

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITÉ AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTÉ DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

**Evaluation de l'activité antifongique de six huiles
essentielles vis-à-vis de quelques formes spéciales
de *Fusarium oxysporum***

Présenté par :

- Djaber Meriam Ikram
- Benlahbib Kheira
- Gourine Lina Djihane

Devant le jury composé de :

Mme TAKHI Djalila	MAA (Université Amar Télidji, Laghouat)	Présidente
Mme. BENABED Houda	MCB (Ecole Normale Supérieure, Laghouat)	Examinatrice
Mme ELHOUITI Fatiha	MCB (Université Amar Télidji, Laghouat)	Rapporteur
M. OUINTEN Mohamed	Professeur (Université Amar Télidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 30/ 06/ 2019

Résumé

Dans le but de rechercher des moyens de lutte biologique contre des champignons phytopathogènes nous avons essayé d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de six espèces de plantes de la flore algérienne : *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* vis-à-vis de trois formes spéciales du *Fusarium oxysporum* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*).

L'extraction d'huile essentielle (HE) des parties aériennes des plantes sélectionnées a été réalisée par Hydrodistillation. Les résultats obtenus ont montré que la teneur, des plantes varie entre 0,20% et 2,38% (m/m). Le pouvoir antifongique de ces huiles a été étudié vis-à-vis de trois formes spéciale du *Fusarium oxysporum* par la méthode de contact directe avec différentes concentrations d'HE (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 µl/ml).

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* possède une importante activité antifongique sur les trois souches testées, avec un taux d'inhibition de 92% à des faibles concentrations 0,25 µl/ml et 0,5 µl/ml. antifongique suivie par les HEs de *Thymus algeriensis* et d'*Artemisia campestris* avec des pourcentages d'inhibition très intéressant allant jusqu'à 93% à une concentration de 0,5 µl/ml.

Nous avons également constaté que le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* est le plus sensible vis-à-vis des six huiles essentielles testées. Contrairement au *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* qui est la souche la plus résistante .

Mots clés : Activité antifongique, Huile essentielle, *Artemisia*, *Mentha*, *Thymus*, *Fusarium oxysporum*.

Abstract

In order to find means of biological control against phytopathogenic fungi we have tried to evaluate the antifungal activity of the essential oils of six plant species of Algerian flora: *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* and *Thymus algeriensis* against three special forms of *Fusarium oxysporum* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*).

Extraction of essential oil (EO) from the tested aerial part of plants was carried out by Hydro distillation. The results obtained showed that the yield varies between 0.20% et 2.38% (w / w) respectively. The antifungal power of these oils was studied against three special forms of *Fusarium oxysporum* by the method of direct contact at different concentrations of HE (0.25, 0.5, 1, 2 and 4 µl / ml).

The results show that the essential oil of *Thymus vulgaris* has a significant antifungal activity on the three strains tested; with a 92% inhibition rate at low concentrations of 0.5 µl / ml. Followed by the EO of *Thymus algeriensis* et d'*Artemisia campestris* with very interesting percentages of inhibition up to 93% at a concentration of 0,5 µl / ml.

We also found that *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* was the most resistant to the six essential oils tested. Unlike *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* the most sensitive strains.

Key words: Antifungal activity, Essential oil, *Artemisia*, *Mentha*, *Fusarium oxysporum*,

الملخص

بههدف البحث عن وسائل مكافحة بيولوجية ضد الفطريات المسببة للأمراض النباتية، حاولنا تقييم النشاط المضاد للفطريات للزيوت العطرية لستة أنواع نباتية من النباتات الجزائرية. وهم: الشيح ، دقوفت ، النعناع الفلفلي، الفليو، زعتر الجبل، والجرتيل، ضد ثلاثة أنواع من الفطريات :

Fusarium oxysporum f.sp. albedinis, *Fusarium oxysporum f. sp pisi* و
Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

تم استخلاص الزيت العطري من الجزء العلوي للنباتات التي تم اختبارها بطريقة التقطير المائي. حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مردودية هذه النباتات تتراوح بين 0.20 % و 38.2 % (ك/ك).

تمت دراسة القوة المضادة للفطريات لهذه الزيوت ضد ثلاثة اشكال خاصة من *Fusarium Oxysporum* بطريقة الاتصال المباشر لتراكيز مختلفة من الزيت (0.25، 0.5، 1، 2 و 4 ميكرو لتر/مل) .

قد أظهرت النتائج أن زيت زعتر الجبل العطري له أقوى نشاط مضاد للفطريات على الأنواع تحتية الثلاث التي تم اختبارها؛ حيث بلغ معدل التثبيط 92 % عند تركيزات منخفضة (0.5 ميكرو لتر/مل). وتليه الزيوت العطرية للجرتيل و النعناع الفلفلي التي اظهرت نسب تثبيط جد مهمة تصل الى 93% عند 0,5 ميكرو لتر/م .

من خلال هذا العمل وجدنا أن *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* هو الأكثر حساسية للزيوت العطرية الستة المجربة على عكس *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* الذي كان الأكثر مقاومة.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطريات، زيت عطري، الشيح، النعناع، زعتر

Dédicaces

Nous dédions ce travail à :

Nos très chers parents ;

Nos chères sœurs et frères ;

Toutes nos familles ;

Tous nos ami(e)s ;

*Pour ceux que nous aimons et ceux qui nous aiment et ont
une bonne impression dans nos cœurs.*

Djaber Meriam Ikram

Benlahbib kheira

Gourine Lina Djihane

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés. Et nous avoir donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

A nos très chers parents

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de nos études.

A notre encadreur ELHOUITI Fatiha Docteur au département de biologie

Pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche, les conseils qu'il nous a prodigué, la patience, la confiance qu'il nous a témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.

A notre co-encadreur OUINTEN Mohammed Professeur au département de biologie

Merci d'avoir acceptée de diriger ce travail.

Aux membres du jury

Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions et remarques pertinentes.

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail surtout
Mlle Djamila Ameur et Mme Takhi Djalila.*

Table de matière

<i>Liste des abréviations.....</i>	<i>I</i>
<i>Glossaire.....</i>	<i>II</i>
<i>Liste des Tableaux</i>	<i>III</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>IV</i>
<i>Introduction</i>	<i>2</i>
I. Etude Bibliographique	5
I.1. Les huiles essentielles	5
1.1.1. Bref Historique	5
1.1.2. Définitions des huiles essentielles.....	5
1.1.3. Localisation des huiles essentielles.....	6
1.1.4. Méthodes d'obtention des Huiles essentielles	6
1.1.4.1. Distillation.....	6
1.1.5. Conservation des huiles essentielles	7
1.1.6. La composition chimique des huiles essentielles.....	8
1.1.6.1. Terpénoïdes.....	8
1.1.6.2. Dérivés du Phénylpropane (Composés aromatiques)	11
1.1.6.3. Composés d'origines diverses	11
I.2. Les activités biologiques.....	11
I.3. Le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons.....	12
I.4. La fusariose.....	13
II. Matériels et Méthodes.....	16
II.1. Matériels biologiques	16
II.1.1. Les plantes étudiées.....	16
II.1.1.1. La description botanique des espèces étudiées	17
II.1.1.2. Les caractéristiques systématiques des espèces étudiées.....	20
II.1.1.3. Les régions et période de collecte des plantes	20
II.1.2. Les espèces fongiques testées.....	21
II.2. Les méthodes expérimentales.....	23

II.2.1. L'extraction des huiles essentielles	23
II.2.2. Calcul du rendement :	24
II.2.3. L'analyse et l'identification des huiles essentielles	24
II.2.3. Evaluation de l'activité antifongique.....	26
II.2.3.1. La préculture des champignons	26
II.2.3.2. Milieux de culture.....	26
II.2.3.3. La détermination de l'activité par la méthode de contact direct	26
Partie III : Résultats et discussion	31
III.1. La durée d'extraction et les teneurs en d'huiles essentielles	31
III.2. Composition chimique des huiles essentielles	33
III.3. Les résultats de l'activité antifongique.....	37
III.3.1. La cinétique de la croissance mycélienne	37
III.3.1.1. L'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i>	37
III.3.1.2. L'huile essentielle de d' <i>Artemisia campestris</i>	40
III.3.1.3. L'huile essentielle de <i>Mentha piperita</i>	43
III.3.1.4. L'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i>	46
III.3.1.5. L'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	49
III.3.1.6. L'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	52
III.3.2. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.....	55
Conclusion.....	68
Références Bibliographiques	71
Annexes	84

Liste des abréviations

I (%) :	Pourcentage d'inhibition de la croissance de mycélium
% :	Pourcentage
°C :	Degré Celsius
GRAS :	G enerally R ecognized A s S afe
CMF :	Concentration minimale fongicide
CMI :	Concentrations minimales inhibitrices
CPG :	Chromatographie en phase gazeuse
D :	Diamètre de la culture de même champignon dans un milieu en présence de l'huile.
Dk :	Diamètre de la culture de champignons (en mm) dans un milieu sans huile (témoin)
FID	Détecteur à ionisation de flamme
Foa :	<i>Fusarium oxysporum</i> f .sp. <i>albedinis</i>
Fol :	<i>Fusarium oxysporum</i> f .sp. <i>lycopersici</i>
Fop :	<i>Fusarium oxysporum</i> f .sp. <i>pisi</i>
h :	Heure
HE :	Huiles essentielle
IRL :	Indice de Rétention Linéaire
mHE :	Masse d'huile essentielle obtenue
Min :	Minute
ml :	Millilitre
mMV :	Masse de matière végétale sèche
PDA :	Potato Dextrose Agar
RHE (%) :	Rendement des huiles essentielles.
V :	Volume

Glossaire

Terme	Définition
Arbuste	Végétal ligneux d'une hauteur inférieure à celle de l'arbrisseau. Et caractérisé par des ramifications multiples dès la base, si bien qu'aucune tige principale ne peut être mise en évidence.
Auriculées	Un organe présentant latéralement des élément sen forme d'auricules (petites oreilles).
Basales	Se dit de tout phénomène ayant son siège à la base d'un organe
Bilabiée	Deux lèvres
Buissonnante	Une plante ligneuse basse ramifiée dès la base,de taille inférieure à 4 m.
Capitules	Un type inflorescence (évolué au niveau duquel de petites fleurs sessiles sont insérées les unes à côté des autres sur un réceptacle élargi porté par la tige fleurie). Cette inflorescence caractérise la famille des Astéracée.
Conidie	Est une spore assurant la multiplication asexuée des champignons
Grappe	Une inflorescence simple, c'est-à-dire un ensemble de fleurs disposées selon un certain ordre sur un axe commun
Herbacée	Un organe (tige, rameau) ou d'une plante entière présentant les caractères de l'herbe.
Hermaphrodites	Qualifié une fleur ou une plante entière présentant conjointement les deux sexes, mâle et femelle.
Holotriche	Cylindré
Inflorescence	Est la disposition des fleurs sur la tige d'une plante a fleur
Ligneuses	Un organe (tige, rameau, racine) ou d'une plante dans son ensemble, muni d'un appareil de soutien, de nature analogue à celle du bois.
Multiplication végétative	Appelée aussi reproduction végétative, est un mode de multiplication permettant aux organismes végétaux de se multiplier sans reproduction sexuée
Pétiole	Partie étroite de la feuille unissant le limbe à la tige.
Sessile	Ayant une implantation fixe dépourvue de pétiole ou de pédoncule.
Stolon	Est un organe végétal de multiplication végétative. Est un tige aérienne rampante ou arquée
Suffrutescente	Sous arbrisseau
Velues	Poilu. Un organe recouvert de poils longs

Liste des Tableaux

Tableau 01: la classification botanique des espèces étudiées	20
Tableau 02: Références et source des microorganismes testés dans notre étude.....	21
Tableau 03: la durée d'extraction des plantes étudiées en huiles essentielles	31
Tableau 04: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i>	61
Tableau 05: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	61
Tableau 06: les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i>	61

Liste des figures

Figure 01: unités isopréniques (Rebstein et Soerensen, 2011).....	8
Figure 02 : la structure chimique des Monoterpènes acyclique et monocyclique.....	9
Figure 03: la structure chimique des Sesquiterpènes acycliques et monocycliques (El-Shemy, 2017).....	10
Figure 04: la structure chimique des diterpènes acycliques et mono/bicycliques (El-Shemy, 2017).....	10
Figure 05: Exemple des photos contaminer par le <i>Fusarium oxysporum</i>	14
Figure 06: a) l' <i>Artemisia herba alba</i> Asso (Armoise blanche) ; b) <i>Artemisia campestris</i> L.(Armoise rouge) (Chehema, 2006).	17
Figure 07: a) <i>Mentha piperita</i> (La menthe poivrée) (Lobstein and Couic-Marinier, 2016);	18
Figure 08: a) <i>Thymus vulgaris</i> (PrasanthReddy <i>et al.</i> ,2014) ; b) <i>Thymus algeriensis</i> (Mehalaine, 2018).	19
Figure 09: carte géographique indiquant la station de collecte des plantes étudiées (Source, Google maps 2019).....	21
Figure 10: Montage de l'Hydrodistillation employé pour l'extraction des huiles essentielles	23
Figure 11: Les conditions opératoires de la CPG	25
Figure 12: illustration de protocole de la dilution	27
Figure 13: Illustration de la méthode de contact direct	29
Figure 14: Les teneurs moyennes en huiles essentielles étudiées.....	32
Figure 15: Répartition en pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle a) d' <i>Artemisia herba alba</i> et b) d' <i>Artemisia campestris</i> L	34
Figure 16: Répartition en pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle de a) <i>M. piperita</i> , b) <i>M. pulegium</i> , c) <i>T. vulgaris</i> et d) <i>T. algeriensis</i>	35
Figure 17: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait d' <i>Artemisia herba alba</i>	38
Figure 18: L'effet de l'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation.....	39
Figure 19: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait d' <i>A. campestris</i>	41

Figure 20: L'effet de l'huile essentielle de <i>A. campestris</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations	42
Figure 21: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de <i>M. piperita</i>	44
Figure 22: L'effet de l'huile essentielle de <i>Mentha piperita</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations	45
Figure 23: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de <i>M. pulegium</i>	47
Figure 24: L'effet de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation	48
Figure 25 : La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de <i>T. vulgaris</i>	50
Figure 26: L'effet de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudié, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation.....	51
Figure 27: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de <i>T. algeriensis</i>	53
Figure 28: L'effet de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation.....	54
Figure 29: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : <i>Artemisia campestris</i> et <i>Artemisia herba alba</i> (testés séparément <i>in vitro</i>).....	56
Figure 30: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : <i>Mentha piperita</i> et <i>Mentha pulegium</i> (testés séparément <i>in vitro</i>).....	58
Figure 31: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Thymus algeriensis</i>	60
Figure 32: Exemple de photo du test CMI/CMF pour l'huile essentiel de <i>Thymus algeriensis</i>	62
Figure 33: Exemple de photo du test CMI/CMF pour l'huile essentiel de <i>Thymus vulgaris</i>	63

Introduction

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir et se soigner. L'histoire des peuples montre que les plantes aromatiques et médicinales ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La Chine, l'Inde, l'Égypte, la Grèce, Rome, constituent des civilisations phares chez lesquelles les plantes aromatiques et médicinales ont occupé une place de premier choix (Ourida, 2012).

De nos jours, une augmentation de l'utilisation de composés d'origine naturelle est observée (Benabdelkader, 2012). Nul ne peut ignorer que le traitement traditionnel à base de plantes aromatiques et médicinales, trouve un accueil favorable auprès des populations, non seulement du fait qu'il est hérité des ancêtres mais parce qu'il a prouvé son efficacité au fil des temps. Ces plantes doivent leur pouvoir curatif aux principes actifs qu'elles contiennent. Ces dernières renferment une grande liste de composés parmi eux les huiles essentielles (Djeddi, 2018).

Les huiles essentielles et leurs composants commencent à attirer l'attention comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, et en cosmétique (Burt, 2004).

En plus ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique (Dung *et al.*, 2008), d'autre part, la plupart des huiles essentielles sont classées dans la liste des substances GRAS, qui les rendent utiles en tant que conservateurs naturels dans les industries agroalimentaires (Bouguerra, 2012). L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les effets synergiques possibles entre ses composants, valeur dépendant de l'intégralité de ses constituants et pas seulement des composés majoritaires (Lahlou, 2004).

De nombreuses maladies affectant les plantes sont d'origine fongique. Parmi celles-ci, et l'une des plus dommageables, est la 'Ear fusariosis'. Elle est répandue dans les céréales à grain réduit telles que le blé, l'orge, l'avoine et le maïs. Cette maladie provoque des symptômes sévères sur les différentes parties des plantes touchées. Ainsi, elle génère des pertes de qualité et de rendement significatives et peut entraîner la perte de toute la culture.

Les principaux agents phytopathogènes responsables de cette fusariose sont les champignons ascomycètes appartenant aux genres *Fusarium* et *Microdochium*. Les espèces de *Fusarium* sont capables de produire une large gamme de mycotoxines de la famille des trichothécènes. (Pirgozliev *et al.*, 2003 in EL-houiti, 2017)

En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation des produits chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles. L'emploi intensif et inconsideré de ces produits a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cibles et l'apparition des microorganismes résistants. Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire l'usage de certains insecticides et fongicides chimiques. (Rose de Lima *et al.*, 2014)

La recherche de nouvelles molécules, prenant en compte d'autres critères que l'efficacité uniquement, est devenue un souci majeur du temps actuel. Depuis quelques années, l'utilisation des substances naturelles connaît un regain d'intérêt. Parmi celle-ci, se trouvent les huiles essentielles, (Rose de Lima *et al.*, 2014).

Dans ce contexte notre travail a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de six plantes « *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus algeriensis*, *Thymus vulgaris*, *Artemisia herba alba*, *Artemisia campestris* » contre trois formes spéciales du *Fusarium oxysporum* « *Fusarium oxysporum* f.sp .*albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi* », Ces plantes poussent à l'état spontané dans notre pays, et sont très répandues dans la région de Laghouat, ces espèces appartiennent aux deux familles Astéracée et Lamiacée qui sont des familles les plus utilisées comme source d'extraits à pouvoir antifongique élevé à l'échelle mondiale.

Notre document est structuré comme suit :

- **Partie 1** : présente une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles
- **Partie 2** : Montre la description des plantes étudiées et les souches testées, présentation détaillée du matériel et méthodes expérimentales utilisés pour l'évaluation de l'activité antifongique de ces extraits.
- **Partie 3** : expose les résultats obtenus ainsi que leur interprétation et discussion

Enfin, nous terminerons ce document par une conclusion, suivie de perspectives de recherche.

***Etude
Bibliographique***

I. Etude Bibliographique

I.1. Les huiles essentielles

1.1.1. Bref Historique

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales 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 (Bouzouita *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles étaient connues depuis les temps les plus lointains, certains affirment que certaines huiles essentielles (anis, gingembre) ont été utilisées en Chine autour de 2800 ans av.J.-C. dans le cadre de la médecine naturelle. D'autres préconisent que les traces d'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de 7000 ans av. J.-C. dont la preuve est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On trouve également des inscriptions datant de l'époque égyptienne qui expliquent l'utilisation des arômes pour l'usage personnel, pour les préparations médicinales et religieuses (rituels et cérémonies dans les temples et les pyramides) (Djeddi, 2012).

Aujourd'hui, l'aromathérapie est répandue dans le monde entier et les connaissances quant à leur utilisation sont précises. De nombreux laboratoires travaillent sur la recherche de l'aromathérapie certifiée bio (Desramaux, 2018).

1.1.2. Définitions des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont bio synthétisées comme métabolites secondaires par des plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous les organes du végétal (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits. . .) (Bouhdid *et al.*, 2012)

Définition selon la norme ISO 9235 (Matières premières aromatiques d'origine naturelle vocabulaire) .

Une huile essentielle est définie comme un « produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche »(Desmares *et al.*, 2008) .

I.1.3. Localisation des huiles essentielles

Dans le règne végétal, les huiles essentielles se retrouvent généralement chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles dont beaucoup appartiennent aux ordres des Lamiales, des Astérales, des Rutales, des Laurales et des Magnoliales. Elles peuvent être stockées à l'intérieur d'un ou de plusieurs organes (Samate, 2002).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes : fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vetiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade) (Sangwan *et al.*, 2001).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des 23 Lauracées ou des Zingibéracées, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées (Sangwan *et al.*, 2001).

I.1.4. Méthodes d'obtention des Huiles essentielles

Plusieurs méthodes sont connues pour extraire les essences aromatiques des végétaux. Les principales méthodes d'extraction sont :

I.1.4.1. Distillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles

Hydro distillation simple :

Le matériel végétal (intact ou éventuellement broyé) est immergé directement, dans un alambic rempli d'eau qui est porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées, refroidies, sur une surface froide, puis décantées. Par la suite, l'huile essentielle est séparée par différence de densité (Bruneton, 2009 ; Verdan, 2002 *in* EL-houiti, 2018)

Entrainement à la vapeur d'eau (distillation à la vapeur saturée)

Dans ce type de distillation, la plante est traversée par un courant de vapeurs d'eau qui va tirer les substances volatiles hydrophobes. Après condensation, la séparation se fait par décantation. Cette méthode apporte une amélioration à la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Ouis, 2014).

Hydro-diffusion

L'Hydro diffusion est une méthode consistant à envoyer la vapeur d'eau de haut en bas et non de bas en haut comme pour la distillation. Cette méthode à l'avantage d'être plus rapide et donc moins préjudiciable à la qualité des substances aromatiques. Cependant, l'hydro-diffusion possède l'inconvénient de charger les huiles essentielles en substances non volatiles. Il en résulte des « essences de percolation » et non des huiles essentielles proprement parler (Franchomme, 2007 *in* Hélène, 2014).

Hydrodistillation par micro-onde sous vide

L'hydrodistillation est une méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie (température plus basse) et de qualité supérieure à l'hydrodistillation traditionnelle. Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle : l'HE est alors entraînée dans un mélange azéotropique formé par la vapeur d'eau de la plante traité (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) (Bruneton, 2009 *in* Hélène, 2014).

L'expression à froid

L'expression, aussi appelée « pression à froid » ou « grattage », est un procédé d'extraction très simple. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes (citron, pamplemousse, orange douce, orange amère, mandarine) qui renferment une quantité importante d'huile essentielle. Cette opération mécanique vise à casser les molécules qui contiennent l'essence dans les zestes des agrumes frais. Dans ce cas, on utilise le terme « essence » plutôt qu'« huile essentielle » (Buronzo, 2008).

I.1.5. Conservation des huiles essentielles

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables si l'on veut éviter leur oxydation et leur dépolymérisation (Bardeau, 2009)

Du fait de la présence de fonctions chimiques réactives, les terpènes peuvent s'oxyder, lorsque l'huile essentielle est abandonnée assez longtemps, à la lumière, à l'air et à la température ambiante, ou mieux à une température élevée.

Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et, d'autre part, d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013) .

I.1.6. La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes et variables. (Djeddi, 2012). Il est généralement admis que les constituants des huiles essentielles sont répartis en trois groupes provenant de trois voies de biosynthèse

- Le groupe des Terpénoïdes
- Le groupe des phenylpropanoïdes;
- Le groupe des lipides, issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes.(Kaloustian et Hadji-Minaglou., 2013)

I.1.6.1. Terpénoïdes

Le mot terpène, terme provenant de térébène ou térébinthe. Le térébinthe (*pistacia terebenthus*) est la plante dont ont été isolés pour la première fois (Claude, 2010).

Ils sont généralement fortement parfumés. Dans certains cas, ces produits chimiques piquants font partie du mécanisme de protection de la plante ou de l'insecte. La forte odeur de térébenthine, un dérivé de la résine, provient des monoterpènes qui sont les principaux composants de la résine.

