienne, à

l'œil nu, sur le milieu solide. Par la suite, la concentration minimale fongicide a pu, aussi, être estimée. Elle correspond à la concentration où il y a absence totale de croissance.

II.2.3. 1. La préculture des champignons

Pour ensemercer les milieux de culture solides, nous avons transféré, au centre de chaque boîte, à partir d'une culture pure préparée au préalable, un disque de gélose contenant du mycélium sur du milieu PDA vierge ; l'incubation a été faite à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, durant 6 à 7 jours (**Colin *et al.*, 1989** in **El-houiti, 2010**).

II.2.3.2. Milieux de culture

Le milieu Potato Dextrose Agar (PDA) a été utilisé pour la conservation et l'étude de la sensibilité des champignons vis-à-vis des huiles essentielles.

II.2.3.3. La détermination de l'activité par la méthode de contact direct

La mise en émulsion de l'huile essentielle a été préalablement réalisée, en utilisant une solution d'Agar Agar à 0,2 % (**Remmal *et al.*, 1993** ; **Satrani *et al.*, 2001** in **El Ajjouri *et al.*, 2008**) vue la non miscibilité à l'eau et donc aux milieux de culture. Elle permet d'obtenir, dans le milieu, une répartition homogène des composés et augmenter, au maximum, le contact entre le germe et les composés.

• Le mode opératoire

Des dilutions d'HE sont préparées, dans la solution d'agar. Dans des tubes à essais contenant, chacun, 13,5 ml de milieu PDA gélosé, stérilisés à l'autoclave (20 min à 121°C) et refroidis à 45°C , on ajoute 1,5 ml de chacune des dilutions, de façon à obtenir les concentrations finales allant de 0,25, 0,5, 1, 2 et 4 $\mu\text{l/ml}$. Puis les tubes ont été agités au vortex avant d'être versés dans des boîtes de Pétri. Des témoins, contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2 %, sans HE, sont également préparés et utilisés comme témoin (**El Ajjouri *et al.*, 2008**).

L'ensemencement se fait par le dépôt d'un disque de gélose, contenant du mycélium, prélevé à partir de la périphérie du thalle provenant d'une culture de 7 j sur PDA. Une culture sur milieu PDA, sans extrait, a servi de témoin. L'incubation des cultures a été faite à l'obscurité à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 6 jours.

Les cultures sont observées durant 6 jours pour noter l'effet de l'HE sur la croissance fongique. Le pouvoir fongicide est évalué par la réponse du repiquage de boutures de milieu gélosé provenant de cultures dans lesquelles il n'y a eu aucun développement mycélien. Les diamètres des mycéliums ont été mesurés afin de calculer les pourcentages d'inhibition correspondants par la relation suivante :

$$(I\%) = (1 - Da/Db) \times 100 \text{ (Chang et al. 1999 in Hsu et al., 2007)}$$

Où :

I(%): pourcentage d'inhibition exercé par l'huile sur le mycélium.

Da: diamètre du mycélium (en présence d'huile essentielle)

Db: diamètre du mycélium témoin (sans HE)

La lecture des résultats nous a permis de déterminer la CMI, elle correspond à la plus faible concentration en huiles essentielles pour laquelle on n'observe pas de croissance visible à l'oeil nu sur le milieu PDA (**Ouraini et al., 2005**). Elle a été déterminée par le transfert d'un disque de mycélium sur un milieu PDA et incubé à 25 °C, pendant 6 jours.

Si aucune croissance n'est observée, la concentration est qualifiée comme fongicide (CMF : concentration minimale fongicide), si non elle est fongistatique. (**El-houiti, 2010**).

II.2.4. L'analyse statistique

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Pour l'étude statistique, nous avons utilisé Microsoft office 2007 (EXCEL). Les moyennes et les écarts types sont calculés au seuil de signification de 5%, pour des expériences répétées trois fois, pour voir si les différences sont significatives ou non.



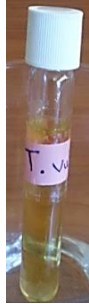

Résultats et discussion

Partie III : Résultats et discussion

III.1. Les teneurs en huiles essentielles

Le tableau 4 illustre les teneurs en huiles essentielles des plantes étudiées.

Tableau 4 : Teneurs, des plantes étudiées, en huiles essentielles

Espèce	Durée d'extraction (min)	Teneur% (m/m)	Teneur (ml/kg)	Couleur de l'HE
<i>Mentha piperita</i>	180	2	18	
<i>Mentha pulegium</i>	150	1,3	11	
<i>Thymus vulgaris</i>	180	2,38	25,7	
<i>Thymus algeriensis</i>	150	0,72	7,6	

Les durées d'extraction des huiles essentielles ont été déterminées par le suivi de la cinétique d'extraction, jusqu'à la constance du volume d'huile, Elles s'échelonnent entre 2 heures et demi pour *Mentha pulegium* et *Thymus algeriensis* et 3 heures pour les espèces de *Mentha piperita* et *Thymus vulgaris*. Les teneurs moyennes en huiles essentielles varient entre 0,72% (m/m) pour l'espèce de *Thymus algeriensis* et 2,38% (m/m) pour l'espèce de *Thymus vulgaris*.

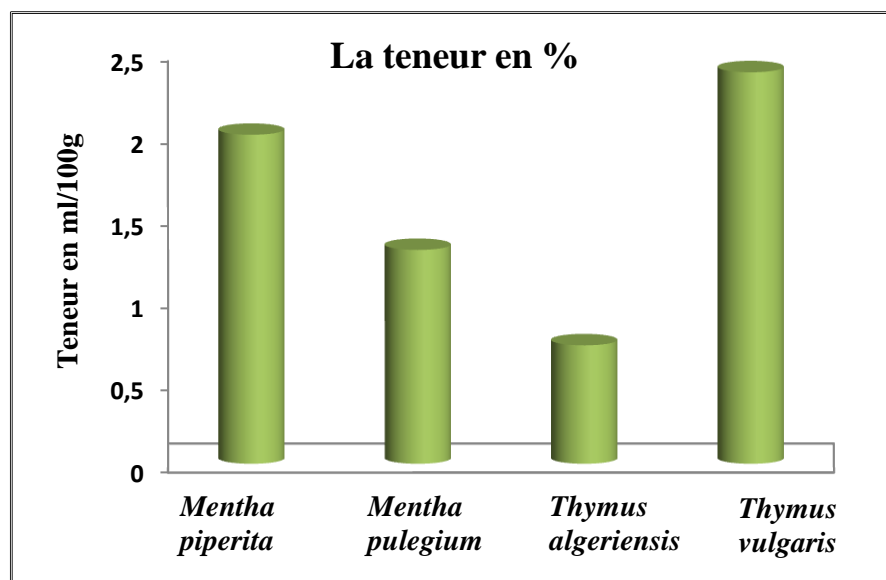


Figure 10: Les teneurs moyennes en huiles essentielles étudiées

La teneur en huile essentielle de *Mentha piperita* atteint un maximum de 2%, elle est supérieure à celui obtenu par **Abdalia et Chabbour, 2014** qui est de 0,64% pour la région de Tidis Constantine.

La teneur en huile essentielle de *Mentha pulegium* atteint un maximum de 1,3% qui est proche a celui déterminé par **Benabed, 2011** (1,46%) région d'Aflou, également supérieur à celui obtenu par **Lahrèche, 2010** (0,33%) et supérieur à celui obtenu par **Belghazi et al., 2002** qui est égale à (0,82%) pour la région de Fès Maroc.

Concernant l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* son rendement atteint un maximum de 0,72% qui est supérieur à celui déterminé par **Benabed, 2011** (0,27%) et a celui déterminé par **Mohammed et Aoumeur, 2007** (0,4%) collecté dans la région de Kabylie.

Par contre le rendement de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* atteint un maximum de 2,38% qui est supérieur à celui déterminé par **Benabed, 2011** (1,34%) et à celui trouvé par **El-Akha et al., 2014** qui est égale à 1% au Maroc.

Ces variations des teneurs en huiles essentielles peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle, est un produit métabolique des cellules végétales et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat, l'altitude, le taux d'exposition au soleil, le type de sol, le stade de croissance de la plante en question, le moment de la collecte et la méthode d'extraction) (**Besombes, 2008 ; Béjaoui et al., 2013**).

Nous constatons, que le rendement est variable malgré que la technique d'extraction est la même.

III.2. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* a été déterminée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse CPG. Cette méthode analytique nous a permis d'identifier quarante-cinq constituants chimiques au total (Tableau 5), Les annexes II et III illustrent les chromatogrammes des quatre huiles essentielles étudiées respectivement.

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

L'analyse de l'huile essentielle de *Mentha piperita* nous a permis d'identifier 23 composés représentant 93,90% de la composition globale de l'huile. Les composés majoritaires de cette huile étant le Pipéritone (57,51%), le Limonène (28,29%), le Sabinène (2,05%) et le Trans-Isopulegone (1,06%). Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sont illustrés dans la figure 11.