Terpénoïdes ou terpènes sont des dérivés de l'isoprène (méthyl-2-butadiènes); chaque groupe de terpènes est issu de la condensation d'un nombre d'unités isopréniques (C_5H_8) n.

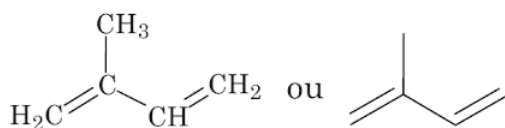


Figure 01: unités isopréniques (Rebstein et Soerensen, 2011)

Toutes les plantes vertes ont la capacité de produire des terpènes par la voie du mévalonate, mais cette spécificité n'est pas absolue car (Robbers *et al.*, 1996 in Djeddi, 2012) mentionnent que les terpènes sont rencontrés également chez les champignons, chez certains animaux marins (Spongiaires), ainsi que chez certains insectes sous formes de phéromones sesquiterpéniques.

Les terpénoïdes les plus volatiles (la masse moléculaire la moins élevée : monoterpènes et sesquiterpènes) sont les plus concernés. Selon le nombre d'unités isopréniques les terpènes sont classés en : (Djeddi, 2012).

Monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)

Les Monoterpènes sont constitués de deux unités isoprène. Donc 10 carbones, et sont les composés volatils et odorants des huiles essentielles. (Claude, 2010).

Ils sont acycliques (Myrcène, Ocimène), monocycliques (Terpinène) ou bicycliques (Pinène, Camphène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde, comme : l'ocimène (Basilic), le Myrcène (Laurier) et le Géraniol. Ils constituent parfois 90% de l'huile essentielle (Citrus, Térébenthine). (Djeddi, 2012)

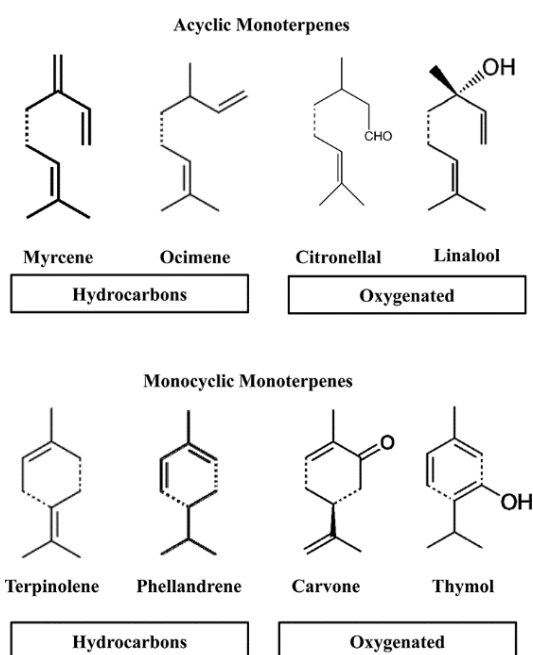


Figure 02 : la structure chimique des Monoterpènes acyclique et monocyclique

Sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)

Sont des constituants de trois unités isoprène et sont formés dans le cytosol. (Claude, 2010). Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents. (Bruneton, 2009). C'est des carbures aromatiques, ils peuvent être linéaires (Farnésol) ou cycliques (Bisbolène).

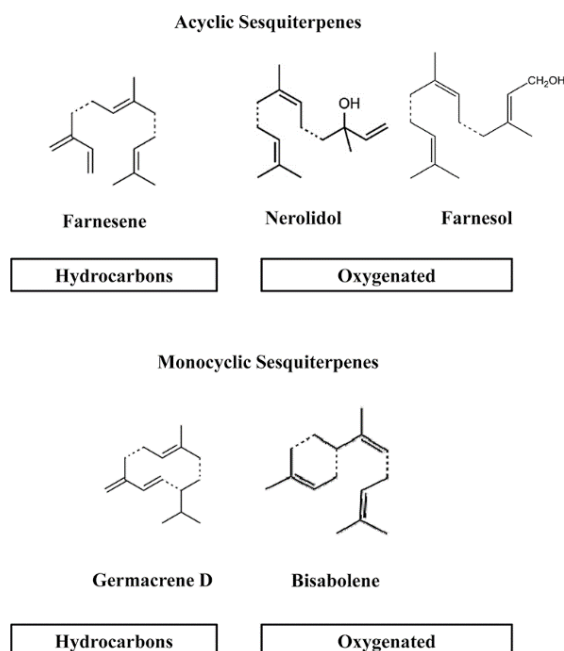


Figure 03: la structure chimique des Sesquiterpènes acycliques et monocycliques (El-Shemy, 2017)



Diterpènes ($C_{20}H_{32}$)

Les diterpènes Sont constitués de quatre unités isoprène et sont formes dans la plastie. (Claude, 2010). Ce sont des dérivés d'hydrocarbures aromatiques. Ces composées, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résine.

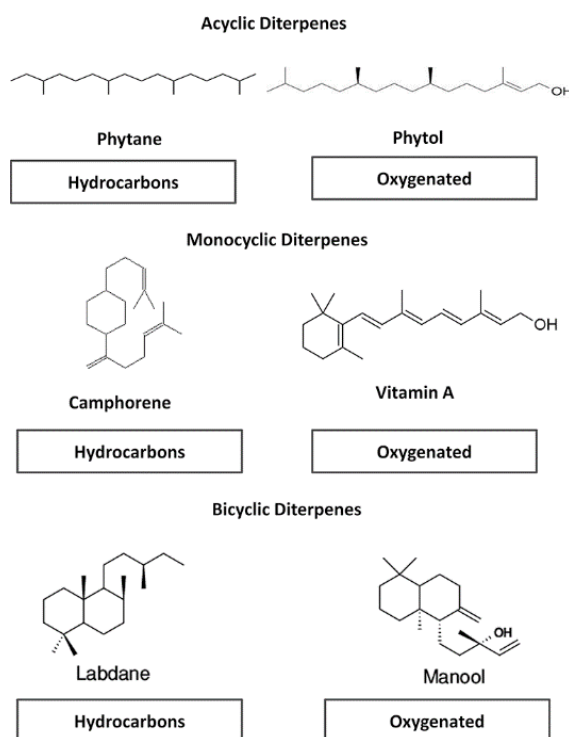


Figure 04: la structure chimique des diterpènes acycliques et mono/bicycliques (El-Shemy,2017)

I.1.6.2. Dérivés du Phénylpropane (Composés aromatiques)

Dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins présents dans la composition de l'huile essentielle (Djeddi, 2012).

La biosynthèse concerne le précurseur de cette série qui est l'acide shikimique (ou acide trihydroxy-3,4,5-cyclohexène-1 carboxylique) qui conduira aux dérivés de l'acide cinnamique. Ce deuxième groupe est constitué par : des aldéhydes (par exemple, le Cinnamaldéhyde) et des dérivés méthoxylés, ainsi que des allylphénols (par exemple l'Eugénol), des propénylphénols (par exemple, l'Anéthol). Il existe aussi des lactones ou esters cycliques (par exemple, la coumarine) formés à partir de dérivés de l'acide cinnamique. Parfois, la chaîne aliphatique est réduite à un seul atome de carbone (par exemple, la Vanilline). (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

I.1.6.3. Composés d'origines diverses

Ces composés proviennent le plus souvent de la dégradation de molécules peu ou pas volatiles. Par exemple, l'oxydation des acides linoléique et linolénique conduit à des peroxydes instables qui, à leur tour, après dégradation, vont donner des alcools, des aldéhydes et des acides de masse moléculaire plus petite. Les carotènes se décomposent en ionones. Les composés azoté ou soufré sont rares dans les huiles essentielles. (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013). Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits.

- Composés issus de la dégradation d'acides gras ;
- Composés issus de la dégradation de terpènes ;
- Composés azotés ou soufrés. (Bruneton, 2009).

I.2. Les activités biologiques

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. la composition hétérogène des huiles essentielles décrit l'activité biologique et l'effet synergique des constituants de l'huile essentielle en tant qu'agents, antibactériens, antifongiques et antioxydants qui améliorent la durée de vie de l'aliment (Cailliet et Lacroix, 2007; El-Shemy, 2017 ; Boughendjioua., 2018).

Les Huiles Essentielles sont utilisées dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique... Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (Bakkali *et al.*, 2008), elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, (De-Billerbeck, 2007). Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Kalemba,

2003) dans la plupart des cas, cette activité est due à la présence de constituants actifs représentés principalement par des monoterpènes, des sesquiterpènes, des alcools et autres hydrocarbures et phénols (Goetz et Ghédira, 2012).

Certaines huiles essentielles sont des agents antifongiques à large spectre qui pourraient être exploitées pour la conservation des aliments. Cela a par exemple été démontré pour l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris* L.) qui présente une meilleure activité antifongique que la plupart des agents chimiques actuellement utilisés pour une toxicité et un coût potentiellement moindre (Kumar *et al.*, 2008).

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de la menthe pouliot et de l'eucalyptus. En effet l'équipe de Lahlou a montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* inhibe la croissance d'un *Penicillium* sp. à un volume de 20 µl. (Ouraini *et al* in Sharma *et al.*, 2011). Ont obtenu une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 2 µg/ml de l'huile essentielle de *M. pulegium*. D'autres espèces fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp) sont tous sensibles à l'activité antifongique de l'huile essentielle de la menthe pouliot. (Adam *et al*, 2011).

L'huile essentielle d'*Artemisia* est un agent antifongique potentiel et prometteur, qui pourrait être utilisé comme fongicide botanique ou pesticide vert. L'inhibition de la croissance du mycélium dépend de l'espèce *Artemisia* (origine, composition) et est directement proportionnelle à l'augmentation de la concentration en huiles essentielles. (Badea et Delian., 2014).

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique diminue selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures (Elhouiti, 2018).

I.3. Le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules fongiques est connu. La grande diversité des composants des huiles leur confère différents modes d'action sur plusieurs genres de champignons. (Bernard *et al.*, 2019).

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antifongique ne soit pas attribuable à un mécanisme unique,

mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. La principale caractéristique des molécules présentes dans les huiles essentielles est leur hydrophobicité.

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des cellules (Giordani et Kaloustian., 2006).

Le mécanisme de la toxicité des phénols envers les champignons est basé sur l'inactivation des enzymes fongiques qui contiennent le groupement SH dans leur site actif. Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires. (El Ajjouri *et al*, 2008).

Contre les champignons, les phénols terpéniques des huiles essentielles provoquent plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (Amarti *et al*, 2010).

I.4. La fusariose

La fusariose est une maladie des céréales causée par un complexe d'espèces du genre *Fusarium*. Elle Provoque une baisse du rendement et de la qualité technologique des grains. Certaines espèces de *Fusarium* produisent des mycotoxines, métabolites secondaires toxiques, qui s'accumulent dans les grains et sont transmises le long de la chaîne de transformation agro-alimentaire. (Boutigny *et al*, 2017).

Des stratégies chimiques impliquant l'utilisation de pesticides de synthèse pour le contrôle de la fusariose ont maintenant été découragées en raison d'effets indésirables sur la santé des sols, les humains et les organismes non-cibles dans l'environnement. L'accent est donc déplacé pour rechercher les produits chimiques puissants d'origine biologique pour la gestion des maladies Fusarioses. (Sharma,2016 *in* Elhouiti, 2018).

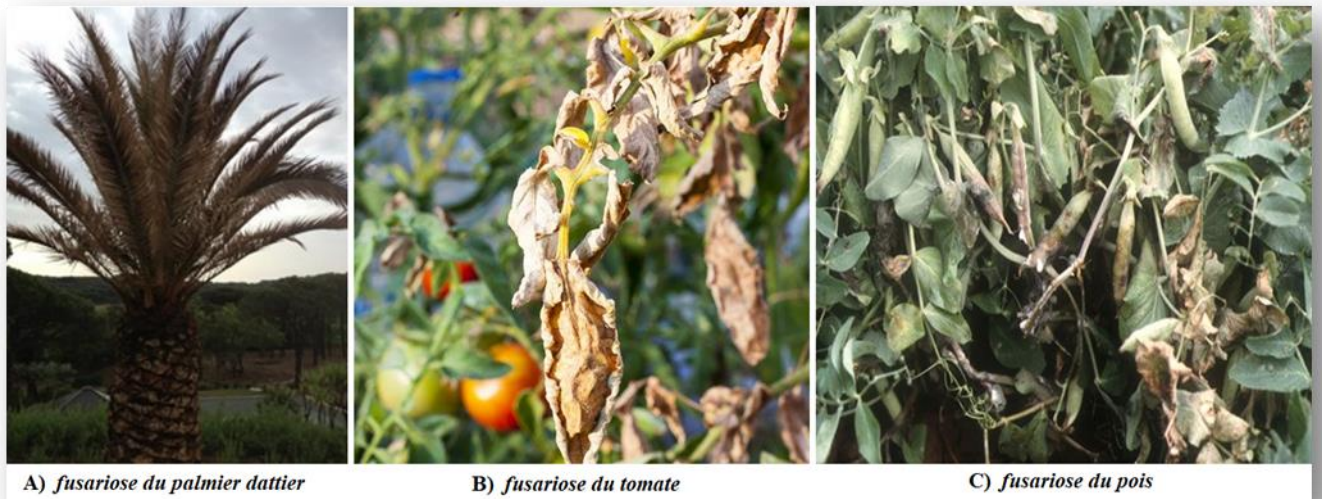


Figure 05: Exemple des photos contaminer par le *Fusarium oxysporum*

Matériels et Méthodes

II. Matériels et Méthodes

II.1. Matériels biologiques

II.1.1. Les plantes étudiées

Six espèces ont été choisies pour cette étude dont 2 genres (*Thymus* et *Menthe* appartenant à la famille des lamiacées, est une assez grande famille. En effet, elle comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres. (Miller *et al.*, 2006), et Le troisième genre (*Artemisia*) appartient à la famille des Astéracées cette dernière forment la plus grande famille de plantes à fleur avec plus de 100 genres et 25 000 espèces connues.(Mezache, 2010)

- ✓ **Le genre *Artemisia*** : Ce genre est une collection de 400 espèces de plantes herbacées et d'arbustes rustiques c'est une ressource contribuant en chimie, en médecine, en agriculture, en industrie et en écologie. (Koul *et al.*, 2018). Les espèces du genre sont appelées sous les noms communs d'armoise, d'absinthe et de sagebrus (Bora et Sharma, 2011).

L'*Artemisia* possède des vertus thérapeutiques (hypoglycémique, le traitement de l'obésité, diminuer le cholestérol, anti inflammatoire, antimicrobien (Al-snafi, 2015).

- ✓ **Le genre *Menthe*** : Les menthes sont des plantes ayant des propriétés aromatiques et médicinales. Ce sont des herbacées vivaces rampantes ou à tiges dressées. Les feuilles sont entières, très odorantes.(Abidjan, 2010). Les menthes les plus communes et les plus populaires pour la culture sont la menthe verte, pouliot, ronde. (Aghfir *et al.*, 2008).

La menthe a été à l'origine employée comme herbe médicinale pour traiter le mal d'estomac. Pendant le moyen âge, des feuilles en bon état en poudre ont été utilisées pour blanchir des dents. Le thé en bon état est un diurétique fort. La menthe facilite également la digestion. (Aghfir *et al.*, 2008).

- ✓ **Le genre *Thymus*** : Ce genre appartient à la famille des Lamiacée et comprend plus de 400 espèces des plantes annuelles et vivaces herbacées. (Leal *et al.*, 2017).

Le *Thymus* est connu pour ces propriétés médicinales qui le rendent parmi les genres les plus intéressants du point de vue activité biologique (Hazzit *et al.*, 2006). Les espèces de *Thymus* sont couramment utilisées comme tisane, aromatisants (condiment et épices) et des fins médicinales (Stahl-Biskup et Saez, 2002).

II.1.1.1. La description botanique des espèces étudiées

✓ *Artemisia herba alba* Asso (Armoise blanche) (Figure 06)

Le mot vient du latin *Artemisia* du nom de la déesse grecque Artemis. Cette espèce d'armoise (armoise blanche) C'est un arbuste nain qui pousse rapidement dans les climats arides et chauds. La floraison commence de septembre à décembre et se développe essentiellement à la fin de l'été avec de nombreuses tiges basales. (Osman *et al.*, 2017) La plante va du vert au vert clair, avec de fortes racines. (Une odeur caractéristique de thymol). Les feuilles sont velues, argentées, petites, Les fleurs sont toutes hermaphrodites, emballées ensemble dans de très petits capitules, en sessile et en grappe (Faradj, 2003).

La plante pousse généralement dans les steppes d'Afrique du Nord (Libye, Maroc et Algérie), d'Égypte et d'Espagne, ainsi que dans les déserts du Sinaï, du Moyen-Orient et du Nord-ouest de l'Himalaya indien. (Osman *et al.*, 2017).

✓ *Artemisia campestris* L (Armoise rouge) (Figure 06)

Est une plante vivace communément appelé armoise sur le terrain et répandu en Asie, Amérique du Nord, en Europe et en Afrique du Nord. (Dib *et al.*, 2017).

Sa floraison est en Mai à Septembre. Elle est assez commune sur les sols siliceux et les bords des rivières. C'est une plante herbacée, -- hermaphrodite, buissonnante de 30 cm à 50 cm. Ces tiges sont ligneuses. Elle est généralement rougeâtre, très ramifiées. Les feuilles de cette plante sont altérées, plus au moins soyeuses dans leur jeunesse. Les basales de ces feuilles sont pétiolées et auriculées, Les fleurs périphériques sont femelles, les autres sont mâles. (Gherib, 2009).



Figure 06: a) l'*Artemisia herba alba* Asso (Armoise blanche) ; b) *Artemisia campestris* L (Armoise rouge) (Chehma, 2006)

✓ ***Mentha piperita*** (Nom français : La menthe poivrée) (**Figure 07**)

La menthe poivrée est le produit de l'hybridation entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica* L.) et la menthe verte (*Mentha spicata* L.). Il s'agit d'un hybride stérile dont la propagation ne s'opère que par multiplication végétative, à partir des stolons. (Lobstein et Couic-Marinier, 2016).

Cette plante de 80 cm est vivace. Ses tiges sont quadrangulaires ; les feuilles sont opposées, ovales, aiguës et dentées. Elle aime les terrains frais, argileux et calcaires. (Zhiri et Baudoux, 2005).

✓ ***Mentha pulegium*** (Nom français : La menthe pouliot) (**Figure 07**)

La Menthe pouliot est une Herbe vivace très odorante de 10–30 cm de hauteur, Inflorescences en épis en têtes ou en verticilles, feuilles sessiles ou subsessiles. Plante glabre. Calice presque bilabié. (Miara *et al.*, 2013).



Figure 07: a) *Mentha piperita* (La menthe poivrée) (Lobstein and Couic-Marinier, 2016);
b) *Mentha pulegium* (La menthe pouliot) (Khadraoui *et al.*, 2013)

✓ ***Thymus vulgaris*** (**Figure 08**)

Le *Thym vulgaris*, développe une végétation suffrutescente le plus souvent érigée de 10 à 40 cm de hauteur. Les feuilles, aux marges révolutes, sont linéaires ou étroitement lancéolées et de taille variable. Ponctuées, glanduleuses et de couleur verte à gris bleu sur la face supérieure, elles sont velues et blanchâtres sur la face inférieure, Les rameaux florifères holotriches portent des inflorescences capitées ou verticillées. De couleur rose ou blanc rosé, les fleurs s'épanouissent d'avril à juillet et présentent des tailles différentes selon le sexe (Rey, 1989).

✓ *Thymus algeriensis* (Figure 08)

Est une plante ligneuse, rameaux serrés, grêles, plus ou moins dressés et velus, recouverts de feuille opposées, effilées, courtement pétiolées, très glanduleux mesurant 1 à 2 cm de longueur 2 à 3 mm de large. Les feuilles florales sont peu différentes lancéolées et dépassent les calices. Epis florifères courts et étroits ne dépassant guère 15 à 12 mm, Fleures de 5 à 6 mm, à corolle moins de deux fois plus longue que le calice, fleurs rosées en capitules terminaux, avec un calice glanduleux, glabre ou légèrement velu, à deux lèvres égales, corolle bilabée à lobe médian plus grand (Mehalaine, 2018).



Figure 08: a) *Thymus vulgaris* (PrasanthReddy *et al.*, 2014) ; b) *Thymus algeriensis* (Mehalaine, 2018)

II.1.1.2. Les caractéristiques systématiques des espèces étudiées

Tableau 01: la classification botanique des espèces étudiées

Règne	Plantes	Plantes	Plantes
Embranchement	Spermaphytes	Spermaphytes	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes	Angiospermes	Gymnospermes
Classe	Dicotylédones	Dicotylédones	Dicotylédones
Ordre	Lamiales	Lamiales	asterales
Famille	Lamiacées	Lamiacées	Astéracées
Genre	<i>Mentha</i>	<i>Thymus</i>	<i>Artemisia</i>
Espèces	<i>Mentha piperita</i> (Mehani et Goudjil, 2015) <i>Mentha pulegium</i> D'après Quézel et Santa ,1963 et Guignard et Dupont, 2004 in Bouhaddouda, 2016)	<i>Thymus vulgaris</i> <i>Thymus algeriensis</i> (Zeghib,2013)	<i>Artemisia campestris</i> L (Al-Snafi, 2015) <i>Artemisia herba alba</i> Asso (Mehani et al., 2016)

II.1.1.3. Les régions et période de collecte des plantes

Les parties aériennes des espèces ont été collectées au mois de juin (2017) de différentes localités de la région de Laghouat (**Figure 09**).

- *Artemisia herba alba* Asso (echih) et *Artemisia campestris* L (degoufet)), *Thymus vulgaris* (Zaâtar Djebel), *Thymus algeriensis* (Djertil) et *Mentha pulegium* (Flio) à Aflou (Laghouat).
- *Mentha piperita* (Nânâ Har) d'El-hadjeb (Laghouat).

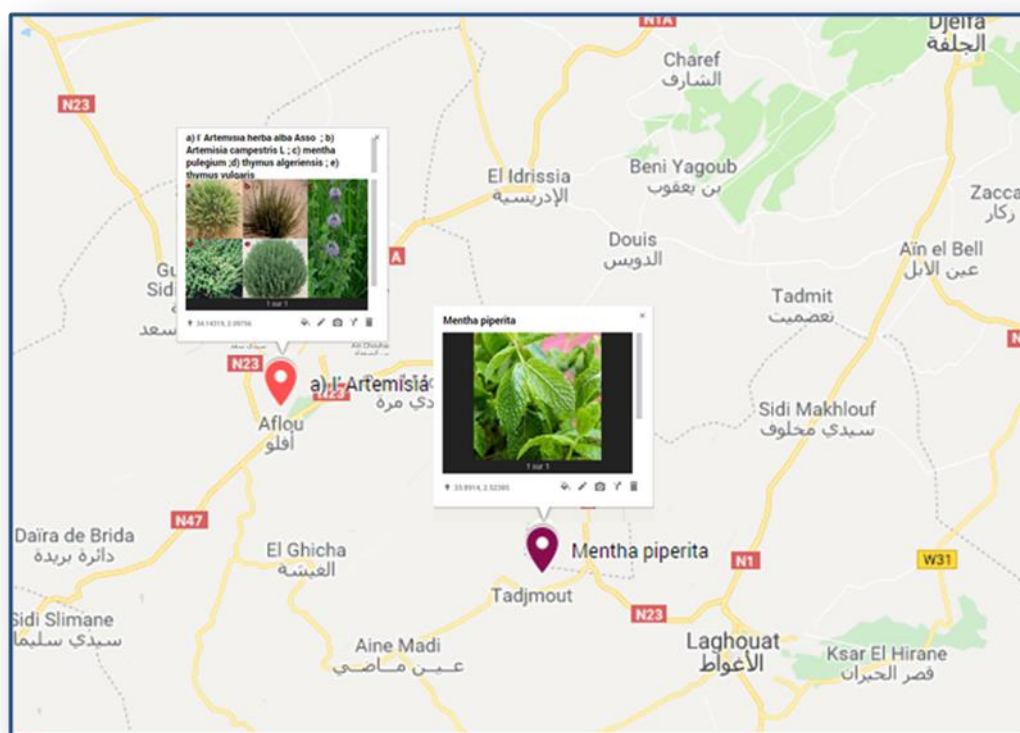


Figure 09: carte géographique indiquant la station de collecte des plantes étudiées (Source, Google maps 2019).