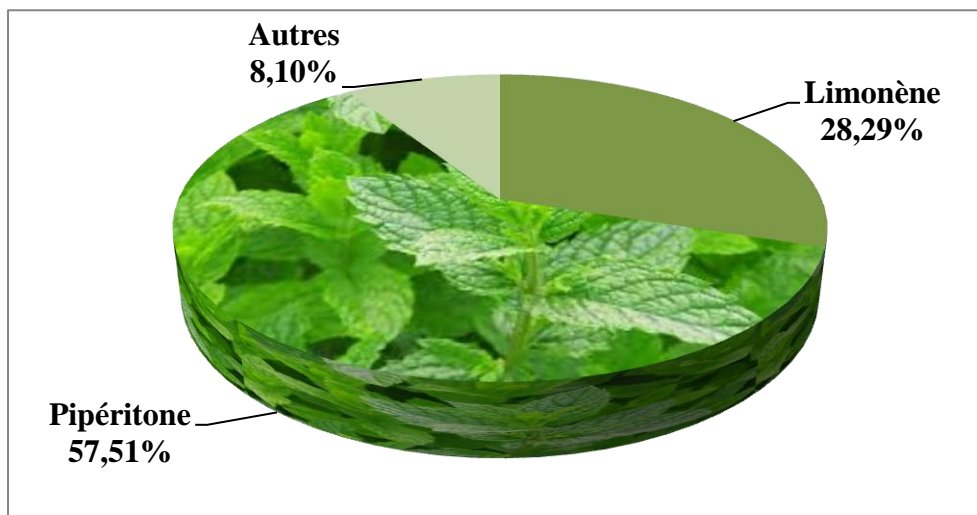


Figure 11: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha piperita*

Une comparaison de nos résultats avec les travaux effectués par **Rasooli et al., 2007** en Iran sur l'huile essentielle de *Mentha piperita*, permet de distinguer le α -Terpinène (19,7%), le Pipéritone oxyde (19,3%), Isomenthone (10,3%), Trans-Carveol (14,5%), et le β -Caryophyllène (7,6%). Ces composés sont considérés comme composés majoritaires. En Serbi, **Sokovic et al., 2009**, ont accordé le Menthol (37,4%), le Mentyle acétate (17,4%), le Menthone (12,7%) et le limonène (6,9%). Tandis qu'au Portugale **Martins et al., 2003**, ont trouvé seulement deux composés majoritaires le Linalyl acétate est de (72%) et le Linalol (12,3%). Alors qu'au Maroc, **Benayad, 2008**, a identifié le Linalol (60,72%) et le Linalyl acétate (20,79%) comme des constituants majoritaires. En Algérie **Goudjil et al., 2015**, ont révélé que l'huile essentielle de *Mentha piperita* a été caractérisée par les composants majoritaires suivants : le Limonène (36,37%), le Carvone (5,04%), et le β -Pyrène (1,66%).

Nos résultats de l'analyse chimique après identification sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 5 : La composition chimique des différents échantillons d'HE analysées par CPG

Aires des pics(%) ^c						
N°	Composés ^a	IRL ^b	<i>M.piperita</i>	<i>M.pulegium</i>	<i>T.vulgaris</i>	<i>T.algeriensis</i>
1	α -Thujène	917	0,05	-	-	0,24
2	α -Pinène	928	0,97	0,64	2,48	9,26
3	Camphène	941	0,07	0,03	0,17	1,84
4	α -Fenchène	947	-	0,08	-	1,09
5	Sabinène	974	2,05	0,44	0,19	1,61
6	β -Myrcène	990	-	0,23	-	2,95
7	α -phellandrène	1003	0,39	0,95	0,16	0,21
8	α -Terpinène	1015	0,23	0,04	1,24	0,42
9	<i>P</i> -Cymène	1023	-	-	6,73	-
10	Limonène	1030	28,29	0,75	0,09	11,49
11	Trans- <i>B</i> -Ocimène	1045	0,08	0,08	0,04	0,66
12	γ -Terpinène	1056	0,40	-	9,10	0,22
13	Cis-Sabinène hydrate	1068	0,92	0,02	0,05	0,14
14	Linalool oxyde	1071	-	-	0,01	1,82
15	Trans-Linalool oxide	1079	-	-	-	0,38
16	Terpinolène	1089	0,12	-	0,06	0,73
17	Thuyone	1103	0,08	0,01	0,04	-
18	Cis-Thuyone	1106	-	0,07	3,16	0,91
19	<i>P</i> -Menth-2-en-1-ol, cis-	1122	0,11	0,03	0,02	1,36
20	Pinocarvone	1136	-	-	0,36	4,22
21	Trans-Limonène, oxide	1137	0,06	0,01	0,01	2,20
22	Camphre	1144	-	0,02	-	7,61
23	Camphène hydrate	1148	-	2,36	-	-
24	Iso-bornéol	1155	-	-	-	1,7
25	Menthone	1158	-	1,27	-	-
26	Menthofurane	1164	0,13	6,80	-	-
27	Neo-Menthol	1167	-	-	-	1,32
28	Trans-Isopulegone	1176	1,06	-	-	-
29	Menthol	1180	-	0,51	-	-
30	Myrténol	1191	0,08	-	0,02	1,17
31	Verbénone	1207	0,06	- -	-	2,99
32	Citronellol	1221	-	-	-	1,74
33	Cis-carvéol	1233	0,10	0,16	-	2,42
34	Carvone	1241	-	70,8	0,90	0,76
35	Pipéritone	1251	57,51	0,15	-	-
36	Thymol	1282	0,07	0,02	-	2,92
37	2-Hydroxypipéritone	1310	-	-	5,84	0,28
38	Carvacrol	1324	-	-	63,42	0,25
39	Pipériténone	1337	-	4,94	-	-
40	α -terpényl acétate	1349	-	-	-	10,79
41	Carvacrol acétate	1371	-	0,07	0,02	14,16
42	1,2-EpoxyMenthyl acétate	1467	0,84	0,01	0,05	0,41
43	Oxyde de Caryophyllène	1565	0,23	0,99	0,33	1,60
44	Viridiflorol	1591	-	1,39	-	-
Total identifié			93,90	92,84	94,49	91,87

^a : Composés énumérés dans l'ordre de leur élution^b : Indice de rétention linéaires obtenus sur colonne DB-5, calculés par rapport à une série homologue de *n*-alcanes C8-C20^c : Pourcentages obtenus par normalisation des aires des pics FID

Hydrocarbures Monoterpéniques	33,57	3,26	20,31	30,86
Monoterpènes oxygénés	60 ,1	87.2	73,85	59 ,41
Sesquiterpènes oxygénés	0,23	2,38	0,33	1,6

Vingt-huit composés ont été identifiés pour l'espèce de *Mentha pulegium*, ce qui constitue 92,84% de la totalité de cette HE. Cette dernière est riche en monoterpènes, les composés majoritaires sont le Carvone (70,8%), le Menthofurane (6,80%), le Pipériténone (4,94%) et le Camphène hydrate(2,36%). La figure 12 montre la répartition en pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

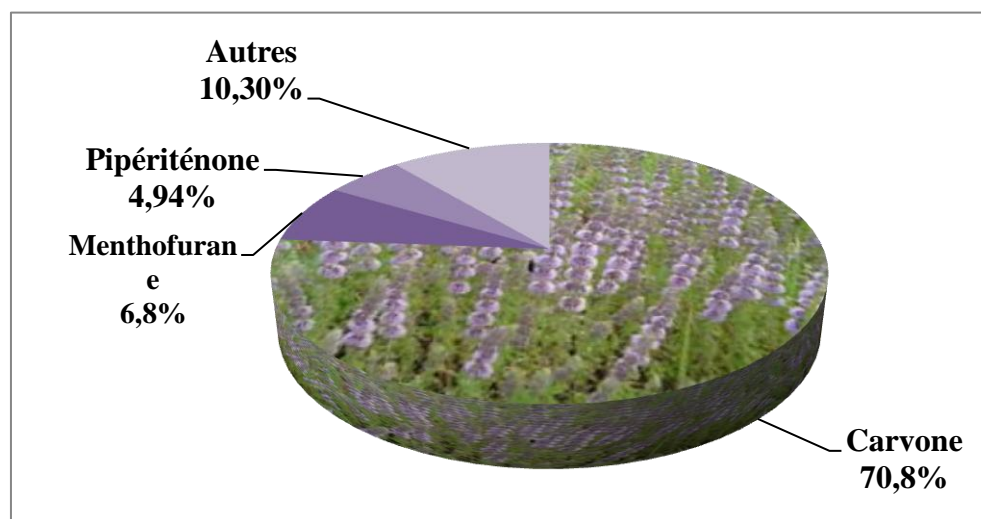


Figure 12: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

Plusieurs études sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* ont révélées de fortes variations d'une région à l'autre. En Tunisie, **Mkaddem et al., 2007** ont trouvé que les composés majoritaires de cette HE sont le Pulégone (41,8%), Isomenthone (11,3%) et le Carvone (6,2%). Tandis qu'au Maroc, les travaux de **Benayad, 2008**, ont identifié que le Pulégone est de (73,33%) et le Menthone (5,63%). Une étude menée par **Benabed, 2011**, visant à déterminer la composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* abouti à la révélation de Pulégone comme composé majoritaire (23,37%).

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* nous a permis d'identifier 24 composés représentant 94,49% de la composition globale de cette HE. Les constituants présents en pourcentages majoritaires dans l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

sont : Carvacrol (63,42%), suivi par un pourcentage en γ -Terpinène (9,10%), P-Cymène (6,73%), 2-Hydroxypipéritone (5,84%) et le Cis-Thuyone (3,16%). La répartition en pourcentage des composés majoritaires de cette huile est montrée dans la figure 13.

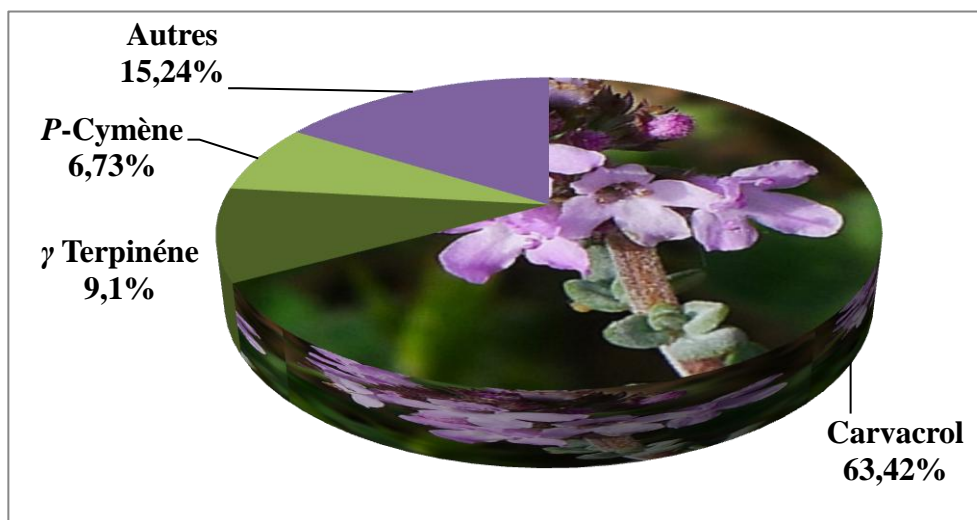


Figure 13: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris*

D'autres constituants présents en quantités moins importantes ont été identifiés, comme le α -Pinène (2,48 %), α -Terpinène (1,24 %), Carvone (0,9 %) et le Pinocarvone (0,36 %).

Dans une étude menée par **Giordani et al., 2008**, sur deux variétés de *Thymus algeriensis* de la région de Souk Aharas et le *Thymus vulgaris*, le composé majoritaire était le α -Pinène avec des pourcentages de (27,14% et 25,52%) pour les deux variétés respectivement, et les composés majoritaires pour *Thymus vulgaris* sont le Thymol (25,57%) et le P-Cymène (26,36%), ce dernier est présent dans notre huile avec un pourcentage de (6,73%).

Thompson et al., 2003, ont étudié la composition des huiles essentielles de plusieurs chémotypes, ils ont trouvé que ceux du Thymol et Carvacrol contiennent des pourcentages élevés en γ -Terpinène et P-Cymène.

Concernant l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*, 34 composés ont été identifiés, ce qui constitue 91,87% de la totalité de cette huile. Ces derniers ont été caractérisés principalement par la présence du Carvacrol acétate (14,16%), le Limonène (11,49%), α -Terpényl Acétate (10,79%), le α -Pinène (9,26%) et le Camphre (7,61%). Ces composés majoritaires sont illustrés dans la figure 14.

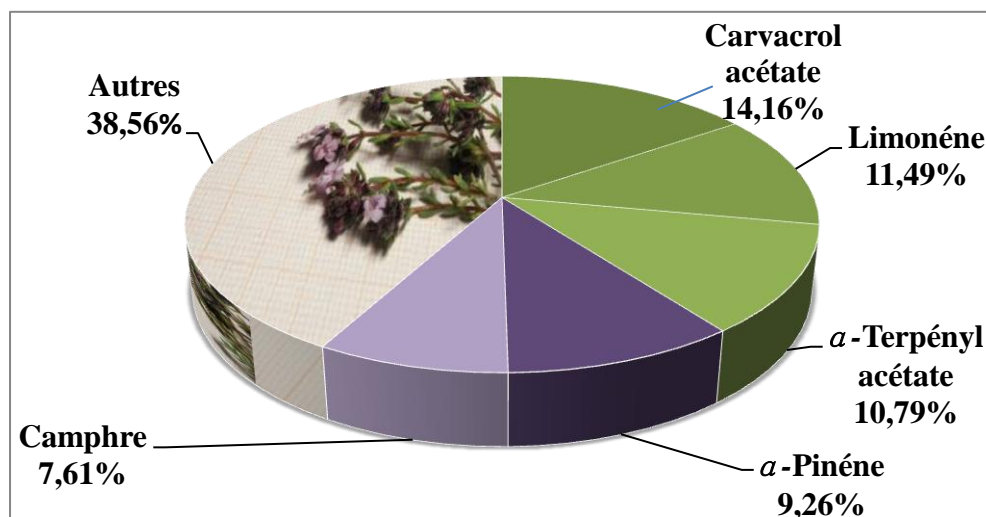


Figure 14: Répartition en% des composés majoritaires de l'huile essentielle du *Thymus algeriensis*.

D'autres constituants présents en quantités moins importantes ont été identifiés, comme le Pinocarvone (4,22%), Verbénone (2,99%), β -Myrcène (2,95%), Thymol (2,92%), et Cis-Carvéol (2,42%).

Benabed, 2011, a étudié la composition chimique des huiles essentielles des échantillons de *Thymus algeriensis* collectés dans les régions de Djelfa et d'Aflou. Ces huiles sont caractérisées majoritairement par le α -Terpinenyl Acétate (27,32 %) et le Camphre (10,77%) pour l'échantillon de Djelfa ; par le Camphre (17,68%) et Eucalyptol (10,04%) pour celle d'Aflou. Alors que ce dernier est totalement absent dans notre huile qui est également d'Aflou. **Zouari et al., 2012**, ont détecté le Camphre comme composé majoritaire pour *Thymus algeriensis* provenant de la Tunisie, alors qu'il ne représente que 7,61% dans notre HE.

Les différents facteurs susceptibles d'influencer la composition chimique des huiles essentielles sont : la famille botanique de la plante, l'organe producteur, l'existence de chimiotype, le cycle végétatif (**Bruneton, 1993 in Djibo, 2000**).

La variation de cette composition pourrait être également due à plusieurs facteurs à savoir la partie utilisée du végétal, le lieu de la croissance, les conditions climatiques, le procédé d'extraction, le moment de collecte et les conditions de stockage (**Baser et Buchbauer, 2010**).

III.3. Activité antifongique

III.3.1. Cinétique de la croissance mycélienne

Les résultats des témoins ont montré que la croissance mycélienne augmente en fonction du temps d'incubation. Cependant, en général, le diamètre des mycéliums diminue considérablement avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles.

• L'huile essentielle de *Mentha piperita*

La croissance des deux espèces fongiques (*Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*) au cours des six jours en présence d'huile essentielle de *Mentha piperita* à différentes concentrations est représentée dans les figures (15 et 16).

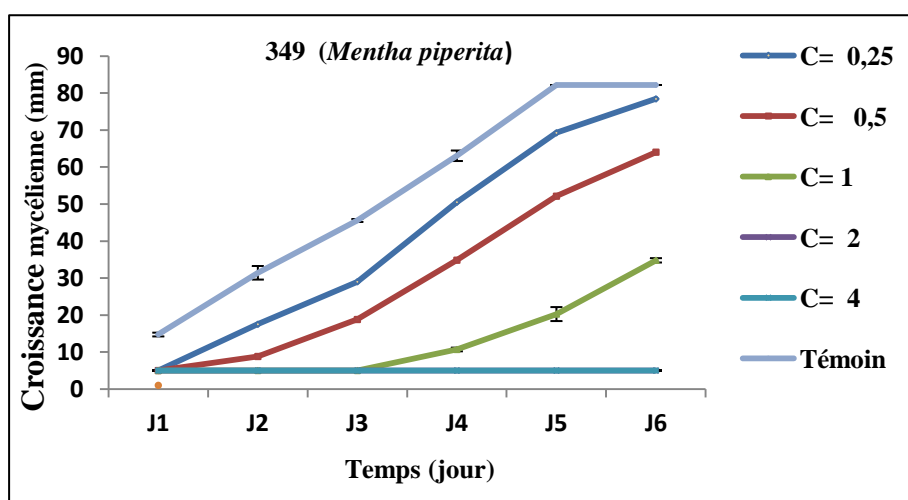


Figure 15: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. piperita* vis-à-vis de *Fusarium graminearum* (INRA 349).

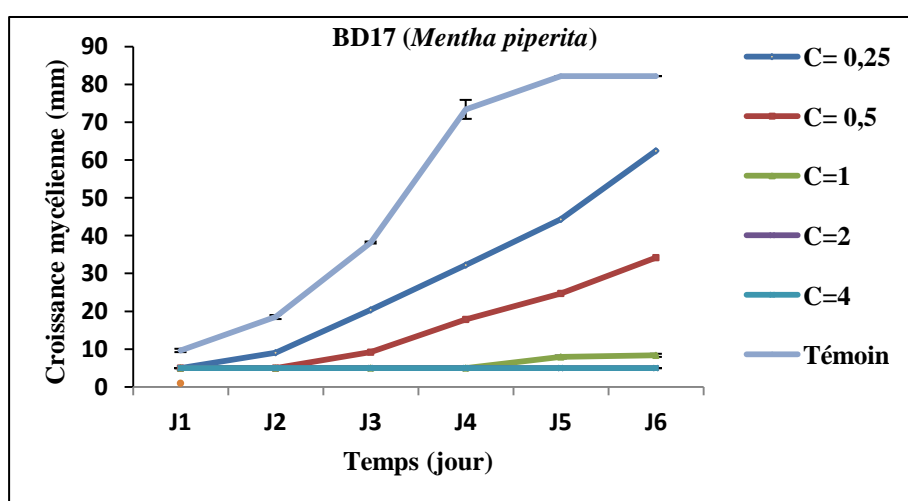


Figure 16: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. piperita* vis-à-vis de *Fusarium culmorum* (BD17).

Concernant l'huile essentielle de *Mentha piperita*, nous remarquons qu'elle retarde la croissance mycélienne de la souche *Fusarium graminearum* dès le premier jour jusqu'au sixième jour aux concentrations 0,25 $\mu\text{l/ml}$, 0,5 $\mu\text{l/ml}$ et 1 $\mu\text{l/ml}$ respectivement. Alors qu'à 2 $\mu\text{l/ml}$ et 4 $\mu\text{l/ml}$ nous n'avons enregistré aucune croissance mycélienne. Néanmoins, cette huile s'est avérée plus active contre la souche *Fusarium culmorum*, où aucune croissance mycélienne n'a été notée à partir de la concentration de 1 $\mu\text{l/ml}$, du premier jour jusqu'au quatrième jour.

• L'huile essentielle de *Mentha pulegium*

La croissance des deux espèces fongiques au cours des six jours en présence de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* à différentes concentrations est représentée dans les figures (17 et 18).