II.1.2. Les espèces fongiques testées

Le choix des microorganismes a été porté pour trois formes spéciales du *Fusarium oxysporum* : *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

Tableau 02: Références et source des microorganismes testés dans notre étude

Souche Fongique	Référence	Source
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol)	Isolat	Institut National d'Agronomie, El Harrach
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (Foa)	Isolat	SRPVG(Ghardaïa)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> (Fop)	Isolat	Laboratoire de mycologie, faculté du Blida département d'agronomie

➤ ***Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (Fop)**

Le *Fop* se distingue des autres espèces de *Fusarium* par la production abondante de microconidies, rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courtes (Appel et Gordon, 1996 in Aoumria, 2015), la fusariose causée par le *Fop* est l'une des maladies les plus destructrices du pois dans le monde. Le contrôle de cette maladie est difficile et repose principalement sur l'utilisation de cultivars résistants. (Bani *et al.*, 2018)

➤ ***Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)**

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* produit des microconidies unicellulaires et des macroconidies en forme de croissant présentant au maximum de 3 à 4 cloisons. Il forme également des chlamydo spores à paroi épaisse intercalaires ou terminales et isolées ou en chaînes. Les colonies de *Fol* se développent assez rapidement. D'abord blanches, elles prennent une teinte rose foncé à violacée en vieillissant. (Blancard, 2009).

Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* est l'agent pathogène de la fusariose qui est une maladie commune des tomates de serre, surtout lorsqu'elles sont cultivées sur substrats du sol, causant une mort prématurée des plantes et une baisse de rendement. Il pénètre dans le système conducteur des plantes, en libérant des toxines qui détruisent les cellules de la plante. (Alekseeva *et al.*, 2019).

➤ ***Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Foa)**

Les souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* isolées du rachis de palmes infectées présentent une morphologie caractéristique : thalle de couleur rose saumon et mycélium frisé. Par contre, celles provenant du sol, de racines de palmiers et de certaines plantes de culture associées (Luzerne, Henné) considérées comme porteurs sains présentent une morphologie variée (Mebarki, 2016).

La maladie du bayoud, ou fusariose du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est causée par un champignon tellurique *Foa*, L'acide fusarique (AF) produit par *Foa* pourrait jouer un rôle important dans la pathogenèse (Narimane *et al.*, 2015).

(Michielse et Rep, 2009) ont classé le *Fusarium oxysporum* comme suit :

- **Règne** : Fungi
- **Phylum** : Ascomycota
- **Sous Phylum** : Pezizomycotina
- **Classe** : Sordariomycètes
- **Ordre** : Hypocréales
- **Famille** : Nectriaceae
- **Genre** : *Fusarium*
- **Espèce** : *Fusarium oxysporum*

II.2. Les méthodes expérimentales

II.2.1. L'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne pour les six espèces (*Artemisia campestris* L, *Artemisia herba alba*, *Mentha pulegium* L, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris* L, *Thymus algeriensis*) a été réalisée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant une durée moyenne de trois heures (**Figure 10**).

L'huile essentielle récupérée a été séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis stockée à 4 °C à l'obscurité.

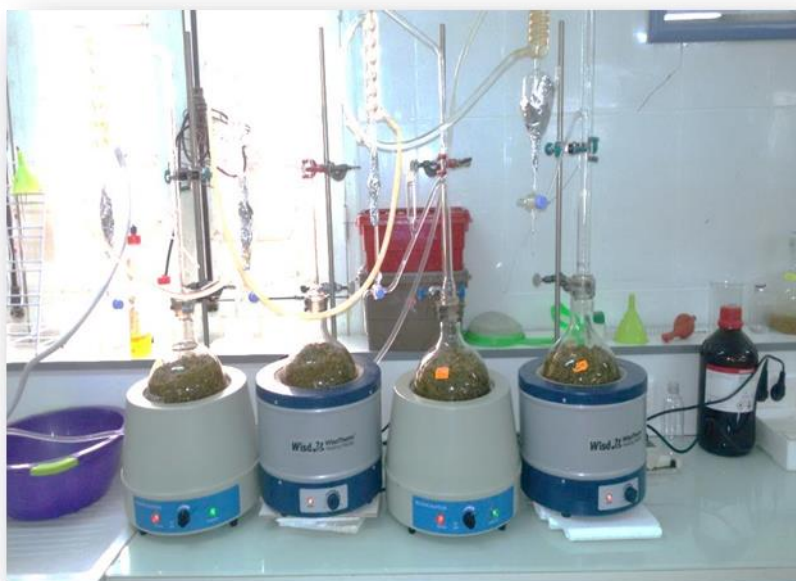


Figure 10: Montage de l'Hydrodistillation employé pour l'extraction des huiles essentielles

II.2.2. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle RHE (%) correspond au rapport entre la masse de l'HE (m_{HE}) obtenue et la masse de matière végétale (m_{MV}) utilisée pour l'extraction. Il est exprimé en pourcentage. Il est estimé par la formule suivante (Lahgouiter *et al.*, 2015).

$$RHE (\%) = m_{HE} / m_{MV} \times 100$$

Où :

RHE (%) : Le rendement des huiles essentielles.

m_{HE} : la masse d'huile essentielle obtenue (g).

m_{MV} : la masse de matière végétale sèche (g).

II.2.3. L'analyse et l'identification des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée l'année précédente par (Abdi et Moulai, 2018) la technique de Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) utilisée pour l'analyse des six extraits.

Ces 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 $\times$ 0,32 mm, épaisseur du film de 0,10 μ m).

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, et à 280°C respectivement.

Les solutions des HEs sont préparées, en dissolvant 10 μ l de chaque HE dans 1 ml du solvant organique pentane.

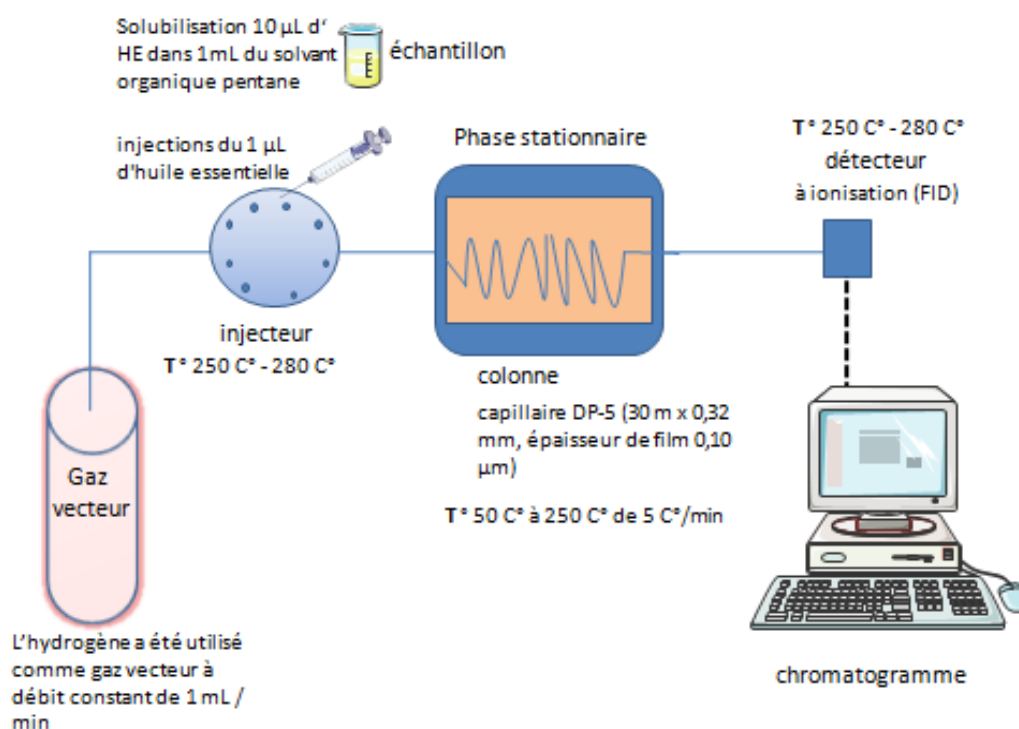


Figure 11: Les conditions opératoires de la CPG.

L'identification des composés volatiles ont été affectées par (Abdi et Moulai, 2018) sur la base d'une comparaison entre leurs indices de rétention relatifs, calculé par rapport à la série des n-alcanes (Soro *et al.*, 2015). La plupart des molécules ont été confirmée par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux connus dans la littérature (Merghache *et al.*, 2009).

L'indice de rétention des composés volatiles est calculé par la formule suivante :

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

Où :

IRL : l'indice de rétention linéaire

n : le nombre de carbones de l'alcane précédant immédiatement le composé étudié

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

Tr [n] : le temps de rétention de l'alcane précédant immédiatement le composé étudié

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

II.2.3. Evaluation de l'activité antifongique

Pour évaluer l'activité antifongique des six HEs sur gélose (Rachid *et al.*, 2014). Nous avons adopté la technique de contact direct qui repose sur l'étude de l'effet de l'incorporation de différentes concentrations de l'huile essentielle dans le milieu de culture sur la croissance des souches fongiques (Laghchimi *et al.*, 2014). La méthode de contact direct est utilisée en vue de déterminer les extraits actifs par l'évaluation du taux d'inhibition.

Après solidification du milieu de culture, pour chaque moisissure, un disque mycélien est déposé aseptiquement à la surface du milieu gélosé au centre de la boîte de pétri (Boughendjioua, 2019).

La lecture des résultats a été effectuée après 6 jours d'incubation à 26°C, la mesure du diamètre de la zone de croissance a été effectuée quotidiennement en présence de différentes concentrations d'HE. Parallèlement, nous avons déterminé le diamètre de la zone de croissance de ces mêmes souches fongiques en absence d'extrait (Bougandoura et Bendimerad, 2012)

II.2.3.1. La préculture des champignons

L'ensemencement des champignons consiste à prélever à l'aide d'une anse stérile, un morceau (disque de 6 mm) de colonie mycélienne pure, que nous avons déposé dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Les boîtes sont mises à incuber dans une étuve, à une température de 26°C et à l'obscurité, pendant 6 jours. (Mechata *et al.*, 2015).

II.2.3.2. Milieux de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieu de culture (PDA) (voir **Annexe I**) 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 : (Figure 13)

Cette méthode repose sur l'étude de l'effet de l'incorporation de différentes concentrations de l'huile essentielle dans le milieu de culture sur la croissance des souches fongiques.

Du fait de la non miscibilité des huiles essentielles à l'eau et donc aux milieux de culture, une mise en émulsion a été réalisée grâce à une dispersion homogène de l'huile pure dans une suspension stérile d'agar à 0,2% (m/v) afin d'obtenir le maximum de contact entre l'huile et le micro-organisme à tester (entre le germe et l'huile essentielle) (Lboumhamdi *et al.*, 2018).

A. préparation des différentes concentrations :

Dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 mL de milieu solide PDA stérilisés à l'autoclave (20 minutes à 120°C), on ajoute 1,5 mL de chacune des dilutions préparées, puis on les agite convenablement à l'aide du vortex avant de les répartir dans des boîtes de pétri rondes de (90 mm de diamètre). à raison de 15 mL de mélange par boîte de façon à obtenir les concentrations finales de 0.25 , 0.5 , 1 , 2 et 4 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Des témoins, contenant 13,5 mL de milieu de culture PDA plus 1,5 mL de la suspension d'agar stérile à 0,2% sans HE , sont également préparés. Après solidification, les boîtes préparées ont été inoculées au centre de la surface du milieu gélosé avec un disque de mycélium (6 mm de diamètre) prélevé de manière stérile à l'aide d'une aiguille à partir de la périphérie des cultures de 7 jours, puis incubées à l'obscurité à une température de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 6 jours (**Figure 12**).

Pour chaque espèce fongique et chaque concentration, trois répétitions ont été réalisées. (Laghchim *et al.*, 2014).

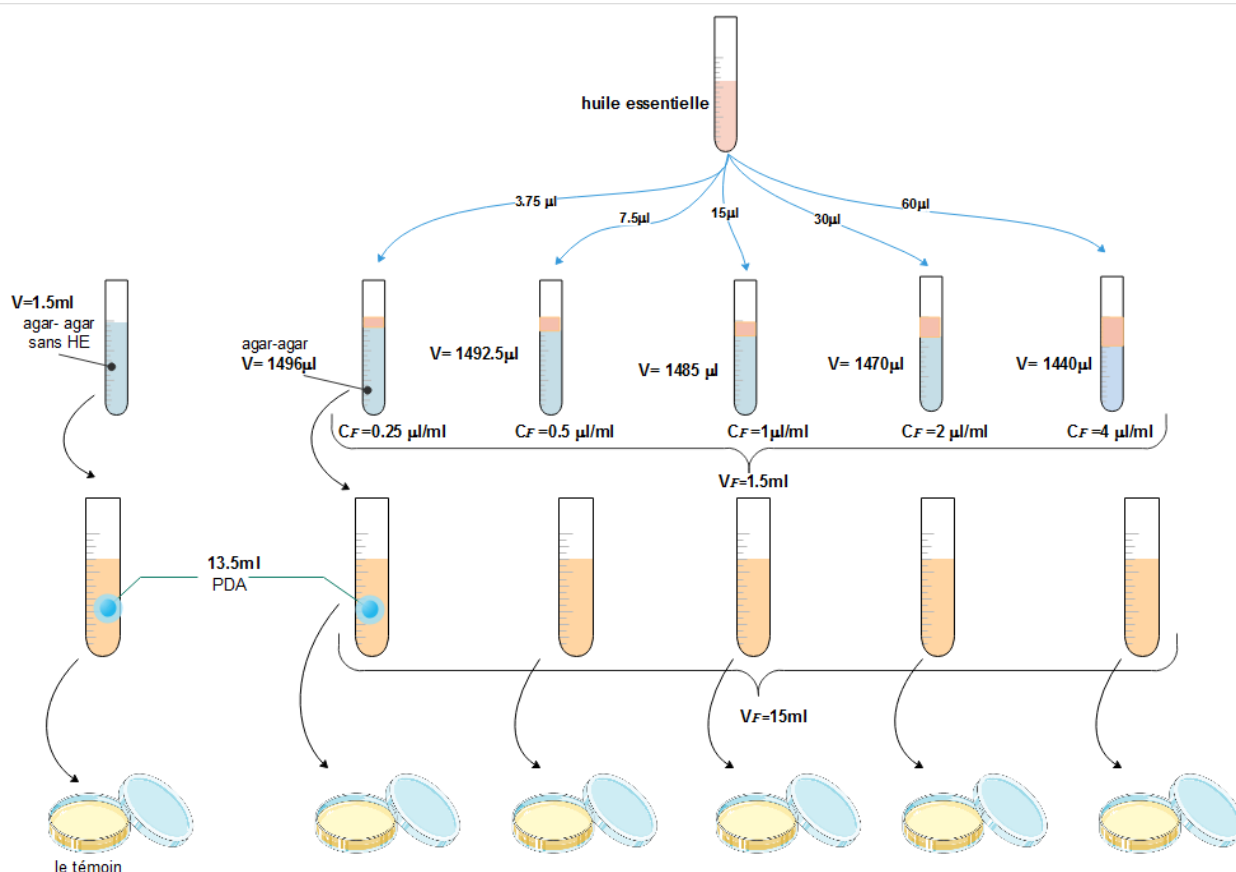


Figure 12: illustration de protocole de la dilution

B. Evaluation de la croissance mycélienne

Le diamètre de croissance mycélienne est mesuré toutes les 24 heures à la même heure à l'aide d'un pied à coulisse (Mohammedi *et al.*, 2010). Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qui sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions. (Nobilis *et al.*, 2015).

➤ Détermination du Pourcentage d'inhibition de la croissance de mycélium

Le pourcentage d'inhibition de la croissance de mycélium (I%), a été calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = T = \frac{(Dk - DO)}{Dk} \times 100$$

Où :

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

Do : le diamètre de la culture de même champignon dans un milieu en présence de l'huile.

T/ I (%) : le taux ou le Pourcentage d'inhibition de la croissance de mycélium. (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

Ces mesures ont été utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (concentration la plus faible de l'huile essentielle qui va inhiber la croissance visible d'un microorganisme, après la durée d'incubation). (Lboumhamd *et al.*, 2018).

➤ Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicide (CMF)

L'étude de la nature de l'inhibition de l'huile essentielle a été réalisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). La distinction entre la concentration minimale fongistatique ou inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide ou létale (CMF/ CML) est déterminée par le transfert des disques mycéliens à partir des boîtes de pétri, où l'inhibition par l'huile est complète dans un nouveau milieu PDA dépourvu de cette huile. Il est fongistatique si la croissance du champignon reprend à nouveau et fongicide ou létale s'il n'y a pas de croissance. (Lboumhamdi *et al.*, 2018).

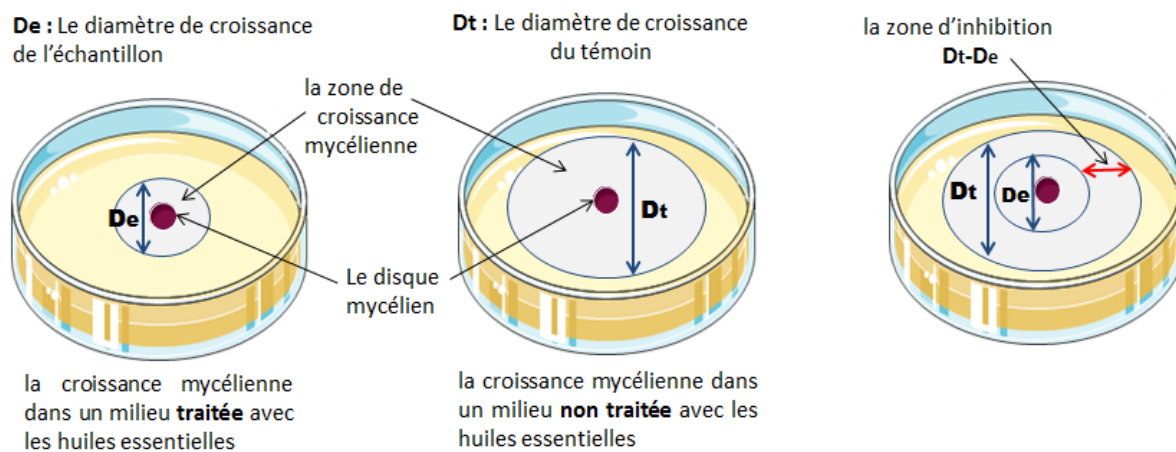


Figure 13: Illustration de la méthode de contact direct

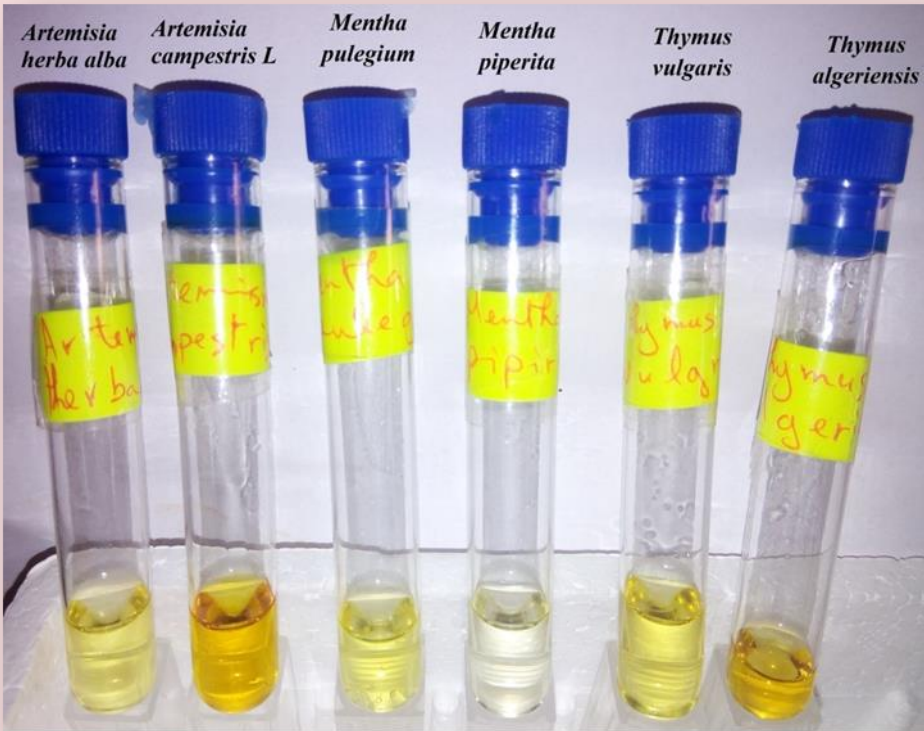
Résultats et discussions

Partie III : Résultats et discussion

III.1. La durée d'extraction et les teneurs en d'huiles essentielles

Le **tableau 03** illustre la durée d'extraction en huiles essentielles des plantes étudiées.

Tableau 03: la durée d'extraction des plantes étudiées en huiles essentielles

Espèce	<i>A. campestris</i>	<i>A. herba alba</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgaris</i>
Durée d'extraction (h)	3	3	3	2h30	2h30	3
Couleur de l'HE						

Les teneurs en huile essentielle exprimées en pourcentage ont été calculées à partir du poids de l'huile essentielle par rapport à la biomasse de la plante.

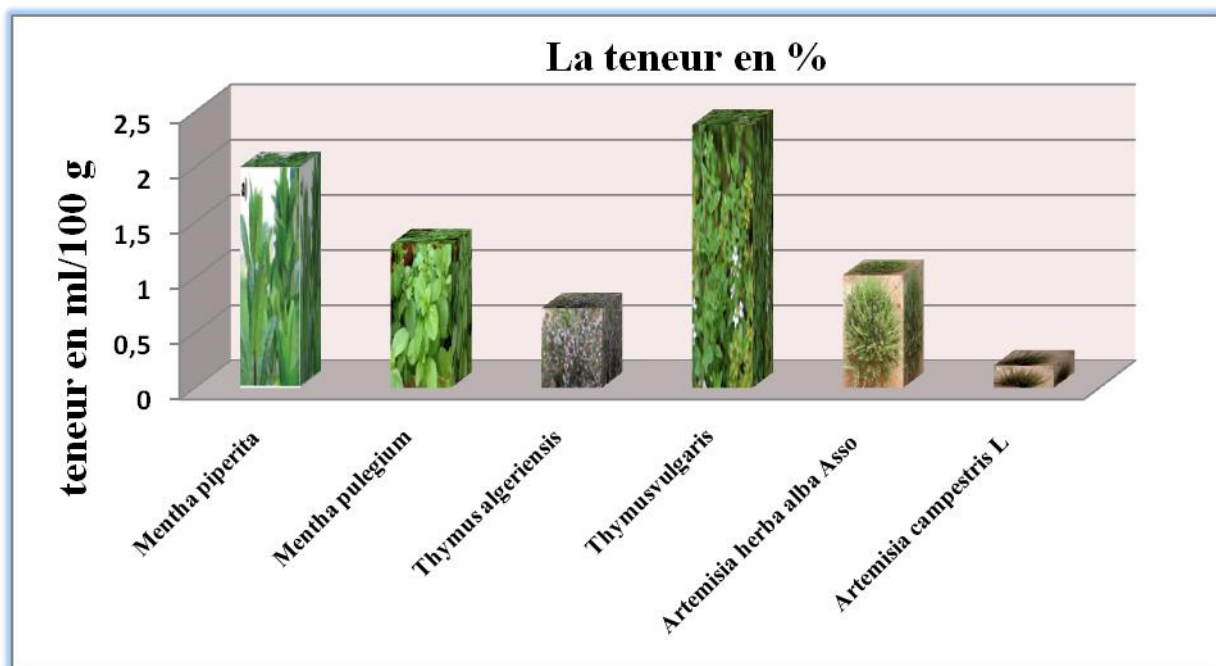


Figure 14: Les teneurs moyennes en huiles essentielles étudiées

La partie aérienne d'*Artemisia herba alba* a fourni une huile essentielle avec un rendement moyen d'environ (1,02%). Ce taux est nettement identique à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de M'sila en Algérie (1,02%) par Dob et Benabdelkader, (2006). Ce rendement enregistré est très faible comparé à celui obtenu par Moumni *et al.*, (2012) (2,35%) pour la même espèce domestiquée à Errachidia d'Idelsane au Maroc.