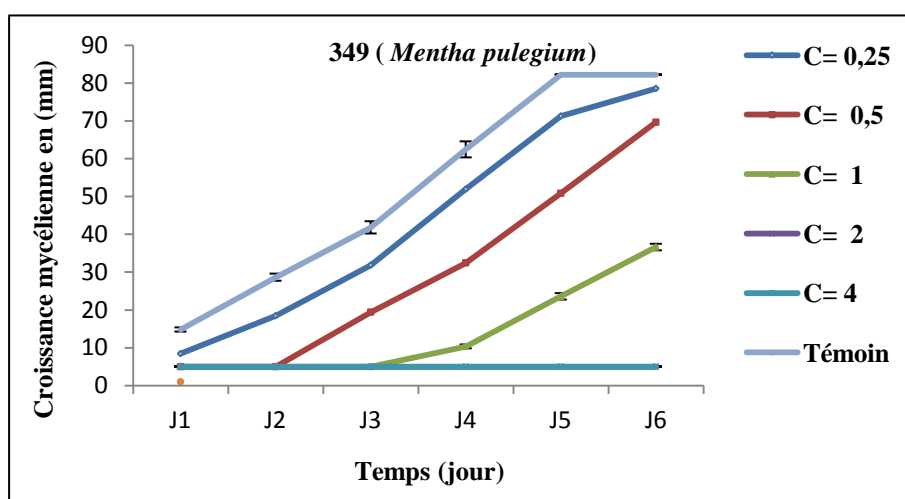


Figure 17: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. pulegium* vis-à-vis de *Fusarium graminearum* (INRA349)

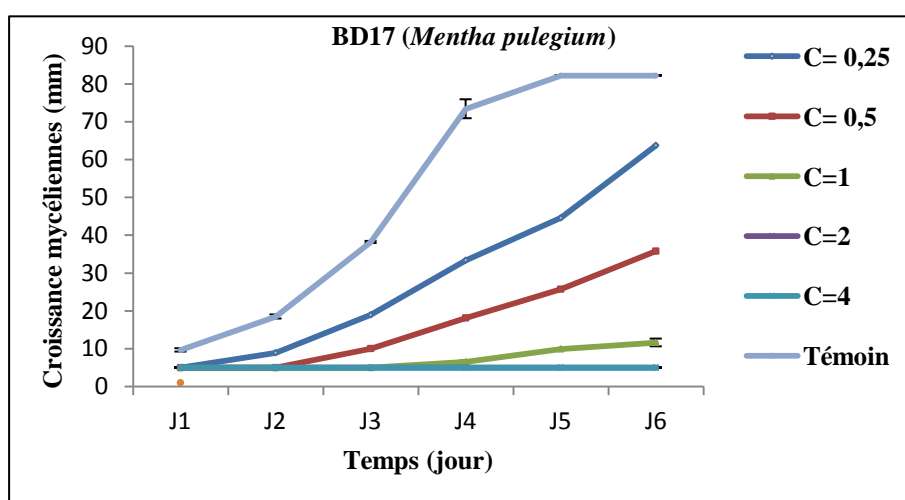


Figure 18: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *M. pulegium* vis-à-vis de *Fusarium culmorum* (BD17),

Pour l'huile essentielle *Mentha pulegium* on remarque qu'elle retarde la croissance mycélienne de la souche *Fusarium graminearum* du premier jour au sixième jour aux concentrations de 0,25 $\mu\text{l/ml}$, 0,5 $\mu\text{l/ml}$ respectivement. Pour la concentration de 1 $\mu\text{l/ml}$, on observe un ralentissement de la croissance mycélienne à partir de troisième jour. Alors qu'à 2 $\mu\text{l/ml}$ et 4 $\mu\text{l/ml}$ on n'enregistre aucune croissance mycélienne. Néanmoins, cette huile s'est avérée plus active contre la souche *Fusarium culmorum*, où on note aucune croissance mycélienne à partir de la concentration de 1 $\mu\text{l/ml}$ du premier jour jusqu'au troisième jour.

• L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

La croissance des deux espèces de champignons au cours des six jours en présence de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à différentes concentrations est représentée dans les figures (19 et 20).

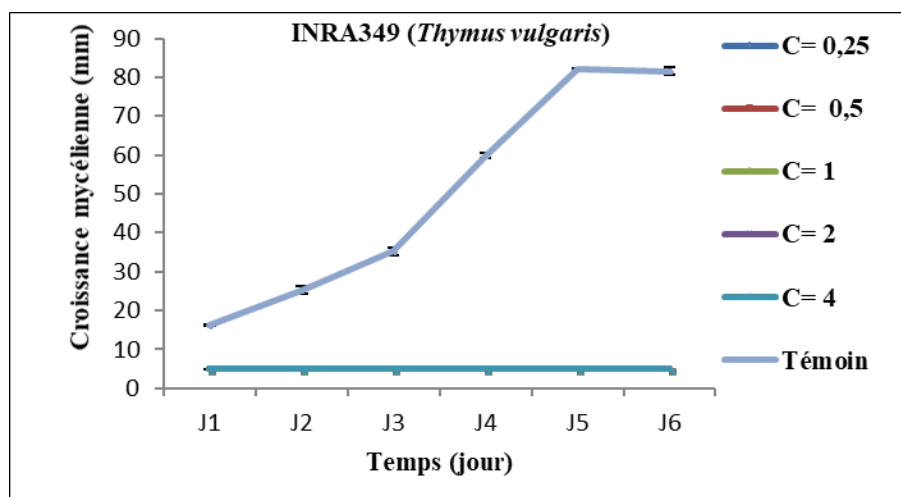


Figure 19: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *Fusarium graminearum* (INRA349).

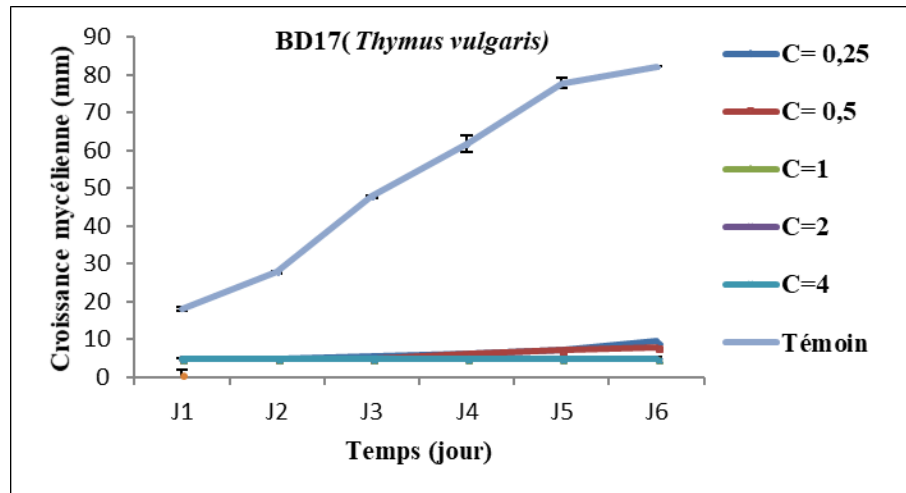


Figure 20: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *Fusarium culmorum* (BD17).

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a une forte activité antifongique vis-à-vis les deux souches. Pour *Fusarium graminearum*, les diamètres de croissance mycélienne sont nuls à toutes les concentrations de 0,25 à 4 µl/ml. Alors qu'avec *Fusarium culmorum*, les diamètres de croissance mycélienne sont nuls qu'à partir de la concentration de 1 µl/ml. Donc, *Fusarium culmorum* s'est montré relativement moins sensible que *Fusarium graminearum* vu sa croissance mycélienne aux concentrations 0,25 et 0,5 µl/ml.

• **L'huile essentielle de *Thymus algeriensis***

La croissance des deux espèces de champignons au cours des six jours en présence de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* à différentes concentrations est représentée dans les figures (21 et 22).

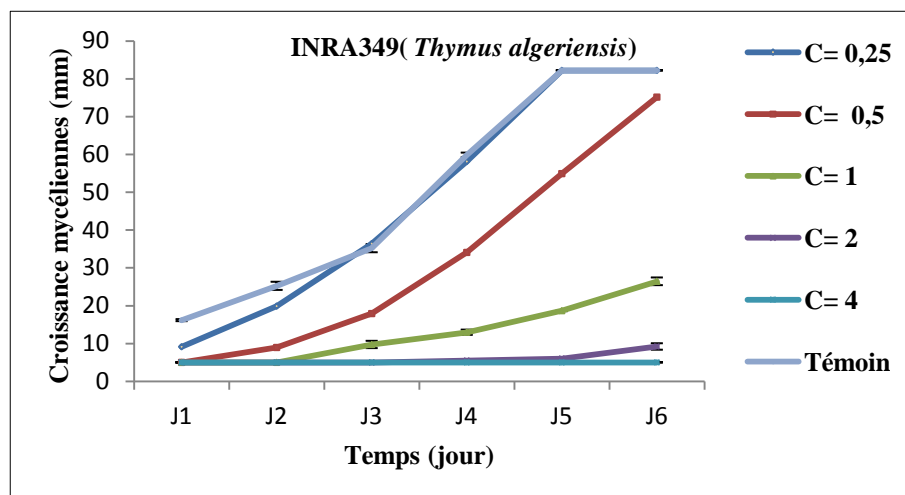


Figure 21: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T. algeriensis* vis-à-vis de *Fusarium graminearum* (INRA349).

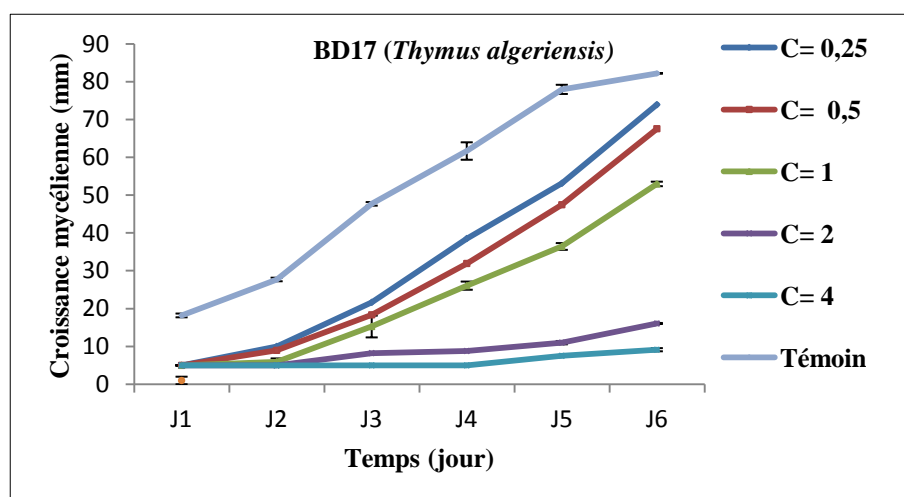


Figure 22: Effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *T.algeriensis* vis-à-vis de *Fusarium culmorum* (BD17).

Concernant, l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*, la croissance mycélienne de la souche *Fusarium graminearum* est maximale à 0,25 $\mu\text{l/ml}$, elle ressemble au témoin, alors qu'à la concentration de 4 $\mu\text{l/ml}$ on n'enregistre aucune croissance mycélienne, et aux concentrations allant de : 0,5, 1 et 2 $\mu\text{l/ml}$ la croissance mycélienne diminue avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle. Cependant, *Fusarium culmorum* s'est montré moins sensible vu qu'aucune des concentrations testées n'a été apte à éliminer la croissance mycélienne.

Nos résultats concordent avec ceux d' *El-houiti et al., 2017*, où les mêmes souches fongiques ont été testées avec l'huile essentielles de *Rhanterium adpressum* ; les résultats du pouvoir antifongique de cette huile et leur effet inhibiteur sur la production des mycotoxines sont très intéressants.

III.3.2. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* testés séparément *in vitro* vis-à-vis des souches fongiques sélectionnées sont représentés dans les tableaux 6 et 8. Ces tableaux enregistrent le pourcentage d'inhibition antifongique noté pour chaque concentration d'huile essentielle testée au sixième jour d'incubation.

Tableau 6: Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum*

Pourcentages d'inhibition (%)				
Concentrations en (µl/ml)	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. algeriensis</i>
0,25	4,58	4,42	93,86	0
0,5	22,1	15,29	93,86	8,6
1	57,66	55,47	93,86	67,84
2	93,92	93,92	93,86	88,81
4	93,92	93,92	93,86	93,92

Comme il a été cité précédemment, la méthode de contact directe a été utilisée pour déterminer l'effet de nos huiles essentielles sur les champignons filamenteux *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Les résultats, ainsi obtenus, montrent que toutes les HEs avaient des effets inhibiteurs sur le champignon *Fusarium graminearum* (figures 23, 24, 25 et 26), nous remarquons que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec l'augmentation de la concentration en huiles essentielles jusqu'à la disparition, presque complète, du thalle mycélien.

La plus forte inhibition a été observée pour l'huile de *Thymus vulgaris* avec des pourcentages d'inhibitions de 93% pour toutes les concentrations de 0,25 µl/ml à 4 µl/ml, avec une CMI égale à 0,25µl/ml et une CMF égale à 0,5µl/ml (tableau 7).

Egalement, l'huile essentielle de *Mentha piperita* a montré une activité antifongique importante avec des pourcentages d'inhibition de 4 % pour la plus faible concentration en HE (0,25 µl/ml) et 93% d'inhibition à la plus forte concentration (4 µl/ml). Une concentration de 2 µl/ml a été suffisante pour inhiber la croissance du mycélium, alors que la CMF était de 4 µl/ml.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* a révélé des pourcentages d'inhibition intéressants allant de 4% à 93%, montrant des valeurs de CMI et CMF égale à celle trouvé avec *Mentha piperita*.

Concernant l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*, les pourcentages d'inhibitions étaient de 8,6% pour la concentration de 0,5 µl/ml et de 93% pour celle de 4µl/ml, avec une valeur de CMI égale à 4 µl /ml et une CMF supérieur à 4 µl /ml.

Tableau 7 : Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles vis-à-vis de *Fusarium graminearum*

	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. algeriensis</i>
CMI (µl/ml)	2	2	0,25	4
CMF (µl/ml)	4	4	0,5	> 4

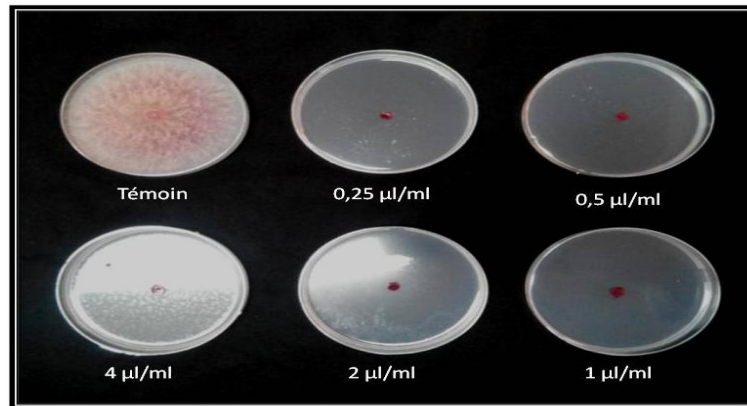


Figure 23: Effet de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *F. graminearum*

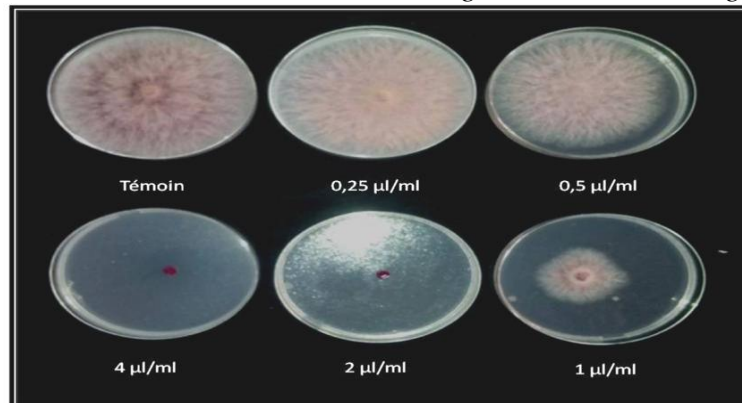


Figure 24: Effet de l'huile essentielle de *M. piperita* vis-à-vis de *F. graminearum*

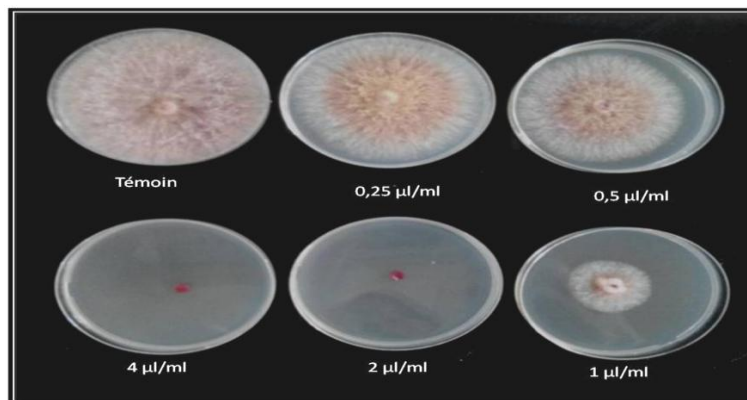


Figure 25: Effet de l'huile essentielle de *M. pulegium* vis-à-vis de *F. graminearum*

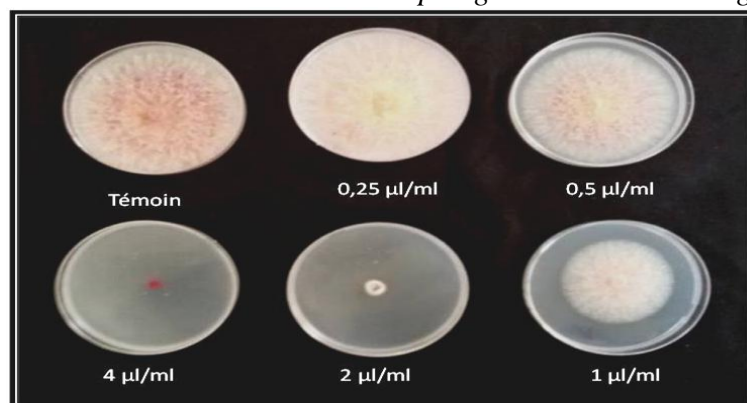


Figure 26: Effet de l'huile essentielle de *T. algeriensis* vis-à-vis de *F. graminearum*

Après avoir déterminé la CMI, nous avons procédé à la détermination de la CMF en effectuant un repiquage à partir des cultures fongiques présentant une inhibition de croissance. Lorsqu'il s'agit d'une activité fongistatique, le mycélium, ainsi repiqué, donne naissance à un thalle à croissance normale (figure 27) ; le thalle croît peu ou pas si c'est une activité fongicide (figure 28).

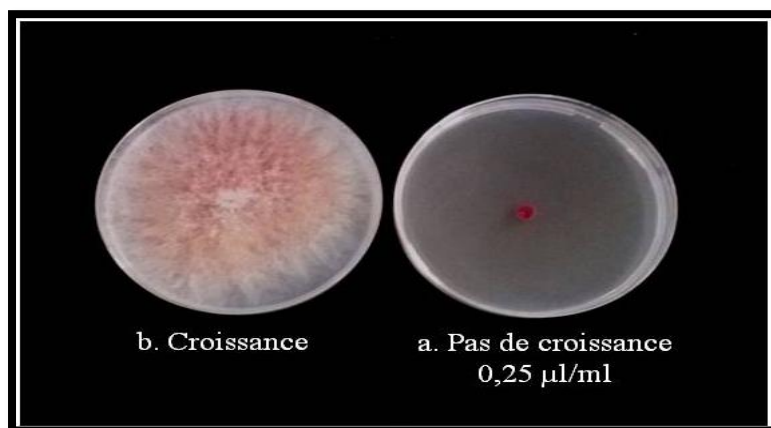


Figure 27: Résultats du test de CMI de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *Fusarium graminearum*

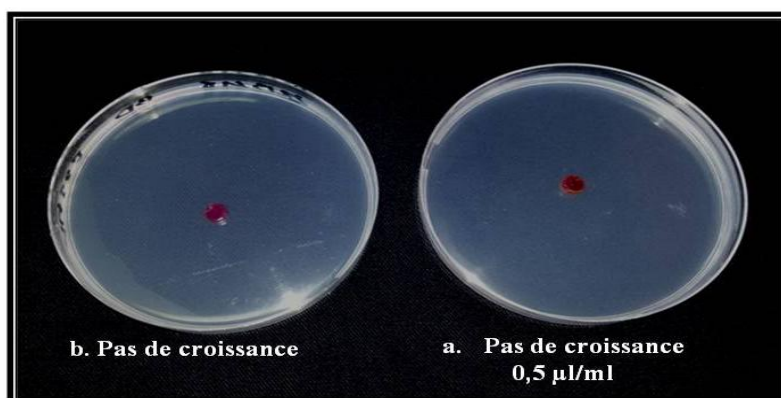


Figure 28: Résultats du test de CMF de l'huile essentielle de *T. Vulgaris* vis-à-vis de *Fusarium graminearum*

Les pourcentages d'inhibition de chaque concentration d'huile essentielle testée au sixième jour d'incubation pour *Fusarium culmorum* sont enregistrés dans le tableau suivant.