Le rendement d'huile essentielle fourni par l'*Artemisia campestris* L. atteint un maximum de 0,2 % (v/m), cette teneur est identique au taux d'huile essentielle de la même espèce récoltés dans la région Vojvodine en Serbie obtenu par Chalchat *et al.*, (2003). Lis et Kowa, (2015) ont obtenus un rendement similaire de (0,19%). Ce rendement enregistré de (0,2%) est inférieur à celui déterminé par Bakchiche *et al.*, (2014) qui est de (0,33%) et très faible par rapport aux résultats de Houicher *et al.*, (2016) qui révèlent un taux de (0,71%), bien que les échantillons d'HE testés sont de la même espèces *A. campestris* L et elles sont collectée dans la même région de Djebel Amour Laghouat, Algérie.

Par contre, d'autre études ont révélé avec des rendements plus élevés à (0,2 %) pour la même espèce *A. campestris* L. tel que l'étude de Aloui *et al.*, (2016) qui révèle un rendement de (0,41%) d'*A. campestris* L cultivé à Gafsa, en Tunisie.

L'huile essentielle de *Mentha piperita* atteint une teneur maximum de (2%), elle est supérieure à celle obtenue par Benabdallah *et al.*, (2018) qui est de (1,0%) pour la région de

d'El-Kala (El Tarf) et proche à celle obtenue par Soilhi *et al.*, (2019) qui est de (1,70%) pour les habitats naturels tunisiennes.

La teneur en huile essentielle de *Mentha pulegium* atteint un maximum de (1,3%) qui est inférieure à celle obtenu par Zekri *et al.*, (2013) qui est égale à (5,9%) pour la région d'Azrou (Maroc) et proche à celle obtenue par Boukhebt *et al.*, (2011) qui est de 1,0% pour la région d'Amoucha, wilaya de Sétif.

Concernant l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* sa teneur abouti à un maximum de (2%) qui est supérieur par rapport à celle obtenue par Amarti *et al.*, (2010) à partir de la partie aérienne de *Thymus algeriensis* de la région Orientale (Est du Maroc) qui est de (0,3%), d'autres résultats obtenus par Zayyad *et al.*, (2014) montrent une teneur de (2,96%), pour la région de Meknès (Maroc).

Pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* son rendement atteint un maximum de (2,38%) qui est proche à celui obtenu par Cheurfa *et al.*, (2013) qui est de (2 %) pour la région Madjaja de Chlef, en Algérie. Un taux plus faible de (1,58 %) a été collecté dans la région de Blida au Sud-Ouest d'Alger par (Bouguerra, 2019) .

Ces différences observées au niveau des rendements pourraient être liées aux facteurs génétiques de chaque espèce végétale, mais aussi pourraient dépendre de la zone de collecte, la nature du sol, et le stade de développement de la plante.(Degnon *et al.*, 2016).

Nous constatons, que le rendement est variable malgré que la technique d'extraction et les parties de la plante utilisées pour l'extraction des huiles essentielles, sont les mêmes.

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 faite par Abdi et moulay, (2018) et celle d'*Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* par Bey et sonne, (2018). La composition chimique de ces HEs a été déterminée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Cette méthode analytique a permis d'identifier quarante-cinq constituants chimiques au total pour les huiles de *M. piperita*, *M. pulegium*, *T. vulgaris* et *T. algeriensis*. Les annexes III et IV illustrent les tableaux de la composition des quatre huiles essentielles étudiées respectivement (Abdi et moulay, 2018). Cette même méthode a permis à (Bey et sonne, 2018) d'identifier vingt-neuf composés correspondant à 78,36 % de la surface des pics totaux pour *A. campestris* et trente-trois constituants qui représentent environ 94,25 % pour l'huile essentielle d'*A. herba alba* (Annexe II).

Parmi les vingt-neuf composés de l'espèce *A. campestris* L, cinq composées le (Z)-3-Hexenyl benzoate (25,72%), le Bicyclogermacrene (16,8%), le α -Pinène (5,78%), le Sabinène (5,71%) et le γ -Murolène (5,09 %). Ils peuvent être considérés comme les principaux constituants, représentant plus de 78,36 % de la totalité de l'HE (Bey et sonne, 2018). (Figure 15).

Les composés majoritaires de l'espèce *A. herba alba* sont le Camphre (36,48%), le Chrysanthénone (13,99%), le Limonène (10,44%), le Cis-Thujone (7,87%) et le Camphène (5,80%). Ils représentent 74,59 % du total de la surface du pic. (Bey et sonne, 2018). (Figure 15)

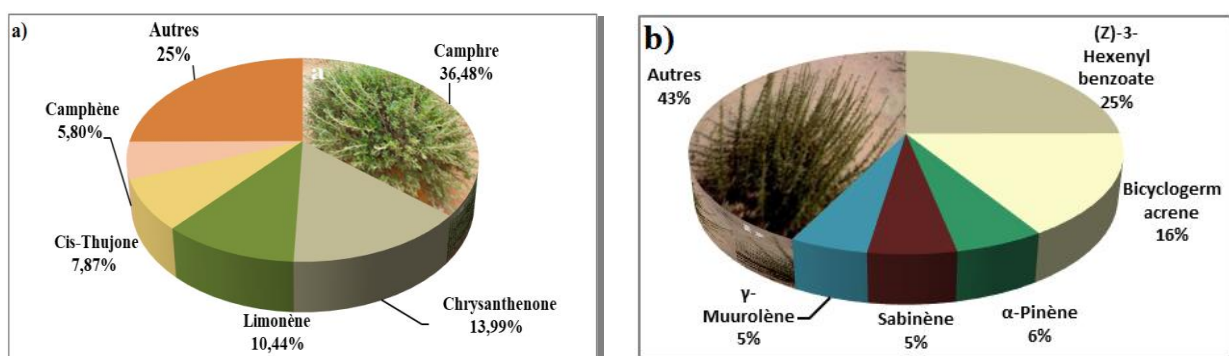


Figure 15: Répartition en pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle a) d'*Artemisia herba alba* et b) d'*Artemisia campestris* L

L'étude effectuée par Janačković *et al.*, (2015) en Libye a montré que l'huile essentielle d'*A. herba alba* seulement 3 composées Chrysanthénone majoritaire (20,8%), acétate de Cis-chrysanthényle (17,6%) et Cis-thujone (13,6 %).

Des études similaires effectués par Al jahid *et al.*, (2017) au Maroc sur l'espèce d'*A. campestris* L ont présenté un profil chimique différent des composée majeurs : β -Pinene (12,0%), Spathulenol (10,8 %), α -Pinene (7,5 %), Limonene (7,0 %) et O-Cymene (5,4 %). En Turquie l'étude réalisé par Erel *et al.*, (2012) a montré d'autres principaux constituants comme le Tremetone (15,83%), Capillin (10,38%), Spathulenol (6,47%), β -Pinene (6,31%), Methyl-eugenol (5,49%), α -Thujone (4,78%) et p-Cymene (3,75%).

L'analyse de l'huile essentielle de *Mentha piperita* a permis d'identifier vingt-trois composés représentant (93,90%) de la composition globale de l'huile essentielle. Les composés majoritaires de cette HE étant le Pipéritone (57,51%), le Limonène (28,29%), le Sabinène (2,05%) et le Trans- Isopulegone (1,06%) (Abdi et moulay, 2018). (Figure 16).

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

Camphènehydrate (2,36%) (Abdi et moulay, 2018). (**Figure 16**).

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a permis d'identifier 24 composés représentant (94,49%) de la composition globale de cette HE. Les constituants présents en pourcentages majoritaires dans cette huile essentielle 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%) (Abdi et moulay., 2018). (**Figure 16**)

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 -Terpényle Acétate (10,79%), le α -Pinène (9,26%) et le Camphre (7,61%) (Abdi et moulay., 2018). (**Figure 16**)

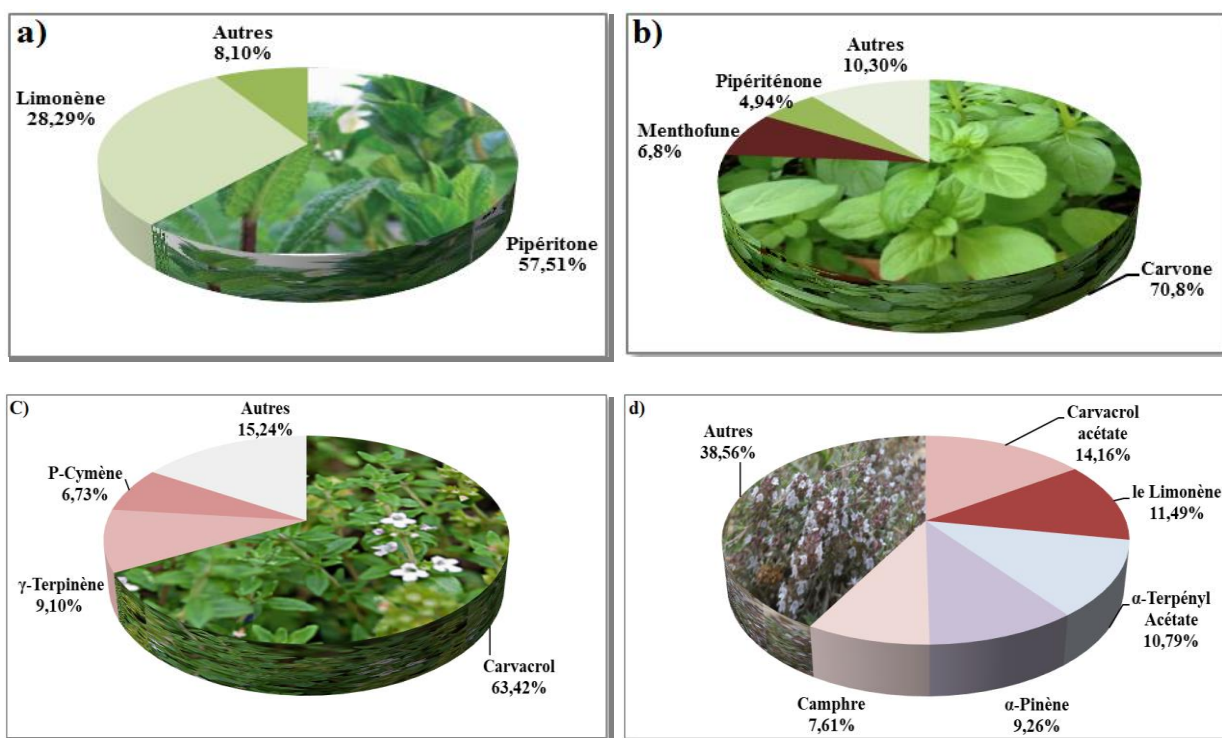


Figure 16: Répartition en pourcentage des composés majoritaires de l'huile essentielle de a) *M. piperita*, b) *M. pulegium*, c) *T. vulgaris* et d) *T. algeriensis*.

La composition de l'huile essentielle était partiellement différente des autres études, les travaux effectués par Desam *et al.*, (2017) en Saudi Arabia sur l'huile essentielle de *Mentha piperita*, permet de distinguer Menthol (36,02%), Menthone (24,56%), Menthylacetate (8,95%) et Menthofuran (6,88%) comme composés majoritaires. Cependant, un échantillon de Brazil Sartoratto *et al.*, (2004) ne contenait que 3-octanol (10,1%), Linalool (51,0%), Terpin-4-ol (8,00%), et Carvone (23,42%).

En Algérie Benabdallah *et al.*, (2018), ont révélé que l'huile essentielle de *Mentha piperita* a été caractérisée par les composants majoritaires suivants: Menthol (49,89%) et Menthone (20,84%) , (12, 06%) Monoterpene Hydrocarbons (7,25%).

Une comparaison de ces résultats avec les études effectués par (Boukhebt *et al.*, 2011) en Sétif, Algérie sur l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, a permet de distinguer le pulegone (38,815%), menthone (19,240%), Pipériténone (16,528 %), Pipéritone (6,348 %) .

Ces composés sont considérés comme composés majoritaires Tandis qu'au Azrou Maroc Zekri *et al.*, (2013) , ont trouvé seulement deux composés majoritaires le Pulegone (68,86%) et Piperitenone (24,79%) On remarque des fortes variations d'une région à l'autre.

En ce qui concerne l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* de (Taforalt) l'est du Maroc, étudiée par Imelouane *et al.*, (2009), elle a été marquée par la présence du Camphre (39,39%), Camphène (17,57%), α -Pinène (9,55%), 1,8-Cinéole (5,57%), Bornéol (5,03%), β -Pinène (4,32%). Une autre étude effectuée par Kaloustian *et al.*, (2008) dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (France) sur l'huile essentielle de *Thymus Vulgaris* a permet d'identifier p-Clyméne (10,6%), γ -Terpinène (13,5%), Carvacrol (73,7%) comme composés majoritaires.

Divers travaux ont montré la composition de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* comme l'étude de Nikolić *et al.*, (2014) qui a montré que le Thymol (38,50%), le P-cymène (8,91%), le Terpinène (7,19%), l'acétate de Bornyle (7,03%) et Bornéol (6,07%) sont des composés majoritaires de *Thymus algeriensis*. Tandis qu'au Tunisie les travaux de Guesmi *et al.*, (2014) ont identifié comme composés majoritaires l' α -Pinène (7,41-13,94%), le 1,8-Cinéole (7,55-22,07%), Hydrate de cis-Sabinène (0,10-12,95%), le Camphre (1,55-11,86%), l'acétate de Terpényle (14,92%) et le Viridiflorol (0-11,49%). En Maroc Amarti *et al.*, (2010) ont trouvé seulement deux composés majoritaires le Camphre (27,7 %) et l' α -Pinène (20,5 %).

La variation de la composition chimique des huiles essentielles pouvait être attribuée à l'origine géographique de la plante, à la technique d'extraction, au moment de la récolte et aux facteurs climatiques (Smith *et al.*, 2005) et aux facteurs génétiques (Figueiredo *et al.*, 2008).

III.3. Les résultats de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique a été effectuée par la méthode de contact direct qui est utilisée en vue de déterminer les extraits actifs par l'évaluation du taux d'inhibition.

III.3.1. La cinétique de la croissance mycélienne

La cinétique de la croissance fongique des souches sélectionnées en présence de différentes concentrations d'HE a montré des sensibilités variables vis-à-vis les différents extraits. 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.

III.3.1.1. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Les courbes ci-dessous (**Figure 17**) illustrent les diamètres de la croissance mycélienne (mm) des souches fongiques sélectionnés (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*) en fonction des jours d'incubation et en présence des différentes concentrations d'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Une sensibilité remarquable de toutes les souches à l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a été observée, à partir de la concentration de 1 µl/ml où l'inhibition de la croissance était très importante. L'inhibition était à son maximum, à la concentration de 2 µl/ml, et une inhibition totale a été enregistrée à 4 µl/ml pour toutes les souches étudiées.

L'effet de cette l'huile essentielle était relativement faible vis-à-vis de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Les deux souches de *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* et *oxysporum* f.sp. *pisi* semblent être beaucoup plus sensible à cet extrait où une inhibition totale de la croissance a été enregistrée à 2 et 4 µl/ml (**Figure 18**).

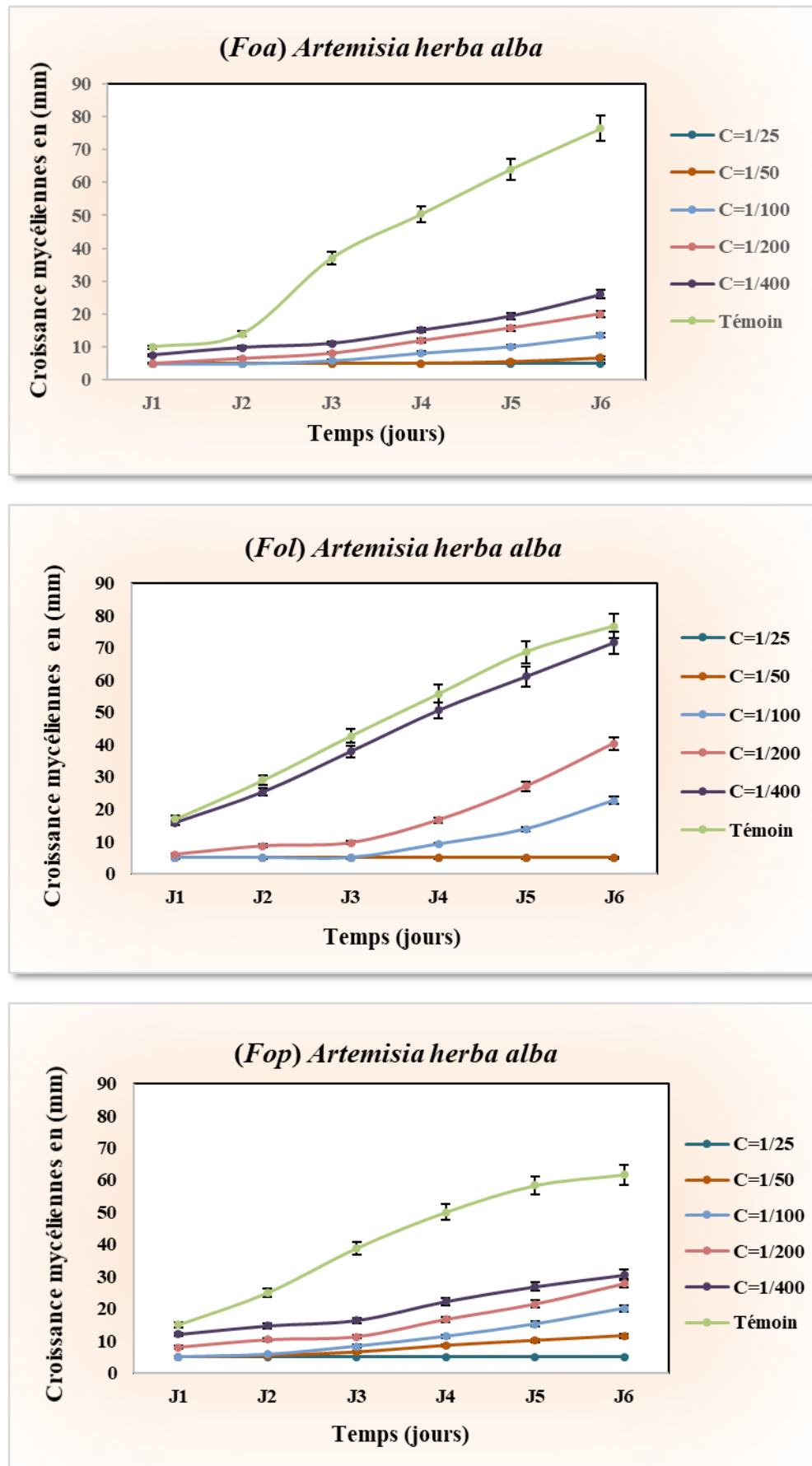


Figure 17: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait d'*Artemisia herba alba*

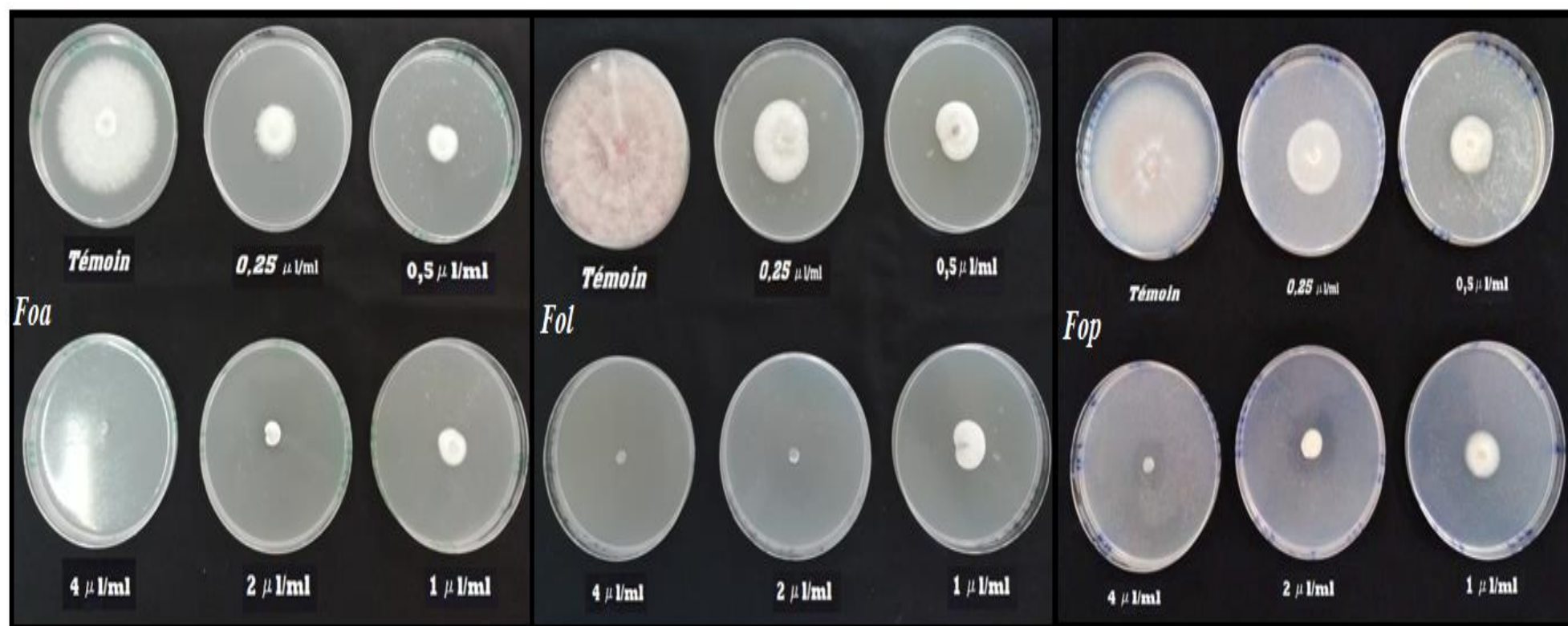


Figure 18: L'effet de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

III.3.1.2. L'huile essentielle de d'*Artemisia campestris*

La cinétique de la croissance fongique des souches sélectionnées (**Figure 19**) en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* L a montré que cet extrait est plus efficace que celui d'*Artemisia herba alba*. Les trois souches étudiées sont fortement inhibées.

Une légère augmentation de la croissance mycélienne était notée pour toutes les concentrations vis à vis des deux souches *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* et le *F. oxysporum* f.sp. *pisi*, ce qui explique la forte sensibilité de ces souches à cette huile essentielle. À l'exception de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* aucune croissance mycélienne n'a été enregistrée pour les concentrations 2 et 4 µl/ml à cet extrait d'*A. campestris* contrairement à l'extrait d'*A. herba alba*. Donc cette souche a été inhibée totalement par cette huile essentielle à la concentration de 2 et 4 µl/ml.