Tableau 8: Effet des huiles essentielles sur la croissance mycélienne du *Fusarium culmorum*

Pourcentages d'inhibition (%)				
Concentrations en (µl/ml)	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. algeriensis</i>
0,25	24,05	22,47	88,44	10,06
0,5	58,39	56,45	90,23	17,8
1	89,82	85,85	93,92	35,56
2	93,92	93,92	93,92	80,45
4	93,92	93,92	93,92	88,89

Les résultats, ainsi obtenus, montrent que les huiles avaient toutes un pouvoir inhibiteur fort sur *Fusarium culmorum*, figures (29, 30, 31 et 32). La plus forte inhibition a été observée également pour l'huile de *Thymus vulgaris* avec des pourcentages d'inhibitions allant de 88% à 93% pour la plus faible concentration (0,25 µl/ml) et la plus forte concentration (4 µl/ml), respectivement. Cette huile a montré une concentration minimale inhibitrice supérieure à 0,5 µl/ml et fongicide égale à 1 µl/ml (tableau 9).

Egalement, l'huile essentielle de *Mentha piperita* a montré une activité antifongique importante avec des pourcentages d'inhibition de 24 % pour la plus faible concentration en HE (0,25 µl/ml) et de 93% à la plus forte concentration (4 µl/ml). Une concentration de 2 µl/ml a été suffisante pour inhiber la croissance du mycélium, alors que la CMF a été de 4 µl/ml.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* a révélé des pourcentages d'inhibition allant de 22% à 93%, montrant des valeurs de CMI et CMF égale aux valeurs trouvées pour *Mentha piperita*.

Concernant l'huile de *Thymus algeriensis*, les pourcentages d'inhibitions étaient compris entre 10% et 88% pour les concentrations étudiées, respectivement. Avec une CMI supérieure à 4 µl/ml et une CMF supérieure à la CMI.

Tableau 9 : Concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre *Fusarium culmorum*

	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. algeriensis</i>
CMI (µl/ml)	2	2	> 0,5	/
CMF (µl /ml)	4	4	1	/

/ : non réalisé.

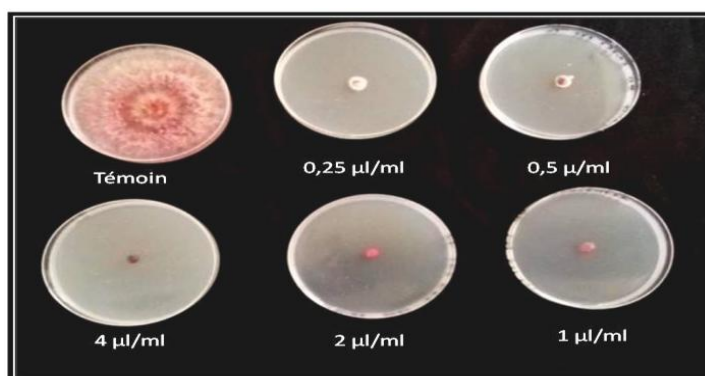


Figure 29: Effet de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *F. culmorum*

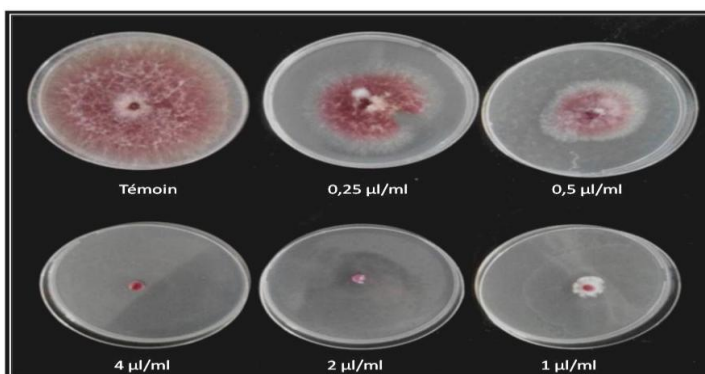


Figure 30: Effet de l'huile essentielle de *M. pulegium* vis-à-vis de *F. culmorum*

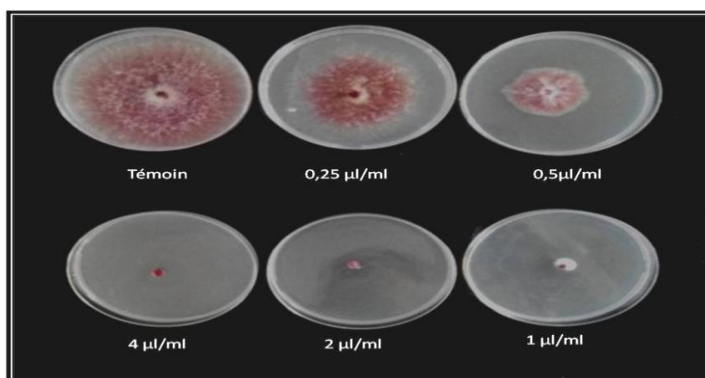


Figure 31: Effet de l'huile essentielle de *M. piperita* vis-à-vis de *F. culmorum*

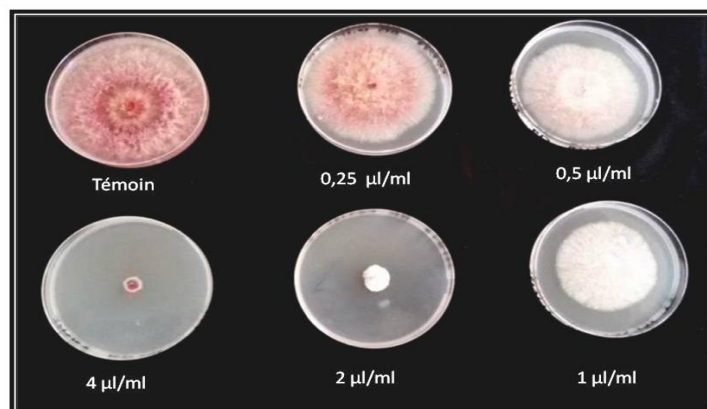


Figure 32: Effet de l'huile essentielle de *T. algeriensis* vis-à-vis de *F. culmorum*

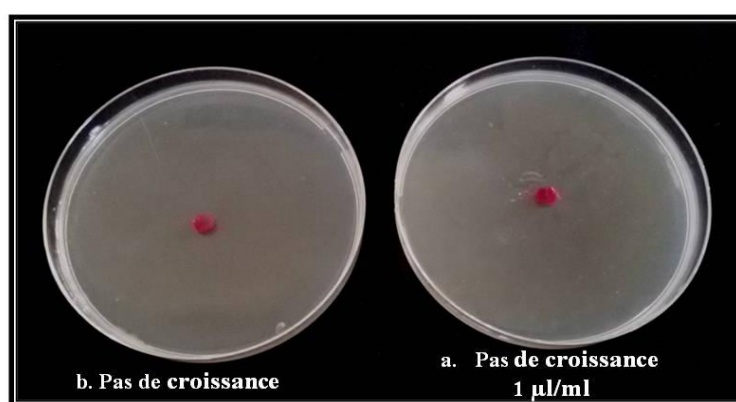


Figure 33 : Résultats du test de CMF de l'huile essentielle de *T. vulgaris* vis-à-vis de *F. culmorum*

Toutes nos huiles ont montré des activités antifongiques importantes contre les espèces de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* avec des différences observées au niveau des CMI. Ces différences peuvent être dues à la différence de la composition chimique des huiles essentielles.

Selon **El Ajjouri, (2008)**, les huiles essentielles des deux espèces *Thymus bleicherianus* et *Thymus capitatus*, ont montré *in vitro*, une forte activité antifongique contre tous les champignons de pourriture du bois d'oeuvre testés. Ce grand pouvoir bioactif observé chez les deux huiles essentielles est attribué principalement à leurs teneurs élevées en phénols terpéniques (Carvacrol et Thymol).

Ouraini et al., (2005), ont révélé une activité antifongique importante pour les huiles essentielles de *Thymus saturejoides*, *Mentha pulegium* sur la germination, la croissance mycélienne et la sporulation des dermatophytes responsables de multiples mycoses chez l'homme.

Dans une étude menée par **Bouhaddouda, (2016)**, sur l'effet de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, elle a été montrée qu'elle présente une bonne activité inhibitrice contre *Fusarium* sp et *Aspergillus* sp.

Nos résultats concordent avec ceux de **Benabed , 2011**, où elle a trouvé que l'espèce de *Thymus vulgaris* a une action fongicide contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. L'huile essentielle de *Mentha pulegium* a donné une activité moyenne alors que celle de *Thymus algeriensis* a montré l'activité la plus faible.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de plusieurs constituants. Leur effet antifongique pourrait être dû à leurs composés majoritaires, sans écarter l'effet que peut engendrer les constituants minoritaires. Par conséquent, l'effet synergique ou antagoniste des différents composés ne peut être négligé.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Notre pays l'Algérie, offre grâce à son immense superficie, sa situation géographique et son climat, des potentialités énormes d'espèces végétales dotées de pouvoirs thérapeutiques divers.

Dans le présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation de quatre plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour leurs vertus thérapeutiques.

Mentha piperita collectée de la région de El-hadjeb (Laghoaut) ; *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* collectées de la région d'Aflou (Laghouat) en juin 2017 ont fait l'objet d'une extraction de leurs huiles essentielles, études de la composition chimique, ainsi qu'une évaluation du pouvoir antifongique.

A l'issue des résultats obtenus dans ce travail, nous pouvons déduire ce qui suit :

Les rendements pour *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* sont : 2 %, 1,3 %, 2,38 % et 0,72% (m/m) respectivement.

L'analyse chimique par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) nous a permis d'identifier quarante-quatre constituants chimiques au total. Les composés majoritaires caractérisant l'huile essentielle de *Mentha piperita* étant le Pipéritone (57,51 %) et le Limonène (28,29 %). Pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, le Carvone constitue le principal composé identifié avec un pourcentage de (70,8 %) de la totalité de l'huile suivi de Menthofurane (6,8 %). Concernant l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* les composés majoritaires sont le Carvacrol acétate (14,16 %), le Limonène (11,49 %), α -Terpényl acétate (10,79 %), α -Pinène (9,26 %) et le Camphre (7,61 %). Cette analyse a révélé que le Carvacrol est le constituant le plus abondant dans la composition du *Thymus vulgaris* (63,42 %).

Dans ce cadre, notre travail a été consacré à l'étude de l'activité antifongique des quatre huiles essentielles vis-à-vis de deux espèces fongiques du genre *Fusarium* les plus incriminées en pathologies des céréales.

L'ensemble des résultats montre que les huiles avaient toutes des effets inhibiteurs prometteur contre les champignons (*Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*). En effet, la sensibilité des souches fongiques aux huiles essentielles suggère leur possible utilisation en agroalimentaire comme alternative naturelle aux agents fongicides synthétiques dont le spectre d'action est en réduction continu.

Ces substances naturelles riches en composés antifongiques sont considérées comme alternative importante pour résoudre le problème d'altération des céréales lié à la croissance mycélienne des phytopathogènes et d'éviter la perte en qualité et en quantité des céréales pendant l'entreposage.

Cette importante bioactivité des huiles essentielles est en relation avec leurs compositions chimiques. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de ces quatre huiles essentielles :

- Une étude de l'efficacité de ces huiles dans le domaine agroalimentaire est nécessaire, afin d'établir leur utilité comme agents antifongiques dans la sécurité alimentaire ;
- Une étude plus approfondie sur ces HE doit être menée afin de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antifongique ; par la suite étudier leurs modes d'action moléculaire ;
- Il est souhaitable d'élargir le nombre de plantes étudiées et les stations de collecte afin de pouvoir faire une étude comparative plus étendue pour ces familles de plantes ;
- Egalement, il faut élargir la gamme des souches étudiées ;

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abdalia.M., et Chabbour.A. 2014.** Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modele biologique des infusoires, mémoire de master, université de constantine, P57.
- AFNOR, 1989.** Recueil de Normes Françaises « huiles essentielles » 3ème édition, Paris, P. 42..
- Al-Wahaibi, L. H. N., Mahmood, A., Khan, M., et Alkathlan, H. Z. 2018.** Comparative study on the essential oils of *Artemisia judaica* and *A. herba-alba* from Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Baba Aissa F. 2011.** Encyclopédie des plantes utiles. Flore Méditerranéenne (Magreb et Europe méridionale), substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Editions el Maarifa, P .358.
- Babushok, V. I., Linstrom, P. J., et Zenkevich, I. G. 2011.** Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*,40(4) : 043-101.
- Bakkali F., Avertebeck S., Avertebeck D., et Idaomar M. 2008.** Biologiceffects of essential oils – A review, *Food and chemical toxicology*, 46 (2): 446-475.
- Baser, K. H. C., Buchbauer, G. 2015.** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press. Taylor and Francis Group. 994 p.
- Béjaoui, A., Boulila, A., et Boussaid, M. 2013.** Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgares* ubsp. *glandulosum*Desf. From Tunisia. *Journal of Medicinal Plants Research*,7(32), 2429-2435.
- Belghazi, L., Lahlou, N., Alaoui, I., Abousaouiria, T., Habti, N., Tantaoui, I. A., et Fellat-Zarrouck, K. 2002.** Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la *Menthe pouliot*. Test antifongique (Extraction and analysis by gaschromatography of essential oil of pennyroyalminttested as antifungal). Congrès de biochimie. Casablanca. *Biochimie et santé*, 38-40.
- Beloued A. 2005.** **Plantes médicinales d'Algerie** ; Office des publications universitaires, Algerie, p.206.

- Benabed, K. 2011.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des Lamiaceae, mémoire de magister, université Ammar Thelidji, laghouat, p 27.
- Benayad, N. 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Research Project. University of Sciences, Rabat (Maroc).
- Bendif H. 2017.** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae : *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *Coloratus* (Boiss et Reut.) Greuter et Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord et Fourr. Thèse de doctorat. L'Ecole Normale Supérieure de Kouba- Alger, 199 p.
- Besombes, C. 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle. France.
- Bouhaddouda, N. 2016.** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba- 205p.
- Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A., et Lognay, G. 2007.** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *BASE*.
- Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 4^e édition, Lavoisier, Paris, P. 567-647.
- Caron, J., et Laverdière, L. 2003.** Test d'efficacité de Root Shield contre *Pythium* de la tomate de serre du Québec. Rapport final de recherche.
- Chermette, R., et Bussieras, J. 1993.** Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Chikhi I. 2014.** Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes Aromatiques et Médicinales de l'ouest d'Algérie. Thèse de doctorat. Université Aboubekr Belkaid- Tlemcen, 174 p.
- Dahmane, D., Dob, T., et Chelghoum, C. 2015.** Chemical composition of essential oils of *Juniperus communis* L. obtained by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. *J. Mater. Environ. Sc.*, 6(5) : 1253-1259.

- Djibo, 2000.** Analyse des huiles essentielles de quelques plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des *Lamiaceae*. Thèse de doctorat. 168 p.
- El Ajjouri, M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F., et 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. Biotechnoogiel. Agronomie. Soc. Environ. 12 (4) : 345-351.
- El-Akhal, F., Greche, H., Chahdi, F. O., Guemmouh, R., et Lalami, A. E. O. 2014.**Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. Mater. Environ. Sci. 6 (1) : 214-219.
- El-houiti F. 2010.** Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum*, Mémoire de magister.Université Amar Téliidji, Laghouat, 103p.
- Elhouiti, F., Tahri, D., Takhi, D., Ouinten, M., Barreau, C., Verdal-Bonnin, M. N., ... & Yousfi, M. (2017).** Variability of composition and effects of essential oils from *Rhanterium adpressum* Coss. And Durieu against mycotoxinogenic *Fusarium* strains. *Archives of microbiology*, 199(10) :1345-1356.
- Fekih N. 2015.**Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinus* poussant en Algérie. Thèse de doctorat. Université. AboubekrBelkaid-Tlemcen, 178 p.
- Festy D. 2014.** Huiles Essentielles, Le guide visuel, Edition Quotidien malin, P. 8.
- Figueredo G. 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal, P .20.
- Giordani, R., Hadeif, Y., et Kaloustian, J. 2008.** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79(3) : 199-203.
- Goudjil, M .B., Ladjel, S., Benchikh, S. E., Zighmi S., Hamada, D. 2015.** Chemical Composition, Antibacterial And Antioxidant Activities Of The Essential Oil Extracted From *Mentha Piperita* . Of Southern Algéria. *Research Journal of Phytochemistry*, 9 :79-87.

- Gutleb, A. C., Morrison, E., et Murk, A. J. 2002.** Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by *Fusarium* strains: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11(3-4) : 309-320.
- Hsu F.L., Yen T.B., Chang T.H. et Chang S.T. 2007.** Antifungal activity and synergistic effect of cinnamaldehyde combined with antioxidants against wood decay fungi. The international research group on wood protection. P 2,3.
- Iserin P. 2001.** Encyclopédie des Plantes Médicinales (identification, préparation, soin) 2nd Edition. Larousse, Dorling Kindersley Limited, Londres, p.116.
- Jeunot, B. 2005.** Les fusariotoxines sur céréales (détection, risque et nouvelle réglementation), thèse de doctorat, université Henri Poincaré-nancy 1 p,14.15.
- Kaloustian J., et Hadji-Minaglou F. 2012.** La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie. Springer. France, Paris, p. 12.
- Kanda, M. 2003.-** Diversité des cultures et utilisation des pesticides dans les périmètres
- Kang, Z., et Buchenauer, H. 2002.** Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue. *European Journal of Plant Pathology*, 108(7) : 653-660.
- Khoury, M., El Beyrouthy, M., Ouaini, N., Iriti, M., Eparvier, V., et Stien, D. 2014.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Juniperus excelsa* M. Bieb. growing wild in Lebanon. *Chemistry and biodiversity*, 11(5), 825-830.
- Labiod R. 2016.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar -Annaba- p.20.
- Lahlou M. 2004.** Méthodes pour étudier la phytochimie et la bioactivité des huiles essentielles. *Phytotherapy research*, 18(6) : 435-448.
- Lahrech, K. 2010.** Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L et de *Saccocalyx satureioides*, test d'activité antibactérienne et antifongique, Université Ahmed Ben Bella d'Oran 1 Es-senia, p71.
- Leplat J. 2012.** Développement saprotrophe de *Fusarium graminearum* : rôle respectif de différents habitats naturels du champignon dans le processus d'infection du blé en Bourgogne ; recherche d'indicateurs prédictifs du risque de fusariose. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne, P. 11.