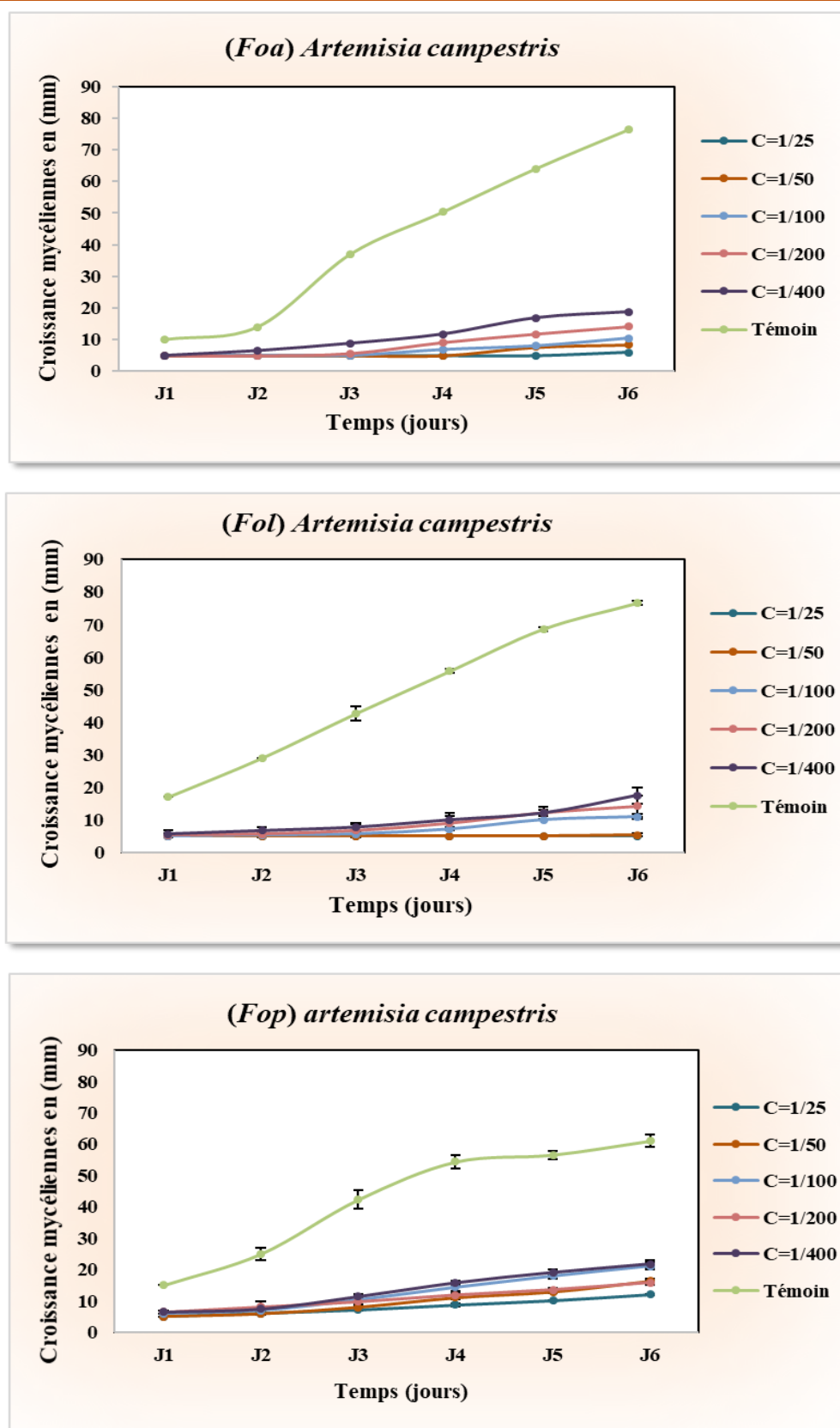


Figure 19: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait d'*A. campestris*

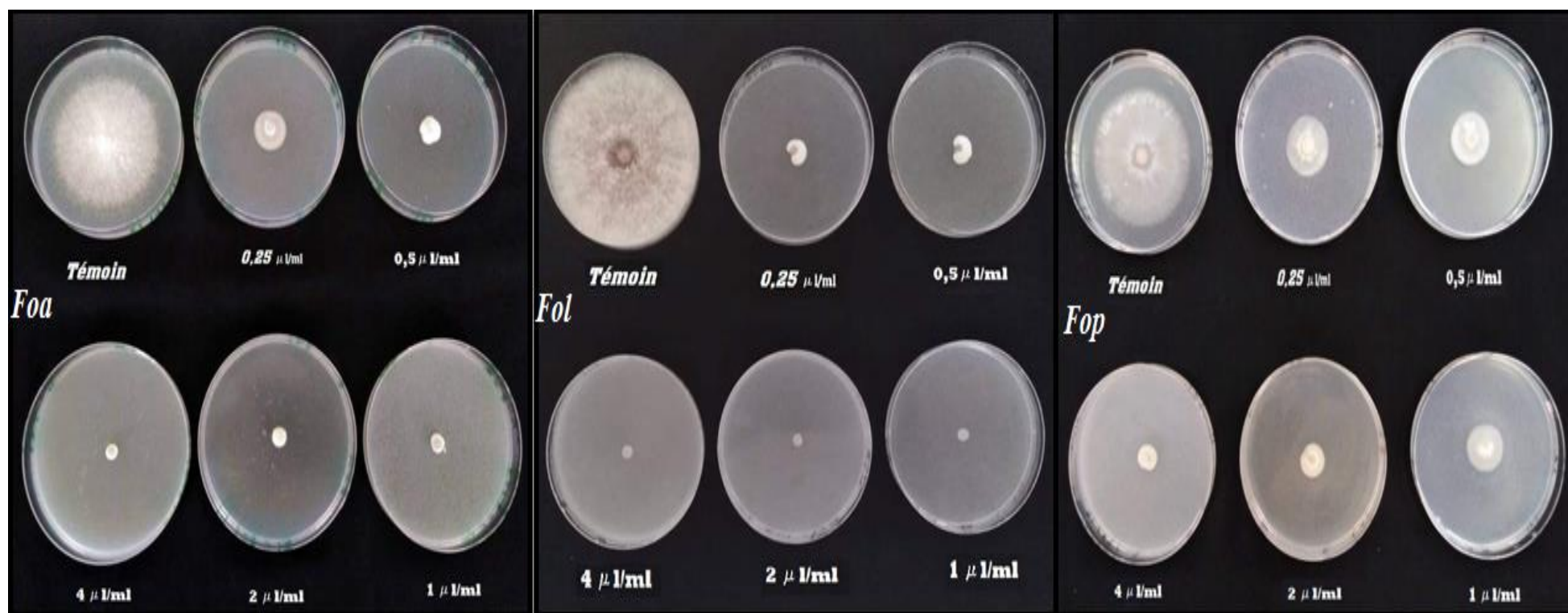


Figure 20: L'effet de l'huile essentielle de *d'A. campestris* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations

III.3.1.3. L'huile essentielle de *Mentha piperita*

La (**Figure 21**) représente la cinétique de croissance mycélienne des souches sélectionnées en fonction du temps et en présence de différentes concentrations des huiles essentielles de *Mentha piperita*. Une diminution de la croissance mycélienne avec l'augmentation de la concentration en huile essentielle a été notée pour les trois souches qui sont fortement inhibées.

Par rapport au témoin nous remarquons que l'huile essentielle de *Mentha piperita* diminue la croissance mycélienne de la souche *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* dès le premier jour jusqu'au sixième jour aux concentrations 0,25 µl/ml et 0,5 µl/ml. La croissance mycélienne débute au quatrième jour pour la concentration 1µl/ml et au cinquième jour pour la concentration 2 µl/ml, Alors qu'à la concentration de 2 et 4 µl/ml nous n'avons enregistré aucune croissance mycélienne.

Concernant l'effet de cette l'huile essentielle sur les deux souches le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et le *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* nous remarquons qu'elle retarde la croissance mycélienne de ces souches dès le premier jour jusqu'au sixième jour aux concentrations(0,25 µl/ml et 0,5µl/ml), pour la concentration de 1µl/ml, nous observons un ralentissement de la croissance mycélienne à partir de quatrième jour pour la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et à partir de cinquième jour pour la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *Pisi*. Alors qu'à 4 µl/ml nous n'avons enregistré aucune croissance mycélienne ce qui montre l'inhibition totales de cette souche.

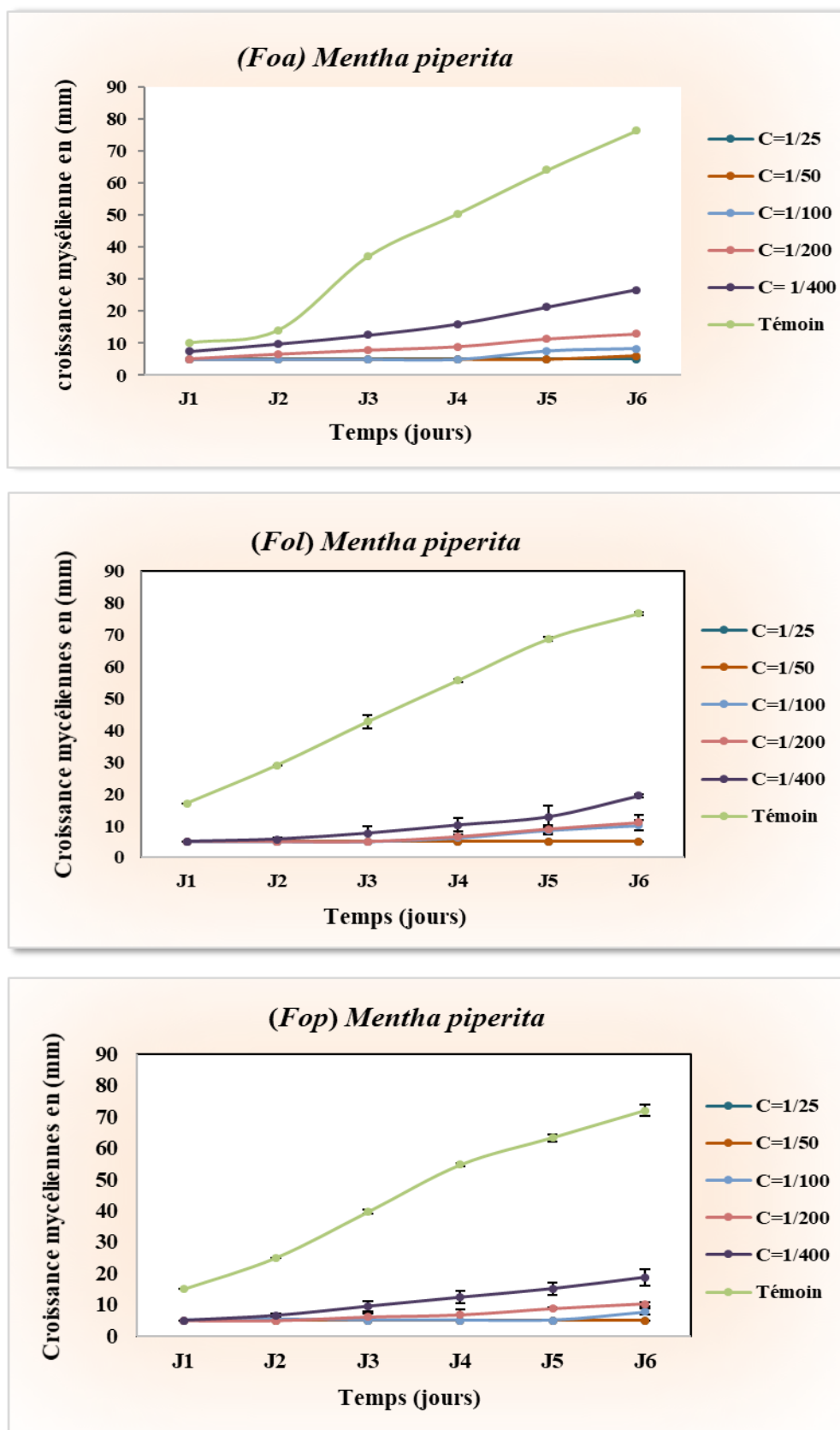


Figure 21: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *M. piperita*



Figure 22: L'effet de l'huile essentielle de *Mentha piperita* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations , après 6 jours d'incubation

III.3.1.4. L'huile essentielle de *Mentha pulegium*

La (**Figure 23**) représente les résultats de diamètres de croissance des champignons étudiés sous l'effet de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* en présence des différentes concentrations.

Pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium* on remarque une augmentation de la croissance mycélienne de deux souches le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* avec le temps d'incubation à l'exception de la concentration de 4 µl/ml ou aucune croissance mycélienne pour les trois souches n'a été enregistrée, à la concentration de 2 µl/ml la croissance mycélienne pour la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* a commencé après 5 jours d'incubation et au quatrième jour d'incubation pour la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

L'effet de l'HE à 0,25 µl/ml sur la souche de *Fusarium oxysporum* f .sp. *lycopersici* est faible où la croissance mycélienne est forte par rapport aux autres concentrations, et le diamètre varie entre 61,33 et 71,50 mm, les concentrations 0,5 µl/ml et 1µl/ml retardent la croissance mycélienne, Alors qu'à 2 µl/ml et 4 µl/ml nous n'avons enregistré aucune croissance mycélienne.

De ces résultats nous pouvons dire que la cinétique mycélienne varie d'une souche à l'autre. Le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* est peu sensible à l'huile essentielle de *Mentha pulegium* part rapport aux deux autre champignons.

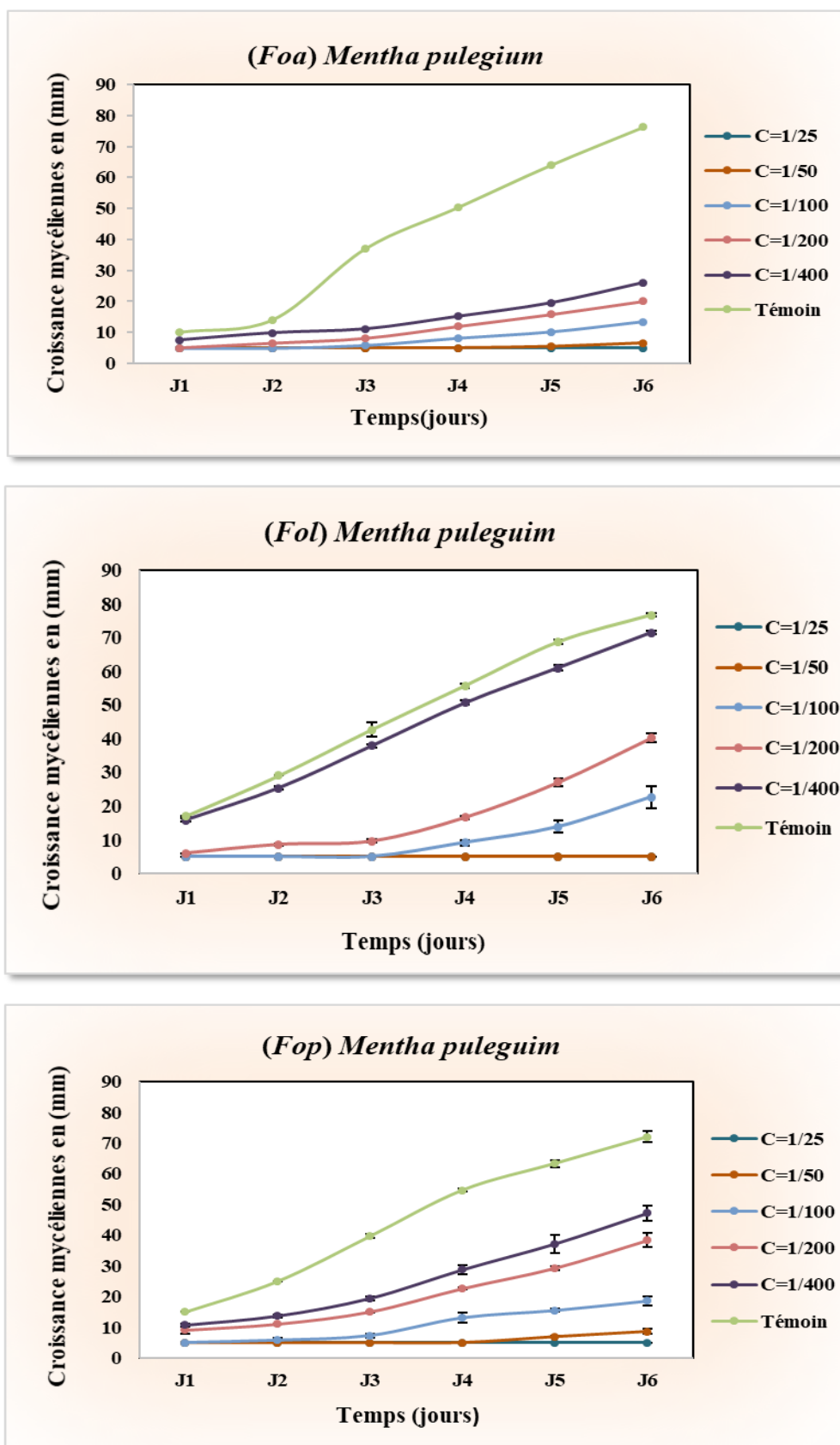


Figure 23: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *M. pulegium*

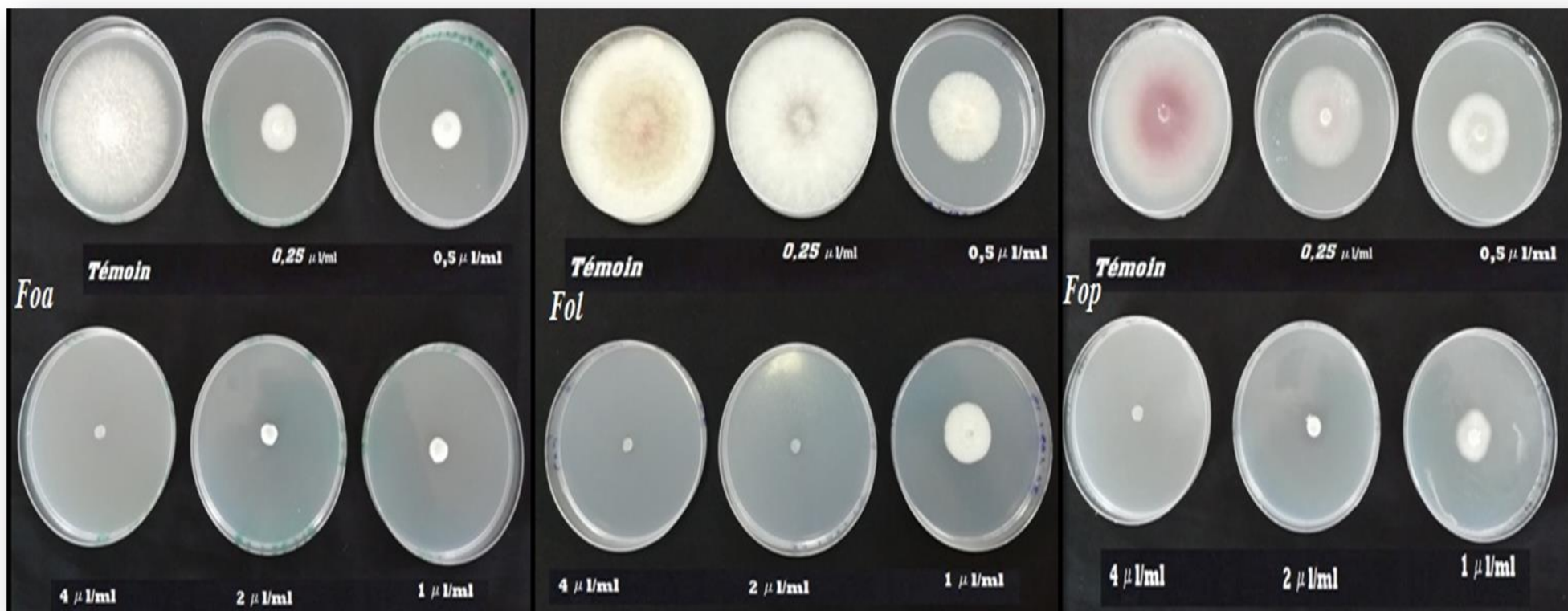


Figure 24: L'effet de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

II.3.1.5. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est présenté dans la **(Figure 25)**.

Cette huile essentielle possède une forte activité antifongique vis-à-vis des trois souches fongiques *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

Les résultats obtenus montrent des diamètres de croissance mycélienne nuls à toutes les concentrations de 0,25 à 4 µl/ml. Donc les trois souches étudiées sont très sensibles à cette Huile essentielle.