- Likibi, N., Tsiba, G., Madiélé, A. B., Nsikabaka, S., Moutsamboté, J. M., Ouamba, J. M. 2015.** Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperita L* (*Lamiaceae*) du Congo. Journal of Applied Biosciences, 92 : 8578- 8585.
- Lippert W., Podlech D. 2008.** Gros plan sur les plantes de méditerranée. Editions Nathan, Paris, France, P.198.
- maraichers de Lome (Togo). Memoire DESS, Universite d'Abomey-Calavi, Benin, 93 p.
- maraichers de Lome (Togo). Memoire DESS, Universite d'Abomey-Calavi, Benin, 93 p.
- Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., et Sanchis, V. 2013.** Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food and Chemical Toxicology, 60, 218-237.
- Mayer F. 2012.** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, P .25.
- Mkaddem, M., Boussaid, M., et Fadhel, N. B. 2007.** Variability of volatiles in Tunisian *Mentha pulegium L.*(*Lamiaceae*). Journal of Essential Oil Research, 19 (3) : 211-214.
- Mohammed .H., Aoumeur.B. 2007.**Essentioloil composition of *Thymusalgeriensis*Boiss and *Thymus numidicus*from Alegria, RivistaItalianaeppos, 43 :11-18.
- Moldao-Martins, M., Beirao-da-Costa, S., Neves, C., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., et Beirao-da-Costa, M. L. 2004.** Olive oil flavoured by the essential oils of *Mentha piperita* and *Thymus mastichina L.* Food quality and preference, 15(5) : 447-452.
- Mongrain, D., Couture, L., et Comeau, A. 2000.** Natural occurrence of *Fusarium graminearum* on adultwheatmidge and transmission to wheat spikes. CerealResearch Communications, 173-180.
- Moss, M. O. (2008).** Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables
- Muther L. 2015.** Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse de doctorat. Université d'Auvergne, 186 p.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., et Marasas, W. F. O. 1983.** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification.
- Nguyen, M. T. 2007.** Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du vietnam: étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse de doctorat, p14.

- Ouraini, D., Agoumi, A., Ismaili-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrah, Y., Amrani, M., et Belabbas, M. A. 2005.** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes
Study of the activity on the various stages of development of dermatophytes of essential oils from aromatic Plants with antifungal properties. *Phytothérapie*, 3(4) : 147-157.
- Padrini F., et Lucheroni M.T. 1996.** Le grand livre des huiles essentielles, édition de VECCHI S.A, P. 111.
- Pibiri ,M.C. 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. École polytechnique fédérale de lausanne, P. 39.
- Randrianarivelo R. 2010.** Etude de l'activité Antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans*», Alternative aux Antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo, 179 p.
- Rasooli, I., Gachkar, L., Yadegarinia, D., BagherRezaei, M., et AlipoorAstaneh, S. 2007.**Antibacterial and antioxidative characterisation of essential oils from *Mentha piperita* and *Mentha spicata*grown in Iran. *Acta alimentaria*, 37(1) :41-52.
- Rice, L. G., et Ross, P. F. 1994.** Methods for detection and quantitation of fumonisins in corn, cereal products and animal excreta. *Journal of Food Protection*, 57(6) : 536-540.
- Richard, M. 2004.** La Fusariose chez les céréales dans le Canada Atlantique. *Agriculture et Agroalimentaire Canada*, Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux, 440 University Ave., Charlottetown. P.1,2.
- Samate A, D. 2002.** Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone Soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. Thèse de doctorat. Université de Ouagadougou, 264 p.
- Sokovic, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkic, D. D., Vajs, V., et Van Griensven, L. J. 2009.** Chemical composition of essential oils of thymus and *mentha species* and their antifungal activities. *Molecules*, 14(1), 238-249.
- Tabuc, C. 2007.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, thèse de doctorat, upsp de mycotoxicologie, école nationale vétérinaire de Toulouse laboratoire biologie animale,ibna balotesti.p16

- Terra, M. F., Prado, G., Pereira, G. E., Ematné, H. J., et Batista, L. R. 2013.** Detection of ochratoxin A in tropical wine and grapejuice from Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4) : 890-894.
- Thompson, J. D., Chalchat, J. C., Michet, A., Linhart, Y. B., et Ehlers, B. 2003.** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, 29 (4) : 859-880.
- Toumi, F. B., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H., & Boudaghen, L. 2011.** Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algérie. *Acta Botanica Gallica*, 158(1), 93-100.
- Toure D. 2015.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'ivoire. Thèse de doctorat. Université Felix Houphouët-Boigny, 153 p.
- Trail, F. 2009.** For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant physiology*, 149 (1): 103-110.
- Zhiri A., et Baudoux D. 2005.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Developement. Luxembourg, P : 8,9 et 21.
- Zouari, N., Ayadi, I., Fakhfakh, N., Rebai, A., et Zouari, S. 2012.** Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. Et Reut., a North African endemic Species. *Lipids in health and disease*, 11(1), 28.

Annexes

Annexes

Annexe I

COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURE**1. Potatoes dextrose Agar (PDA : pour les champignons)**

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

2. Solution d'Agar 0,2%

Agar-agar	2 g
Eau distillée	1L

Annexe II

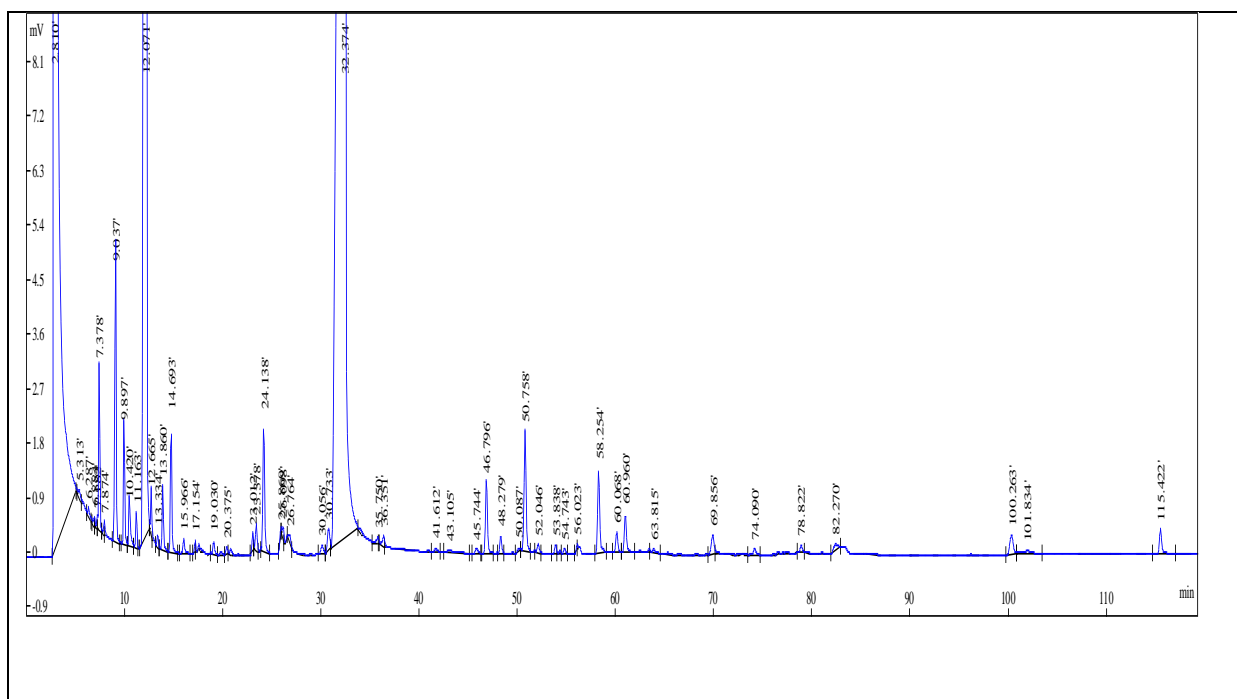


Figure 34: Profils chromatographique de l'huile essentielle de *M. piperita* obtenu par CPG

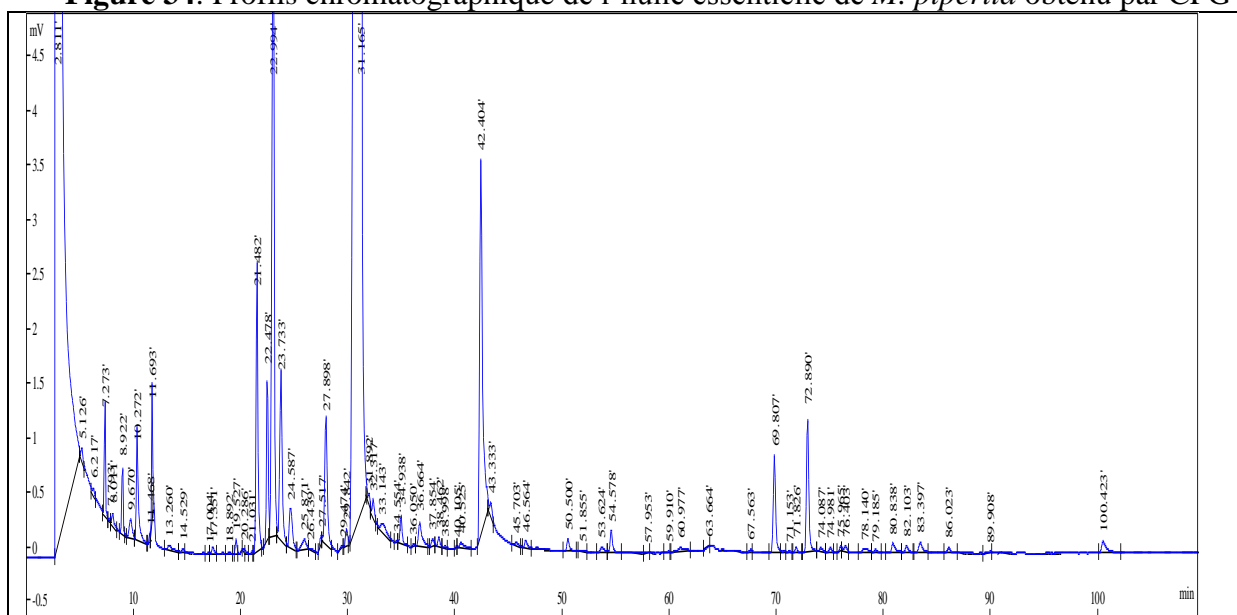


Figure 35: Profils chromatographique de l'huile essentielle de *M. pulegium* obtenu par CPG

Annexe III