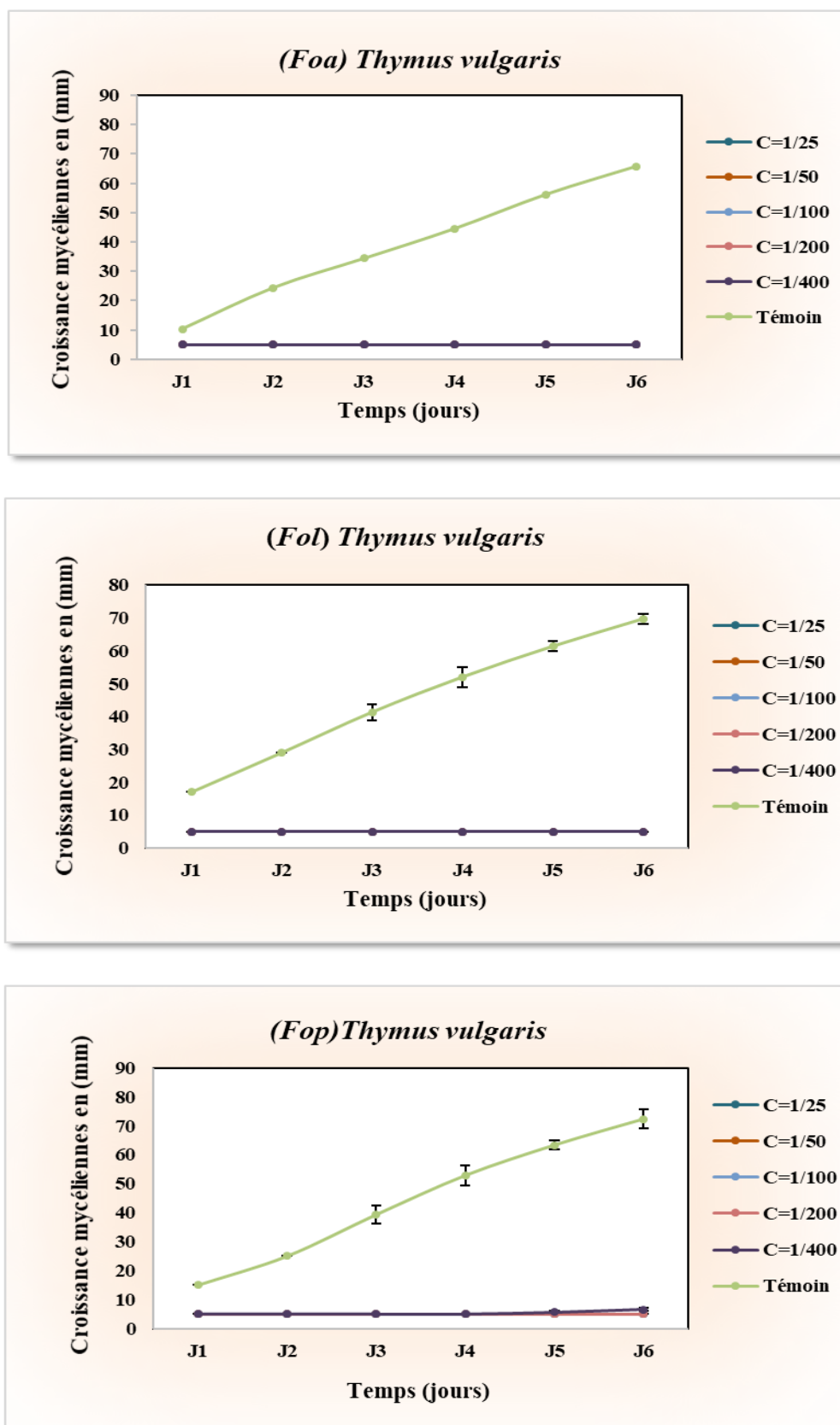


Figure 25 : La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *T. vulgaris*

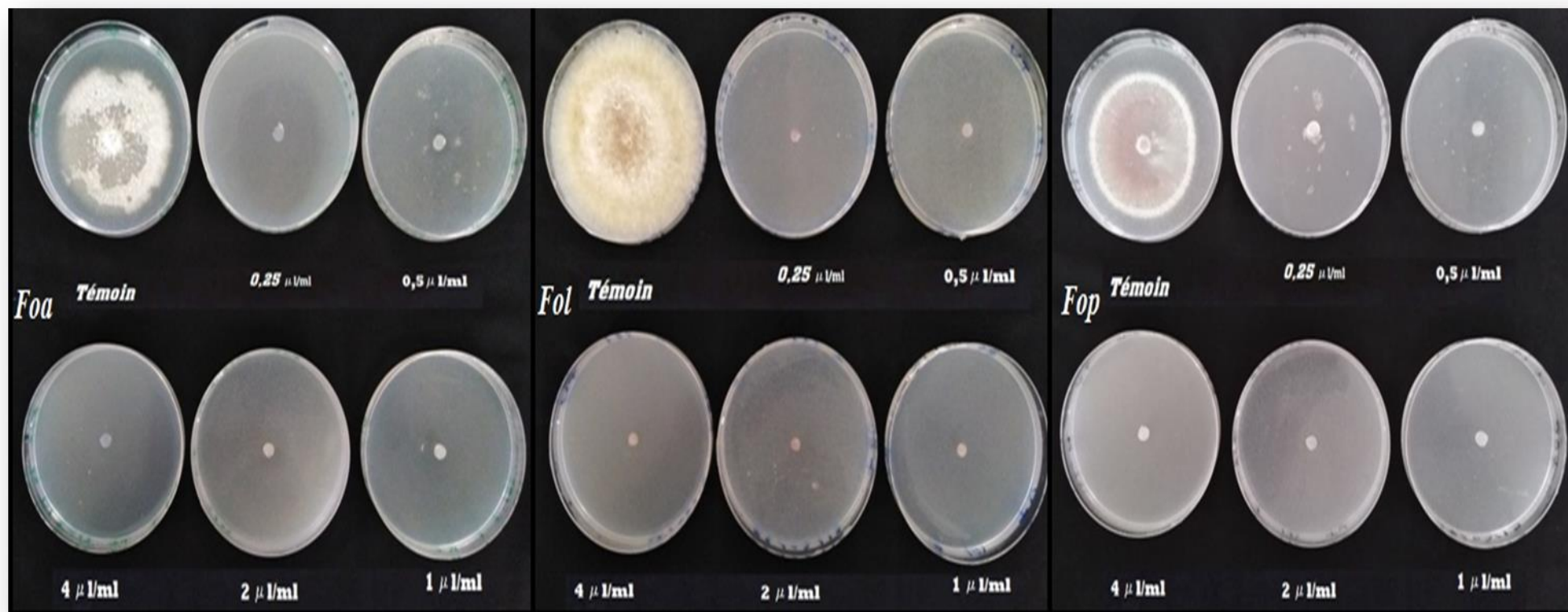


Figure 26: L'effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudié, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

III.3.1.6. L'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

Les Courbes ci-dessous (**Figure 27**) illustrent la variabilité des diamètres de la croissance mycélienne en (mm) des souches Fongiques étudiées en fonction des jours d'incubation et en présence des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*.

Cette huile essentielle s'est avérée moins active que l'huile essentielle *Thymus vulgaris*. Nous avons remarqué que toutes les souches étaient moins sensibles à la concentration 0,25 µl/ml, une diminution des diamètres est observée dès le premier jour jusqu'au sixième jour à cette concentration. Alors qu'aux autres concentrations 0,5 µl/ml, 1 µl/ml et 2 µl/ml nous avons observé un retard de la croissance mycélienne qui a démarré au début de quatrième jusqu'au sixième jour et pour la concentration 4 µl/ml aucune croissance mycélienne n'a été signalée ce qui montre la sensibilité élevée des trois souches à ces concentrations.

Ces résultats nous ont permis de noter que la souche *Fusarium oxysporum* f. sp .*lycopersici* est la plus sensible vis-à-vis de cet extrait, d'où les diamètres de croissance mycélienne nuls aux concentrations 0,5 µl/ml, 1 µl/ml, 2 µl/ml et 4 µl/ml, aucune croissance mycélienne n'a été signalée.

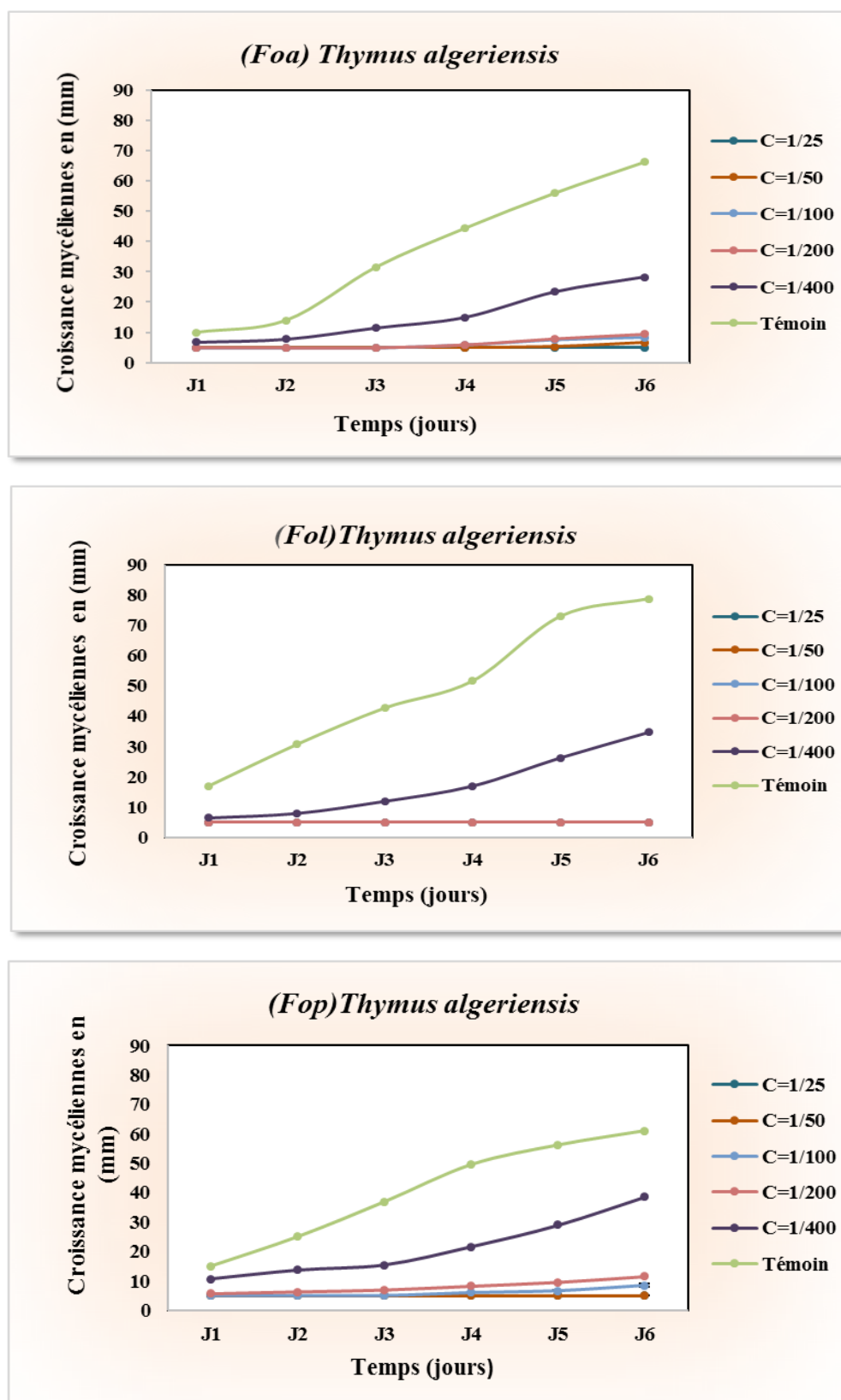


Figure 27: La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques, en présence de différentes concentrations de l'extrait de *T. algeriensis*

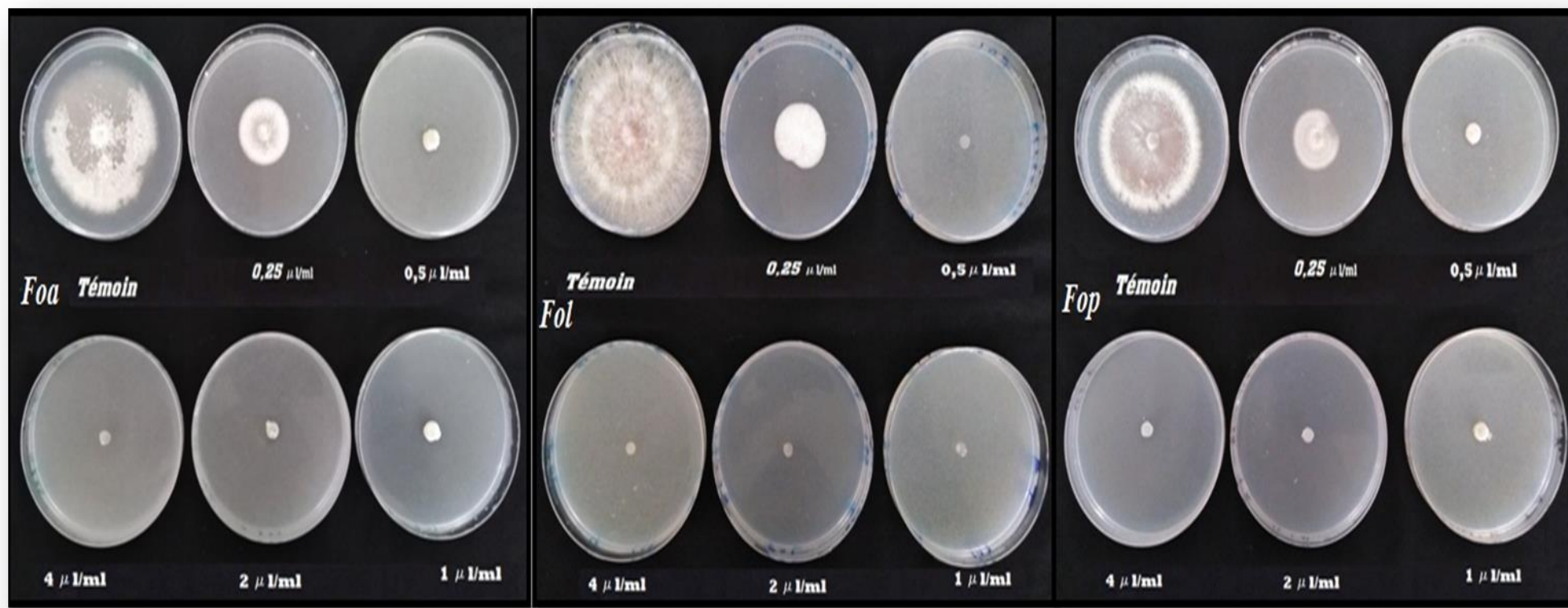


Figure 28: L'effet de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques étudiées, en présence de différentes concentrations, après 6 jours d'incubation

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

Les résultats montrent que les taux d'inhibition augmentent différemment avec l'augmentation de la concentration d'HE. Les histogrammes de la **(Figure 29)** représentent le pourcentage d'inhibition mycélien des champignons étudiés en présence des huiles essentielles d'*Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* pour chaque concentration d'huile essentielle testée au sixième jour d'incubation.

Un pouvoir antifongique important d'huile essentielle d'*A. campestris* L a été observé contre le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* avec un taux d'inhibition de (75%) pour la plus faible concentration de 0,25 µl/ml jusqu'à (92%) à la plus forte une concentration de 4 µl/ml. Également, l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a montré un taux d'inhibition important de (65%) pour la concentration de 0,25 µl/ml et de (93%) d'inhibition pour celle de 4 µl/ml. Avec une CMI supérieure à 4 µl/ml égale aux valeurs trouvées pour l'HE d'*A. campestris* L et une CMF supérieure à la CMI.

Un pourcentage d'inhibition élevé (77% et 93%) a été observé pour l'HE d'*A. campestris* L vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* pour les deux concentration 0,25 µl/ml et 4 µl/ml, respectivement. Par contre l'huile essentielle d'*A. herba alba* a révélé des taux d'inhibitions qui varient entre (6% et 93 %) pour les concentrations de 0,25 µl/ml et 4 µl/ml, respectivement.

Pour l'huile essentielle de d'*A. campestris* L une concentration de 1 µl/ml a été suffisante pour inhiber la croissance du mycélium, alors que la CMF était de 2 µl/ml. Alors que, l'huile essentielle de d'*A. herba alba* montrant des valeurs de CMI supérieure à 2 µl/ml et CMF de 4 µl/ml.

Un taux d'inhibition variant entre (50% et 64%) a été enregistré pour la souche de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* à la concentration 0,25 µl/ml pour les deux l'huiles essentielles d'*A. herba alba* et d'*A. campestris*, respectivement. Et un taux d'inhibition variant de 80% jusqu'à 91% pour celle de 4µl/m pour les l'huiles essentielles d'*A. campestris* et d'*A. herba*, respectivement. Avec une valeur de CMI supérieure à 4 µl/ml et une CMF supérieure à la CMI.

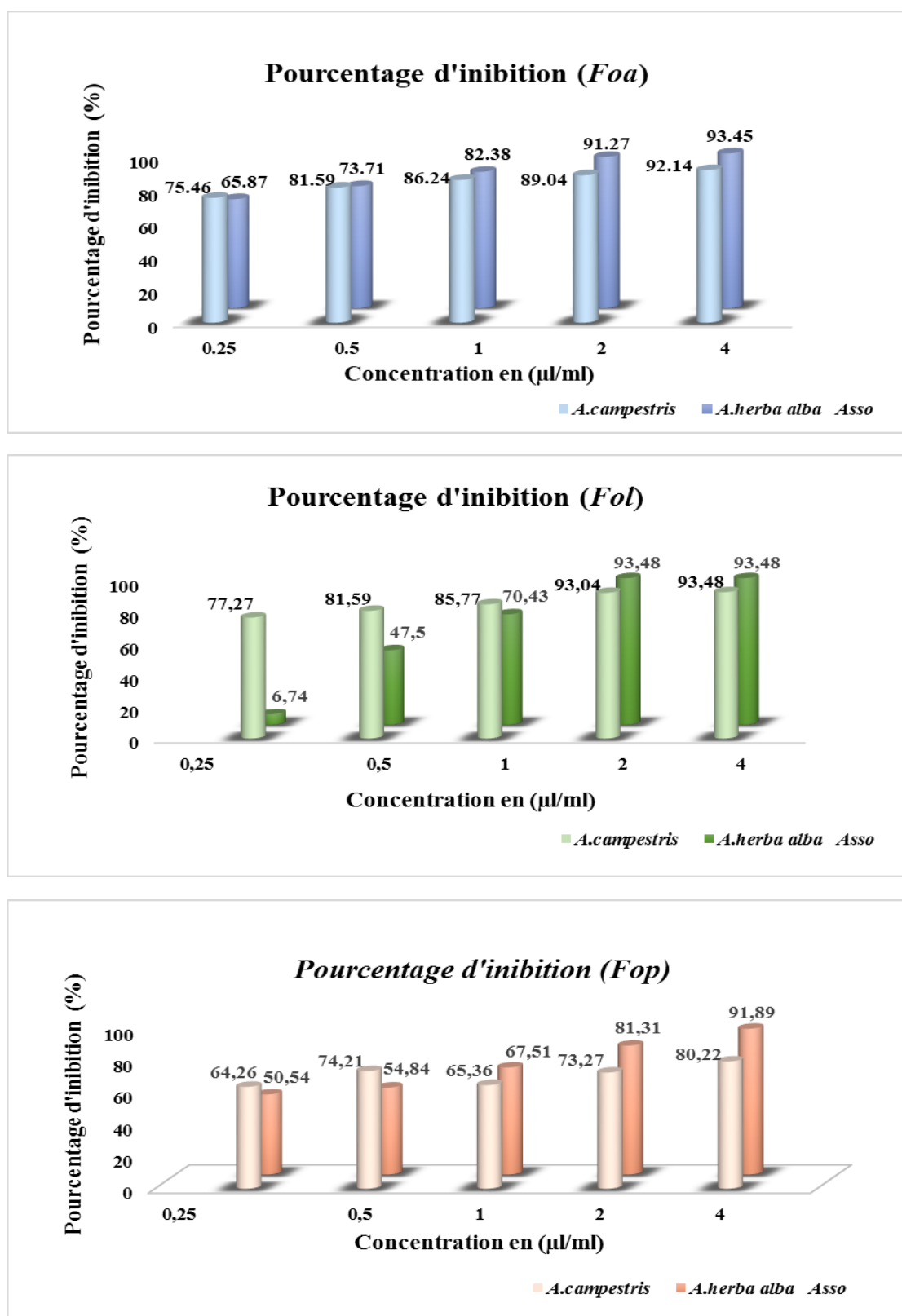


Figure 29: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : *Artemisia campestris* et *Artemisia herba alba* (testés séparément *in vitro*)

La (**Figure 30**) représente les pourcentages d'inhibition mycélien des champignons étudiés qui ont été enregistré en présence des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, pour chaque concentration d'huile essentielle testée au sixième jour d'incubation.

Le pourcentage d'inhibition mycélien de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* en présence des huiles essentielles de *Mentha piperita* et *Mentha pulegium* était presque le même avec des pourcentages d'inhibition égale à 65 % pour la plus faible concentration en HE 0,25 µl/ml et un pourcentage d'inhibition de 93% à la plus forte concentration 4 µl/ml. Ces huiles ont montrés une concentration minimale inhibitrice supérieure à 4 µl/ml.

Pour, Le pourcentage d'inhibition mycélien de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en présence des huiles essentielles de *Mentha piperita* et *Mentha pulegium* était différent, L'huile essentielle de *Mentha piperita* a révélé des pourcentages d'inhibition intéressants avec un pourcentage de (74,7 %) pour la plus faible concentration en HE 0,25 µl/ml. Par contre, cette concentration de 0,25 µl/ml en huile essentielle de *Mentha pulegium* a révélé un pourcentage d'inhibition très faible de (6,74%). Les deux huiles essentielles ont montré un pourcentage d'inhibition de (93%) à la plus forte concentration 4 µl/ml. Une concentration de 2 µl/ml était suffisante pour inhiber le développement mycélium, alors que la CMF était de 2 µl/ml pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et l'huile essentielle de *Mentha piperita* a montré une concentration minimale inhibitrice supérieure à 2 µl/ml.

Concernant, Le pourcentage d'inhibition mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* en présence des huiles essentielles de *Mentha piperita* et *Mentha pulegium* était variable, L'huile essentielle de *Mentha piperita* a montré des pourcentages d'inhibition intéressants avec un pourcentage de (74,07 %) pour la plus faible concentration en HE 0,25 µl/ml. Cette même concentration en huile essentielle de *Mentha pulegium* a montré un pourcentage d'inhibition moyenne de (34,54%). Une concentration de 2 µl/ml a été suffisante pour inhiber la croissance du mycélium pour L'huile essentielle de *Mentha piperita*. Les deux huiles ont montré un pourcentage d'inhibition de (93%) à la plus forte concentration 4 µl/ml. L'HE de *Mentha piperita* a montré une concentration minimale inhibitrice supérieure à 2 µl/ml et fongicide égale à 4 µl/ml, alors que la CMF était de 4 µl/ml pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

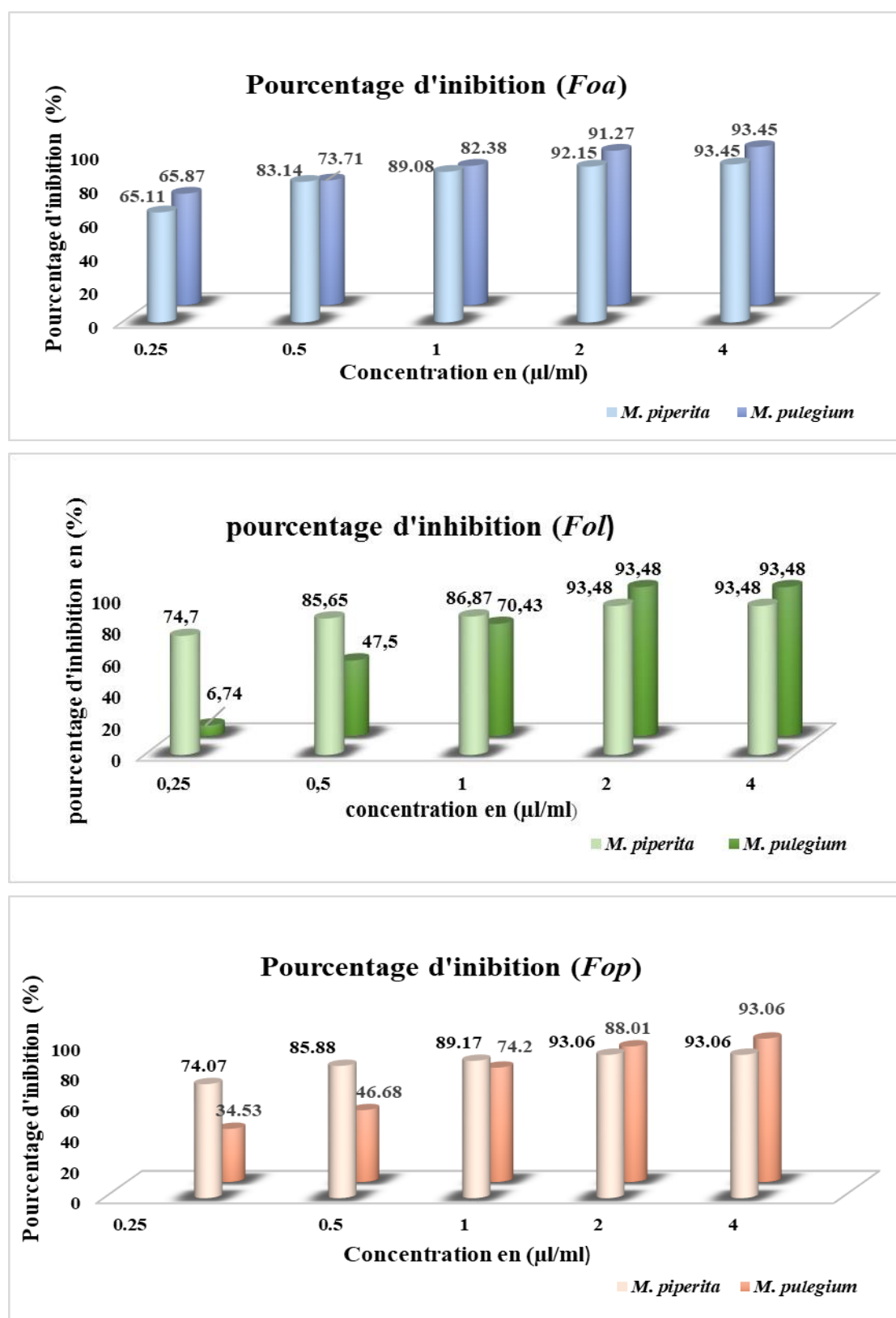


Figure 30: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : *Mentha piperita* et *Mentha pulegium* (testés séparément *in vitro*)

La (**Figure 31**) représente le pourcentage d'inhibition mycélienne des champignons sélectionnés en présence des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis*, pour chaque concentration d'huile essentielle testée au sixième jour d'incubation.

Le pourcentage d'inhibition mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* en présence d'huile essentielle *Thymus vulgaris* a montré un pourcentage d'inhibition très fort de (92,39 %) pour toutes les concentrations de 0,25 µl/ml à 4 µl/ml. Alors qu'en présence de l'huile *Thymus algeriensis* a montré un pourcentage d'inhibition moins efficace de (57.49 %) pour la plus faible concentration 0,25 µl/ml et un pourcentage similaire de (92.46%) pour la plus forte concentration 4 µl/ml avec une concentration minimale inhibitrice supérieure à 4 µl/ml.

Concernent le pourcentage d'inhibition mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en présence d'huile essentielle *Thymus vulgaris* a révélé un pourcentage d'inhibition important de (92.82 %) pour toutes les concentrations de 0,25 µl/ml à 4 µl/ml. Et en présence d'huile essentielle *Thymus algeriensis* a révélé un pourcentage un peu faible par rapport à l'huile essentielle *Thymus vulgaris* de (55.95%) pour la plus faible concentration en HE 0,25 µl/ml. Par contre, en présence de la plus forte concentration de 4 µl/ml, un pourcentage d'inhibition très élevé de (93.65%) a été enregistré avec une CMI comprise entre (0,5 µl/ml et 1 µl/ml) et une valeur de CMF entre (2 µl/ml et 4 µl/ml).

Également, Le pourcentage d'inhibition mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* en présence d'huile essentielle *Thymus vulgaris* a révélé un pourcentage d'inhibition élevé de (90.88%) pour la plus faible concentration en HE 0,25 µl/ml. Ainsi qu'en présence de la plus forte concentration 4 µl/ml, l'inhibition était très importante (93.09%) avec une CMI égale à 0,5 µl/ml et une valeur de CMF comprise entre (1 µl/ml et 4 µl/ml). Les taux d'inhibition mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi* sont plus faible en présence de l'huile essentielle de *Thymus* par rapport à l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. Les pourcentages (36.67% et 91.8%) ont été enregistrés pour la plus faible concentration 0,25 µl/ml et la plus forte concentration de 4 µl/ml, respectivement. Avec une concentration minimale inhibitrice supérieure à 2 µl/ml.

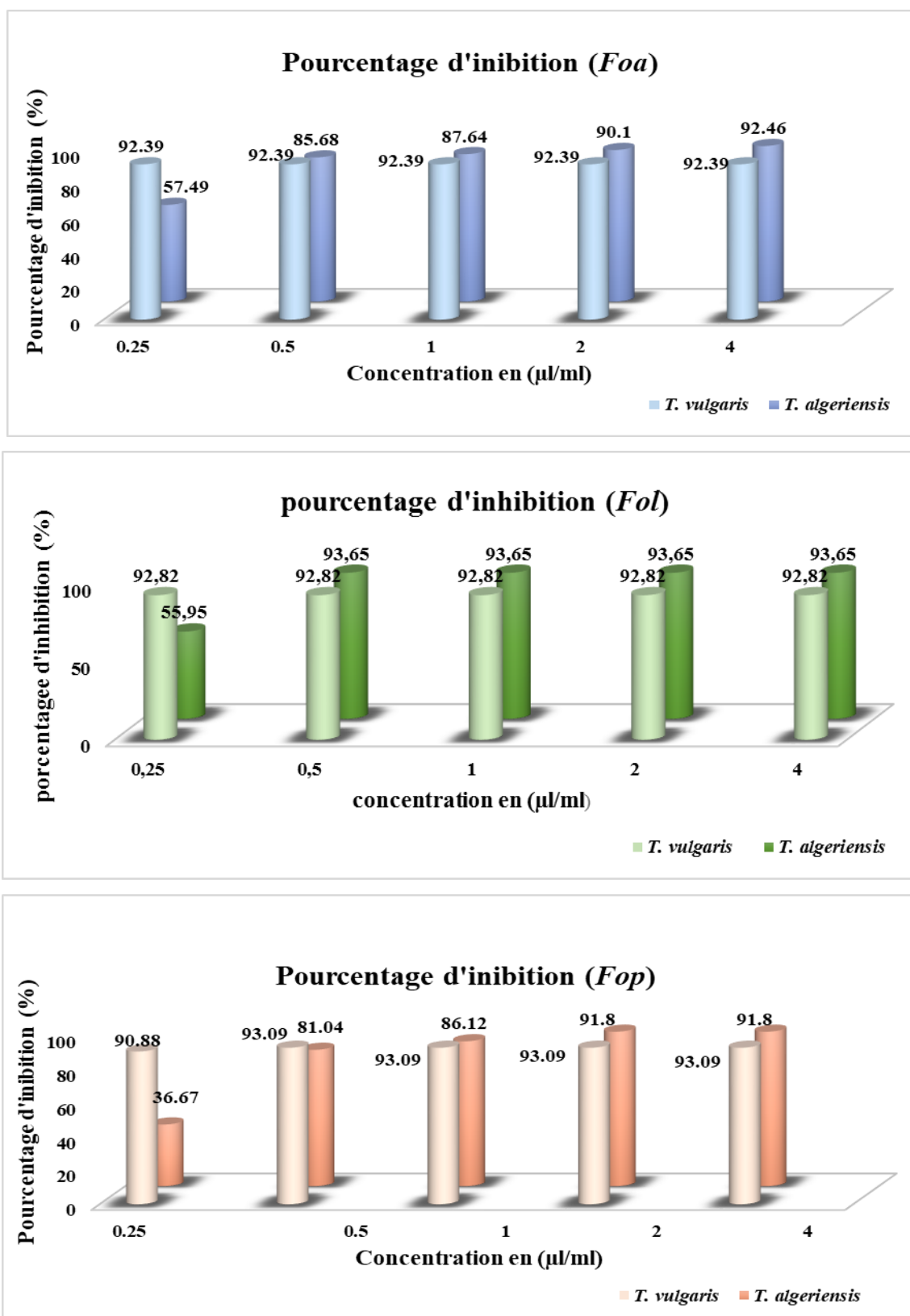


Figure 31: Les taux d'inhibition de la croissance fongique des trois souches sélectionnées, en présence de différentes concentrations des deux extraits : *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* (testé séparément *in vitro*)

Après avoir réalisé les tests préliminaires d'activité antifongique par la méthode de contact direct, nous avons retenu les cas où il y avait une réponse positive. Pour l'étape suivante où nous avons procédé à la détermination de la CMI et CMF par le transfert des disques mycéliens à partir des boîtes de pétri où l'inhibition par l'huile était totale dans un nouveau milieu PDA dépourvu de cette huile. (**Tableau 4,5,6**)

Tableau 04: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*

Huiles essentielles	<i>A. campestris</i> L	<i>A. herba alba</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgaris</i>
CMI (µl/ml)	4	4	4	4	4	/
CMF (µl/ml)	/	/	/	/	/	< 0,25

Tableau 05: Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Huiles essentielles	<i>A. campestris</i> L	<i>A. herba alba</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgaris</i>
CMI (µl/ml)	1	2	4 2	/	0,5 1	/
CMF (µl/ml)	< 2	4	/	< 2	< 2	< 0,25

Tableau 06: les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*

Huiles essentielles	<i>A. campestris</i> L	<i>A. herba alba</i>	<i>M. piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. algeriensis</i>	<i>T. vulgaris</i>
CMI (µl/ml)	/	4	2	4	2 4	0,5
CMF (µl/ml)	/	/	4	/	/	< 1

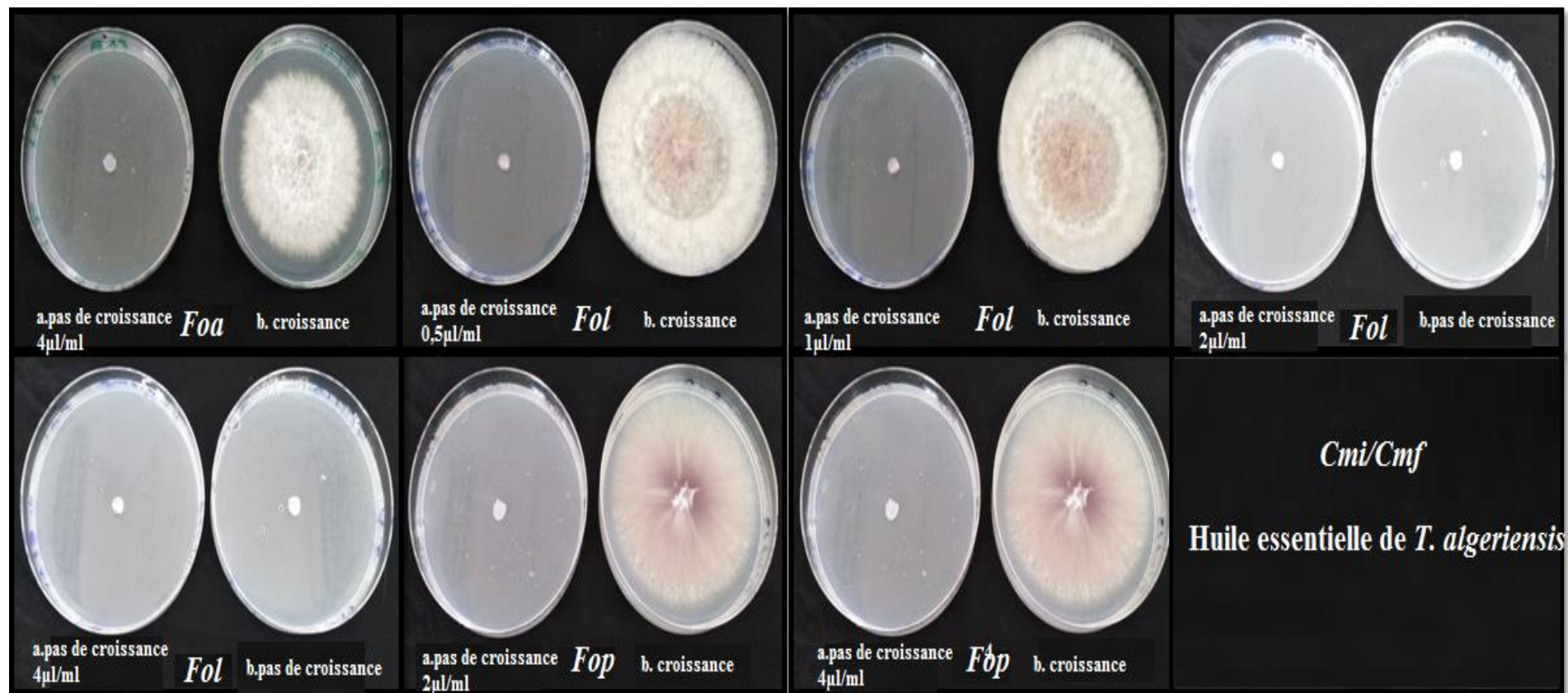


Figure 32: Exemple de photo du test CMI/CMF pour l'huile essentiel de *Thymus algeriensis*

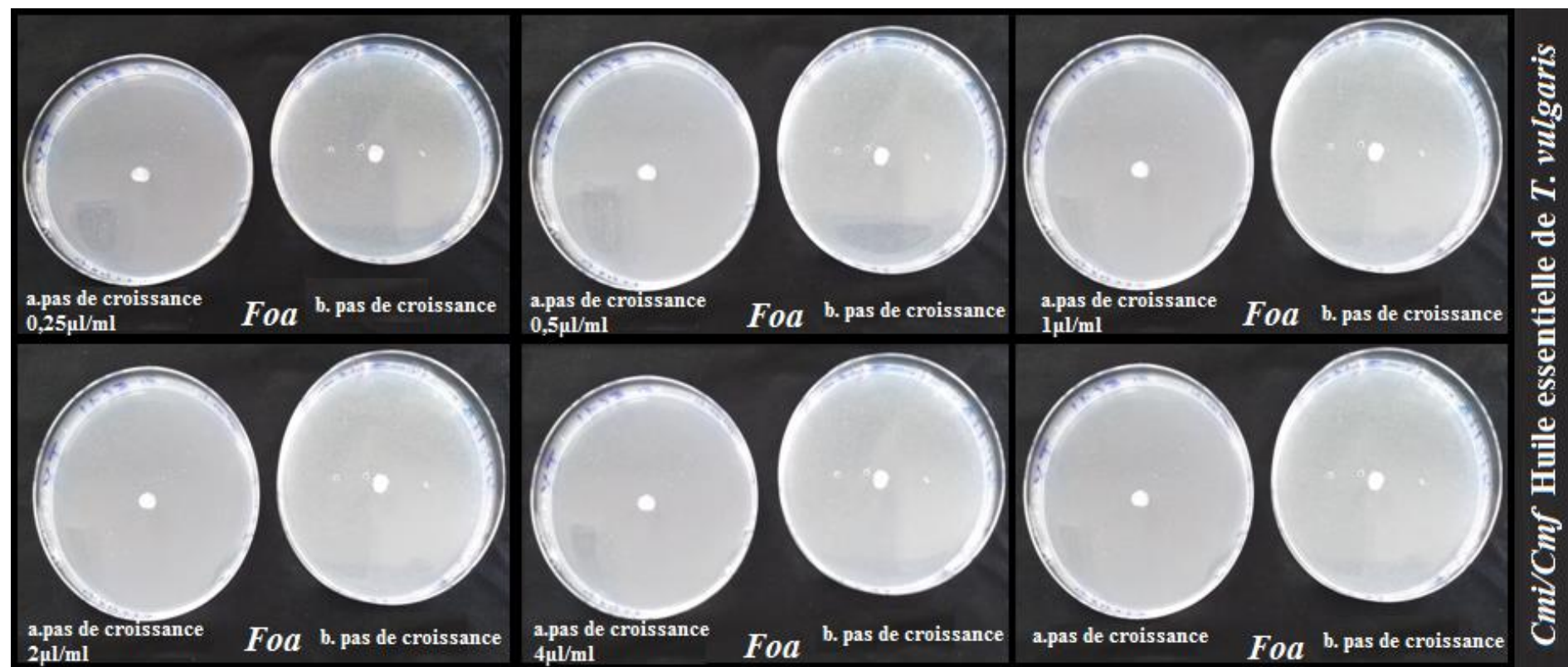


Figure 33: Exemple de photo du test CMI/CMF pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Toutes nos huiles ont montré des activités antifongiques considérables vis-à-vis les trois espèces fongiques (*Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *Pisi*) avec des différences remarquées au niveau des CMI. Ces différences peuvent être dues à la différence de la composition chimique des huiles essentielles.

Les résultats de la méthode de contact direct suggèrent que le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* est la souche la plus sensible aux huiles essentielles des deux famille testées (*lamiaceae* et *asteraceae*) Contrairement au *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* était la souche la plus résistante.

Ces résultats nous a permis de supposer que la variation de la composition chimique des huiles essentielles des six espèces végétales testées est le principal facteur qui est à l'origine de leurs propriétés antifongiques puisque ces huiles essentielles présentent des taux importants en monoterpènes oxygénés. Les huiles essentielles des six espèces végétales se sont montrées actives contre les trois formes spéciales de l'espèce *Fusarium oxysporum* a des taux d'inhibitions différents

Nos résultats concordent avec ceux de (Aouissi, 2011), où ils ont trouvé que *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* est sensible vis-à-vis de toutes les huiles essentielles testées d'*Artemisia herba-alba* et *Artemisia campestris* et que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne augmente avec la concentration en huiles essentielles jusqu'à la disparition, presque complète, du thalle mycélien.

Selon les travaux de Abdi et moulai (2018) ; Bey et sonne (2018), ces mêmes huiles ont montré des activités antifongiques importantes contre les espèces de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Les travaux effectués par Ghanmi *et al.*, (2010) ont trouvées que les HEs de l'*Artemisia herba-alba* présentent une activité inhibitrice vis-à-vis des moisissures étudiées (*Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Penicillium expansum*). L'effet antifongique des huiles de l'armoise blanche peut être expliqué par leurs richesses en composés oxygénés (Chrysonthénone, Camphre, α -Terpin- 7-al et trans- β -Terpinéol).

Par comparaison avec d'autres études, Houicher *et al.*, (2016) ont constaté que l'huile essentielle d'*A. campestris* était un puissant antifongique contre certaines espèces fongiques pathogènes avec des valeurs de concentration fongicide de 1,25 μ l/ml (v/v) ou a montré une

activité fongicide contre le *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, et *F. moniliforme*, cette activité fongicide pourrait être liée à la présence de concentrations élevées des principaux terpènes.

L'étude de Desam *et al.*, (2017) sur l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha piperita*, elle a montré une forte activité antifongique contre les levures et les champignons (*Fusarium tabacinum*, *Penicillium*, *Fusarium oxysporum*) principalement parce que le Menthol et la Menthone sont les principaux constituants chimiques de cette HE. D'autres travaux de la littérature (Delaquis *et al.*, 2002; Dorman et Deans, 2000; Reddy et Al-Rajab, 2016) indiquent que le pourcentage de composés chimiques et les principaux constituants de l'huile essentielle déterminent l'activité antibactérienne. Les chercheurs (Dorman et Deans, 2000; Lambert *et al.*, 2001; Ben-Bnina *et al.*, 2010; Proestos *et al.*, 2006; Belghazi *et al.*, 2002) expliquent ensuite que l'activité antibactérienne et antifongique sont causées par des constituants chimiques contenant des hétéro-atomes tels que l'oxygène.

Dans une étude réalisée par (Hajlaoui *et al.*, 2009) sur l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* contre le *Fusarium culmorum* et *Fusarium oxysporum*, a montré que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en présence de 100 µl de l'HE de *Mentha pulegium* est de (79% et 80,4%) pour les souches *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*, respectivement.

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* pourrait être attribuée aux principaux composés, qui sont des Monoterpènes oxygénés. Le mécanisme d'action des terpènes n'est pas entièrement compris, mais nous pensons qu'il implique une perturbation de la membrane par les composés lipophiles. En général, les composants principaux reflètent assez bien les caractéristiques biophysiques et biologiques des huiles essentielles à partir desquelles ils ont été isolés. L'amplitude de leurs effets dépend uniquement de leur concentration lorsqu'ils ont été testés seuls ou compris dans des huiles essentielles. Ainsi, les fonctions synergiques des différentes molécules contenues dans une huile essentielle par rapport à l'action d'un ou deux composants principaux de l'huile essentielle semblent discutables. Cependant, il est possible que d'autres molécules mineures modulent l'activité des composants principaux. (Cowan 1999 ; Ipek *et al.* 2005 ; Santana-Rios *et al.*, 2001; Hoet *et al.*, 2006 in Hajlaoui *et al.*, 2009)

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* menées par Figueiredo *et al.*, 2008 ont montré que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* contenant des structures phénoliques sont très actives contre un large spectre de champignons pathogènes.

L'huile essentielle de *Thymus algeriensis* a démontré une activité inhibitrice remarquable contre les souches fongiques testées, cette dernière pourrait être liée à ses composants monoterpènes oxygénés et hydrocarbures monoterpéniques qui constituent respectivement environ 44,85% et 29,49% de cette huile comme précédemment suggéré (Zouari *et al.*, 2011).

Selon (Klaric *et al.*, 2006), L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L contient principalement du c-Tène-Cymène (36,5%), du Thymol (33 %) et du 1,8-Cinéole (11,3%) et présente une activité antifongique forte vis-à-vis des champignons testés *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Stachybotrys chartarum*.

Conclusion

Conclusion

Les huiles essentielles extraites constituent des produits à très forte valeur ajoutée qui peuvent contribuer à une meilleure protection et lutte biologique contre des champignons phytopathogènes.

Le travail que nous avons entrepris dans le cadre de la valorisation de l'activité antifongique des huiles essentielles et leurs effets sur la croissance mycélienne de trois formes spéciales du *Fusarium oxysporum* « *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ».

Pour cela nous avons testés les huiles essentielles de six plantes aromatiques médicinales locales *Artemisia herba alba*, *Artemisia. campestris*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis* afin d'évaluer la sensibilité de ces trois souches.

Les huiles essentielles issues de la partie aérienne des plantes étudiées, ont été extraites par Hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger. Les rendements d'extraction de ces HE varient entre 0,20 % et 2,38 % (m/m).

Les résultats du pouvoir antifongique des HEs testés par la méthode de contact direct ont montré des sensibilités remarquables et relatives des trois souches testées par rapport aux témoins pour des faibles concentrations d'huile essentielle.

Ce travail nous a permis de constater que le *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* est la souche la plus sensibles vis-à-vis de huiles essentielles des deux famille testées (*lamiaceae* et *asteraceae*) Contrairement au *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* est la souche la plus résistante .

Sur la base de ces résultats nous avons également constaté que les six huiles essentielles inhibaient la croissance de ces trois formes spéciales « *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* » de manière dose-dépendante.

Les résultats montrent des taux d'inhibition très intéressants allant jusqu'à 93% avec une concentration de 0,25 µl/ml pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* qui possède la plus forte activité antifongique suivie par les HEs de *Thymus algeriensis* et d'*Artemisia campestris*

Alors que le *Mentha piperita*. s'est avéré moins actif. Par ailleurs les huiles essentielles *Mentha pulegium* et *Artemisia herba alba* ont présentés le plus faible effet vis-à-vis les souches testées.

Au terme de notre étude, les résultats préliminaires nous encouragent à passer à des étapes plus approfondies :

- Nos résultats ont suggéré l'application de nos huiles essentielles en tant que biofongicides afin de réduire la dépendance aux fongicides synthétiques et de garantir la sécurité et la qualité des aliments.
- Les résultats accumulés à partir de cette étude sont des résultats de tests effectués in vitro, ce qui nécessite d'autres tests afin de confirmer ou infirmer ces résultats et passer aux applications pharmaceutiques et agroalimentaires.
- Il est souhaitable d'innover des nouvelles méthodes de décontamination des fruits, légumes et graines par l'action de ces HEs.
- Une étude plus approfondie est nécessaire pour identifier et caractériser les composés présents dans les plantes étudiées responsables de cette activité antifongique ainsi que leurs modes d'actions.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Abdi. K ; Moulai H. (2018). Evaluation du pouvoir antifongique et études de la composition chimique de quatre huiles essentielles de plantes locales. Mémoire de master. Université Amar Télidji –Laghouat.

Abidjan, C. T.-d. I. 2010. 11 e symposium international d'aromathérapie et plantes médicinales-grasse 2009. *Phytothérapie*, 8, 55-62.

Adam, S. I., S. A. Salih, et al. (2011). "" In vitro" Antimicrobial Assessment of" *Lepidium sativum*" L. Seeds Extracts." *Asian Journal of Medical Sciences* 3(6): 261-266.

Aghfir, A., Akkad, S., Rhazi, M., Kane, C. & Kouhila, M. 2008. Détermination du coefficient de diffusion et de l'énergie d'activation de la menthe lors d'un séchage conductif en régime continu. *Revue des énergies renouvelables*, 11, 385-394.

Al jahid, A., A. Elamrani, et al. (2017). "Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from the Seeds of Moroccan *Artemisia campestris* L." *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20(2): 375-384.

Alekseeva, K., L. Smetanina, et al. (2019). Biological protection of tomato from *Fusarium* wilt. AIP Conference Proceedings, AIP Publishing.

Aloui, Z., C. Messaoud, et al. (2016). "Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* essential oils trigger apoptosis and cell cycle arrest in *Leishmania infantum* promastigotes." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2016.

Al-Snafi, A. E. (2015). "The pharmacological importance of *Artemisia campestris*-A review." *Asian Journal of Pharmaceutical Research* 5(2): 88-92.

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

Amarti, F., satrani, B., Ghanmi, M., farah, A., Aafi, a., Aarab, l., El ajjour, m. & chaouch, a. 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 14, 141-148.

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

Aoumria, M. 2015. Importance de la fusariose vasculaire du pois (*Pisum sativum* L.) Dans l'ouest algérien: pouvoir pathogène, races physiologiques et compatibilité végétative chez *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Pisi* et essai de lutte biologique.

Appel Di. et Gordon, T.R.,1996. Relationships among pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* based on the partial sequence of the intergenic spacer region of the ribosomal DNA. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9: 125-138.

B

Badea, M. L. et E. Delian (2014). "In vitro antifungal activity of the essential oils from *Artemisia* spp. L. on *Sclerotinia sclerotiorum*." *Romanian Biotechnological Letters* 19(3): 9345-9352.

Bakchiche, B., A. Gherib, et al. (2014). "Chemical composition of essential oils of *Artemisia campestris* and *Juniperus phoenicea* from Algeria." *International Journal of Innovation and Applied Studies* 9(4): 1434.

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

Bardeau, F. (2009). Les huiles essentielles, Fernand Lanore.315p

Benabdallah, A., Boumendjel, M., Aissi, O., Rahmoune, C., Boussaid, M. & Messaoud, C. 2018. Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild mentha species from northeastern algeria. *South african journal of botany*, 116, 131-139.

Benabdelkader, T. 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Université Jean Monnet-Saint-Etienne.

Bernard, S. T., S. Y. René, et al. (2019). "Activité antifongique des huiles essentielles de quatre plantes locales sur quelques germes des semences de riz, maïs, niébé et d'arachide." *International Journal of Green and Herbal Chemistry* 8(1): 001-008.

Bey .D ; Sonne Y. (2018). Composition chimique, activités antioxydante et antifongique des huiles essentielles de deux espèces végétales du genre *Artimisia* : *A. herba alba* et *A. campestris*. Mémoire de master. Université Amar Têlidji –Laghouat.

- Blancard, D. (2009).** Les maladies de la tomate : identifier, connaître, maîtriser, Quae, 679p
- Bora, K. S. et A. Sharma (2011).** "The genus *Artemisia*: a comprehensive review." *Pharmaceutical Biology* **49**(1) : 101-109.
- Bougandoura, N. and N. Bendimerad (2012).** "Effect Antifongique Des Extraits Aqueux et Methanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta*) briq, *Rev. des BioRessources* **2**: 1-7.
- Bougandoura, N. et Bendimerad, N. 2012.** Effect Antifongique Des Extraits Aqueux et Methanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta*) briq, *Rev. des BioRessources*, **2**, 1-7.
- Boughendjioua, H. et S. Djeddi (2018).** "Quality attributes of the thyme (*Thymus numidicus* *Poiret.*) essential oil." *Journal of Plant Sciences* **6**(1): 12.
- Bouguerra, A. 2012.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *foeniculum vulgare* mill.
- Bouguerra, N. (2019).** Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs.
- 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.
- Bouhdid, S., J. Abrini, et al. (2012).** "Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action." *Journal de Pharmacie Clinique* **31**(3): 141-148.
- Boukhebti, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H. & Harzallah, D. 2011.** Chemical composition and antibacterial activity of *mentha pulegium* l. And *mentha spicata* l. Essential oils. *Der pharmacia lettre*, **3**, 267-275.
- Boutigny, A.-L., A. Gautier, et al. (2017).** "Un outil moléculaire basé sur le séquençage haut débit pour caractériser les *Fusarium* sur céréales." *Innovations Agronomiques* **59** : 55-
- Bouzouita, N., F. Kachouri, et al. (2008).** "Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*." *Journal de la société chimique de Tunisie* **10**: 119-125.
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.), Lavoisier.

BuRoNzo, A. M. (2008). grand guide des huiles essentielles Hachette pratique,. 244p.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology, 94, 223-253.

C

Caillet, S. et M. Lacroix (2007). "Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire." Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).

Chalchat, J.-C., P. Cabassu, et al. (2003). "Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia." Journal of Essential Oil Research **15**(4): 251-253.

Chehma, A. (2006). "Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien." Edition Dar El Houda, Algérie, 140p.

Cheurfa, M., R. Allem, et al. (2013). "Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites." Phytothérapie **11**(3): 154-160.

Claude, L. (2010). Les lipides dans le monde vivant, Lavoisier, 283p.

D

De-Billerbeck, V.-G. (2007). "Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques." Phytothérapie **5**(5): 249-253.

Desam, N. R., Al-rajab, A. J., Sharma, M., Mylabathula, M. M., Gowkanapalli, R. R. & Rlbratty, M. 2017. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *mentha* × *piperita* l.(peppermint) essential oils. *Journal of king saud university-science*.

Desramaux, M. (2018). Huiles essentielles en dermocosmétologie, universite de bordeaux

Dib, I., L. Angenot, et al. (2017). "*Artemisia campestris* L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review." Journal of Herbal Medicine **7**: 1-10.

Djeddi, S. (2012). "Les huiles essentielles "Des mystérieux métabolites secondaires": Manuel de formation destiné aux étudiants de Master." Presse Académiques Francophones USA: 65P

Djeddi, S. 2018. Les Huiles Essentielles Des Mystérieux Métabolites Secondaires, Omniscriptum Gmbh & Company Kg.

Dob, T. et T. Benabdelkader (2006). "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria." *Journal of Essential Oil Research* 18(6): 685-690.

Dung, N. T., kim, J. M. & kang, S. C. 2008. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *cleistocalyx operculatus* (roxb.) Merr and perry buds. *Food and chemical toxicology*, 46, 3632-3639.

E

El Ajjouri, M., B. Satrani, et al. (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." *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 12(4): 345-351.

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

Elhouiti, F., tahri, D., takhi, D., ouinten, M., barreau, C., verdal-bonnin, M.-N., bombarda, I. & yousfi, M. 2017. Variability of composition and effects of essential oils from *rhanterium adpressum* coss. & durieu against mycotoxinogenic fusarium strains. *Archives of microbiology*, 199, 1345-1356.

El-Shemy, H. (2017). Active Ingredients from Aromatic and Medicinal Plants, BoD–Books on Demand.

F

Faradj, c. A. (2005). A guide to medicinal plants in North Africa, IUCN centre for mediterranean cooperation, 256p

Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Salgueiro L., Miguel M. G., Faleiro M. L., 2008, Portuguese *Thymbra* and *Thymus* Species Volatiles: Chemical Composition and Biological Activities, *Current Pharmaceutical Design* 14 : 3120-3140.

Franchomme P, Jollois R, Penoel D. L'aromatherapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1e éd. Paris : Roger Jollois, 2007. 490 p

G

Ghanmi, M., B. Satrani, et al. (2010). "Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental)." *Phytothérapie* 8(5): 295-301.

Gherib, M. (2009). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp. *sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. Et Cou. Mémoire de magister. Abou Bekr Belkaid —Tlemcen

Giordani, R. et J. Kaloustian (2006)."Action anticandidosique des huiles essentielles: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques." *Phytothérapie*4(3): 121-124.

Goetz, P. et K. Ghedira (2012).Phytothérapie anti-infectieuse, Springer Science & Business Media, 381p.

Guesmi, F., M. B. Ali, et al. (2014). "Effects of *Thymus hirtus* sp. *algeriensis* Boiss. et Reut.(Lamiaceae) essential oil on healing gastric ulcers according to sex." *Lipids in health and disease* 13(1): 138.

H

Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R. & Bakhrouf, A. 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*mentha longifolia* and *mentha pulegium*) used in the tunisian folkloric medicine. *World journal of microbiology and biotechnology*, 25, 2227-2238.

Hazzit, M., A. Baaliouamer, et al. (2006). "Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities." *Journal of agricultural and food chemistry* 54(17): 6314-6321.

Hélène, V. (2014). Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, université angers ufr sciences pharmaceutiques et ingenierie de la sante.

Hicham, B. (2019). Activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de *Citrus reticulata*, l'école normale supérieure d'enseignement technologique (ENSET) de Skikda.

Houicher, A., H. Hechachna, et al. (2016). "In vitro determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria." International journal of food properties **19**(8): 1749-1756.

I

Imelouane, B., H. Amhamdi, et al. (2009). "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco." Int. J. Agric. Biol **11**(2): 205-208.

J

Janačković, P., J. Novaković, et al. (2015). "Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia judaica*, *A. herba-alba* and *A. arborescens* from Libya." Arch. Biol. Sci **67**(2): 455-466.

K

Kalemba, D. et A. Kunicka (2003). "Antibacterial and antifungal properties of essential oils." Current medicinal chemistry **10**(10): 813-829.

Kaloustian, J. et F. Hadji-Minaglou (2013). La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer Science & Business Media, 210p .

Kaloustian, J., J. Chevalier, et al. (2008). "Étude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne." Phytothérapie **6**(3): 160-164.

Khadraoui, A., hachama, K., khodja, M., khelifa, A., mehdaoui, R., harti, H., abid, S., najda, B. A. & chahboun, N. Extraction study and the antibacterial activity of phenol and flavonoid.

Koul, B., P. Taak, et al. (2018). "The *Artemisia* Genus: A Review on Traditional Uses, Phytochemical Constituents, Pharmacological Properties and Germplasm Conservation." J. Glycom. Lipidom **7**: 1-7.

Kumar, A., R. Shukla, et al. (2008). "Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post-harvest fungal infestation of food commodities." Innovative food science & emerging technologies **9**(4): 575-580.

L

Laghchimi, A., M. Znini, et al. (2014). "Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme (Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida* essential oil on mycelial growth of fungi responsible for the rot of apple)." J. Mater. Environ. Sci 5(6): 1770-1780.

Laghchimi, a., znini, m., majidi, l., renucci, f., el harrak, a. & costa, j. (2014). Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme (Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida* essential oil on mycelial growth of fungi responsible for the rot of apple). J. Mater. Environ. Sci, 5, 1770-1780.

Laghouiter, O., A. Gherib, et al. (2015). "Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa." Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes Vol 8(1): 84-93.

Lahlou, M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy research: an international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives, 18, 435-448.

Lboumhamdi, A., M. Znini, et al. (2018). composition chimique et biocontrôle de l'huile essentielle des graines de cèleri (*apium graveolens* l.) contre *botrytis cinerea* après la récolte des pommes chemical composition and biocontrol of the essential oil of celeri seeds (*apium graveolens* l.) against *botrytis cinerea* after apples harvest

Leal, F., M. Taghouti, et al. (2017). *Thymus* Plants: A Review—Micropropagation, Molecular and Antifungal Activity.

Lis, A. et M. Kowal (2015). "Constituents of the essential oils from different organs of *Artemisia campestris* L. subsp. *campestris*." Journal of Essential Oil Research 27(6): 545-550.

Lobstein, A. & couic-marinier, F. 2016. Huile essentielle de *menthe poivrée*. Actualités pharmaceutiques, 55, 57-59.

M

- Mebarki, L. 2016.** Recherche d'activité biologique de molécules végétales pour la lutte contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*., Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- Mechata,N., A.-A. K. Tassadi, et al. (2015).** "*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*: effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique." Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"5(2).
- Mehalaine, S. (2017).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et amélioration de leur production en culture in vitro L'UNIVERSITE LARBI BEN M'HIDI OUM EL BOUAGHI
- Mehani, M. & Goudjil, M. 2015.** Antibacterial, antifungal activity and chemical composition study of essential oil of *Mentha pepirita* from the south Algerian.
- Mehani, M. & Goudjil, M. 2015.** antibacterial, antifungal activity and chemical composition study of essential oil of *mentha pepirita* from the south algerian.
- Merghache, S., M. Hamza, et al. (2009).** "Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. De Tlemcen, Algérie." Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie 5(1).
- Miara, M., hammou, M. A. & aoul, S. H. 2013.** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de tiaret (algérie). *Phytothérapie*, 11, 206-218.
- Michielse, C. B. et M. Rep (2009).** "Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*." Molecular plant pathology 10(3): 311-324.
- Mohammedi, Z., S. Bachik, et al. (2010).** "Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. Et Reut." Les technologies de laboratoire5(19).
- Moumni, M., L. El Watik, et al. (2012).** "Comparative study of essential oil yields of seven accessions of *Artemisia herba-alba* Asso, domesticated in Errachidia (southeast of Morocco)." Journal of Environmental Solutions 1: 31-33.

N

Narimane, M., Tassadi, A.-A. K. & Fatma, R. 2015. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*: effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 5.

Nikolić, M., J. Glamočlija, et al. (2014). "Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils." Industrial Crops and Products 52: 183-190.

Nobilis, L. et F. Sporotrichoid. (2015). "Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus Nobilis* L. sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide*." Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes Vol8(2) : 34-44.

O

Osman, A. Y., F. M. Ali, et al. (2017). "Therapeutic activities of *Artemesia herba-alba* and *Rosmarinus officinalis* against microbial infection: a review." IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)12(4): 34-38.

Ouis, N. (2014). etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouillet de persil université oran 1.

Ourida, C. 2012. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.

P

Pirgozliev, V., birch, C., rose, S., kettlewell, P. & bedford, M. 2003. Chemical composition and the nutritive quality of different wheat cultivars for broiler chickens. *British poultry science*, 44, 464-475.

Prasanth Reddy, V., K. Ravi Vital, et al. (2014). "Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties." Med. Aromat Plants 3: 164.

R

Rachid, I., L. Abdeslam, et al. (2014). "Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines." Internat J Innov Scient Res 12: 499-505.

Rey, C. (1989). "Le thym vulgaire (*Thymus vulgaris* L.) du val d' Aoste: une particularité botanique de haut intérêt."

Rose de lima, F. H., Adjou, E. S., ahoussi, E. D., sohounhloué, D. C. & soumanou, M. M. 2014. Caractéristiques biochimique et sensorielle du niébé (*vigna unguiculata*) conservé au moyen des huiles essentielles extraites de plantes de la famille des myrtaceae [biochemical and sensorial characteristics of cowpea (*vigna unguiculata*) stored with essentials oils extracted .

S

Sáez, F. and E. Stahl-Biskup (2002). Thyme: the genus *Thymus*, Taylor & Francis.

Samate, A. D. (2002). " compositions chimiques d'ruLles essentielles

Sangwan, N., A. Farooqi, et al. (2001). "Regulation of essential oil production in plants." Plant growth regulation 34(1): 3-21.

Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T. & Rehder, V. L. G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in brazil. Brazilian journal of microbiology, 35, 275-280.

Segvić Klaric, M., I. Kosalec, et al. (2007). "Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings." Letters in applied microbiology 44(1):36-42.

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

V

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

Z

Zayyad, N., A. Farah, et al. (2014). "Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*." Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège 83: 118-132.

Zeghib, A. 2013. Etude phytochimique et activités antioxydants, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*.

Zekri, N., Amalich, S., Boughdad, A., El belghiti, M. A. & Zair, T. 2013. Phytochemical study and insecticidal activity of *mentha pulegium* l. Oils from morocco against *sitophilus oryzae*. Mediterranean journal of chemistry, 2, 607-619.

Zhiri, A. & baudoux, D. 2005. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Luxembourg: éditions inspir.

Zouari, N., N. Fakhfakh, et al. (2011). "Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.(Lamiaceae)." Food and Bioproducts Processing 89(4): 257-265.

Annexes

Annexes

Annexe I

Composition des milieux de culture utilise :

1. Potatoes dextrose Agar (PDA : pour les champignons)

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle a été effectuée sur un milieu solide PDA : (Potato Dextrose Agar).

Pomme de terre pelées.....200 g

Glucose.....20 g

Agar-agar.....15 g

Eau distillée.....1 l



Figure : Dispositif de préparation de milieu de culture PDA

2. Solution d'Agar 0,2%

Agar-agar.....2 g

Eau distillée.....1 L

Annexe II

Tableau : Composition chimique des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* Asso et d'*Artemisia campestris*.

N°	Constituants	A. <i>herba alba</i>	A. <i>campestris</i>	IRL ^a
1	Tricyclène	0,42	-	920
2	α-Pinène	1,54	5,77	930
3	Camphène	5,80	0,20	944
4	α -Fenchène	0,36	0,36	949
5	Sabinène	0,31	5,71	974
6	Yomogi alcohol	1,37	1,22	996
7	α -Phellandrène	0,15	-	1005
8	α -Terpinène	0,17	-	1015
9	m-Cymène	0,41	2,16	1022
10	p-Cymène	1,17	1,22	1025
11	Limonène	10,44	-	1030
12	Cis- β -Ocimène	-	0,51	1037
13	Trans- β -Ocimène	-	0,26	1048
14	γ -terpinène	0,21	-	1056
15	Cis- Sabinène hydrate	0,15	-	1068
16	Cis-Linalool oxide, (furanoid),	0,10	-	1071
17	Trans-Linalool oxide	0,11	-	1079
18	Terpinolène	0,35	-	1089
19	Cis-thujone	7,87	1,42	1106
20	β -Thujone	3,82	-	1115

21	cis-p-Menth-2-en-1-ol	-	0,38	1123
22	Chrysanthenone	13,99	-	1125
23	Allo-Ocimène	-	0,58	1134
24	Trans-Limonène oxide	-	0,32	1137
25	Camphre	36,48	0,30	1144
26	Isoborneol	1,49	0,38	1155
27	Menthofurane	2,77	0,17	1164
28	Neo-Menthol	0,68	0,20	1168
29	Terpinen-4-ol	0,69	0,81	1174
30	Myrtenol	-	2,22	1191
31	P-Cymen-8-ol	0,13	0,41	1197
32	Verbenone	0,54	0,16	1208
33	cis-Carvéol	0,18	0,66	1235
34	Carvone	0,27	0,50	1241
35	Thymol	0,545	-	1282
36	1, 2-Epoxy Menthyl acétate	-	1,44	1467
37	γ-Muurolène	-	5,08	1478
38	Bicyclogermacrène	-	16,8	1496
39	Oxyde de Caryophyllène	1,05	-	1565
40	(Z)-3-Hexenyl benzoate	-	25,72	1569
41	Spathulenol	0,25	0,24	1575
42	Cubenol	0,18	3,19	1636
Total identifié		94,25	78,36	
Hydrocarbures monoterpéniques		22,74	17,88	
Monoterpènes oxygénés		70,01	7,98	

Total monoterpènes	92,76	25,87
Hydrocarbures sesquiterpéniques	-	21,88
Sesquiterpènes oxygénés	1,48	3,44
Total sesquiterpènes	1,48	25,33
Autres	-	27,16

^a Indices de rétention linéaires obtenus sur colonne DB-5, calculés par rapport à une série homologue de n-alcanes C8-C20

^b Pourcentages obtenus par normalisation des aires des pics FID.

Annexe III

Tableau : Composition chimique des huiles essentielles de *Mentha piperita* et *Mentha pulegium*

N°	Constituants	<i>M.piperita</i>	<i>M. pulegium</i>	IRL ^a
1	α -Thujène	0,05	-	917
2	α -Pinène	0,97	0,64	928
3	Camphène	0,07	0,03	941
4	α -Fenchene	-	0,08	947
5	Sabinene	2,05	0,44	974
6	β -Myrcène	-	0,23	990
7	α -phellandrène	0,39	0,95	1003
8	α -Terpinène	0,23	0,04	1015
9	<i>P</i> -Cymène	-	-	1023
10	Limonène	28,29	0,75	1030
11	Trans- <i>B</i> -Ocimene	0,08	0,08	1045
12	γ -Terpinène	0,40	-	1056
13	Cis-Sabinène hydrate	0,92	0,02	1068
14	Linalool oxyde	-	-	1071
15	Trans-Linalool oxide	-	-	1079
16	Terpinolène	0,12	-	1089
17	Thuyone	0,08	0,01	1103
18	Cis-Thuyone	-	0,07	1106
19	<i>P</i> -Menth-2-en-1-ol, cis-	0,11	0,03	1122
20	Pinocarvone	-	-	1136
21	Trans-Limonene, oxide	0,06	0,01	1137
22	Camphre	-	0,02	1144
23	Camphene hydrate	-	2,36	1148
24	Iso-bornéol	-	-	1155
25	Menthone	-	1,27	1158

26	Menthofurane	0,13	6,80	1164
27	Neo-Menthol	-	-	1167
28	Trans-Isopulegone	1,06	-	1176
29	Menthol	-	0,51	1180
30	Myrténol	0,08	-	1191
31	Verbénone	0,06	--	1207
32	Citronellol	-	-	1221
33	Cis-carvéol	0,10	0,16	1233
34	Carvone	-	70,8	1241
35	Pipéritone	57,51	0,15	1251
36	Thymol	0,07	0,02	1282
37	2-Hydroxypipéritone	-	-	1310
38	Carvacrol	-	-	1324
39	Pipériténone	-	4,94	1337
40	α -terpényle acétate	-	-	1349
41	Carvacrol acétate	-	0,07	1371
42	1,2-EpoxyMenthyle acétate	0,84	0,01	1467
43	Oxyde de Caryophyllène	0,23	0,99	1565
44	Viridiflorol	-	1,39	1591
Total identifié		93,90	92,84	
Hydrocarbures Monoterpéniques		33,57	3,26	
Monoterpènes oxygénés		60 ,1	87.2	
Sesquiterpènes oxygénés		0,23	2,38	
^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				

Annexe IV

Tableau : Composition chimique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Thymus algeriensis*

N°	Constituants	<i>T.vulgaris</i>	<i>T.algeriensis</i>	IRL ^b
1	α -Thujène	-	0,24	917
2	α -Pinène	2,48	9,26	928
3	Camphène	0,17	1,84	941
4	α -Fenchene	-	1,09	947
5	Sabinene	0,19	1,61	974
6	β -Myrcène	-	2,95	990
7	α -phellandrène	0,16	0,21	1003
8	α -Terpinène	1,24	0,42	1015
9	<i>P</i> -Cymène	6,73	-	1023
10	Limonène	0,09	11,49	1030
11	Trans- <i>B</i> -Ocimene	0,04	0,66	1045
12	γ -Terpinène	9,10	0,22	1056
13	Cis-Sabinène hydrate	0,05	0,14	1068
14	Linalool oxyde	0,01	1,82	1071
15	Trans-Linalool oxide	-	0,38	1079
16	Terpinolène	0,06	0,73	1089
17	Thuyone	0,04	-	1103
18	Cis-Thuyone	3,16	0,91	1106
19	<i>P</i> -Menth-2-en-1-ol, cis-	0,02	1,36	1122
20	Pinocarvone	0,36	4,22	1136
21	Trans-Limonene, oxide	0,01	2,20	1137
22	Camphre	-	7,61	1144
23	Camphene hydrate	-	-	1148
24	Iso-bornéol	-	1,7	1155
25	Menthone	-	-	1158
26	Menthofurane	-	-	1164

27	Neo-Menthol	-	1,32	1167
28	Trans-Isopulegone	-	-	1176
29	Menthol	-	-	1180
30	Myrténol	0,02	1,17	1191
31	Verbénone	-	2,99	1207
32	Citronellol	-	1,74	1221
33	Cis-carvéol	-	2,42	1233
34	Carvone	0,90	0,76	1241
35	Pipéritone	-	-	1251
36	Thymol	-	2,92	1282
37	2-Hydroxypipéritone	5,84	0,28	1310
38	Carvacrol	63,42	0,25	1324
39	Pipériténone	-	-	1337
40	α -terpényle acétate	-	10,79	1349
41	Carvacrol acétate	0,02	14,16	1371
42	1,2-EpoxyMenthyle acétate	0,05	0,41	1467
43	Oxyde de Caryophyllène		0,33	1,60
44	Viridiflorol		-	-
Total identifié		94,49	91,87	

Hydrocarbures**Monoterpéniques****Monoterpènes oxygénés****Sesquiterpènes oxygénés**

^b : 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

