

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

YALAOUI LILA & OUKIL FERIEL

Thème

**Extraction de l'huile essentielle du Romarin et évaluation
de son activité antifongique à l'égard d'un champignon
phytopathogène**

Soutenu le : 04/07/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
AMMOUCHE Z.	MAA	Univ. De Bouira	Président
AGRANE S.	MAA	Univ. De Bouira	Promotrice
MEBDOUA S.	MAA	Univ. De Bouira	Co-Promoteur
MENZER N.	MCB	Univ. De Bouira	Examineur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier **Allah**, le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce travail.

Nous adressons en premier lieu nos remerciements les plus sincères à **Mme Sayah S.** maître-assistant à la faculté SNVST de Université Akli Mohand Oulhadj Bouira pour avoir dirigé ce mémoire, nous avons apprécié la liberté qu'elle nous a laissée dans la conduite de recherches. Elle nous a témoigné une confiance illimitée. Sa confiance, son soutien, sa disponibilité sans limite et ses conseils avisés nous a permis de réaliser le travail dans les meilleures conditions. Nous avons eu énormément de plaisir à travailler sous sa tutelle.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre vive reconnaissance à notre co-promoteur **Mme Mebdoua S.** maître de conférences à la faculté SNVST de l'université Akli Mohand Oulhadj Bouira pour son énorme soutien concernant la réalisation de ce mémoire.

C'est avec un grand plaisir que nous adressons nos vifs remerciements **Mme Ammouche Z.** maître-assistant à la faculté SNVST de l'Université Akli Mohand Oulhadj Bouira pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de la soutenance.

Nos vifs remerciements vont également à Monsieur **Menzer N.** maître de conférences à la faculté SNVST de l'université Akli Mohand Oulhadj Bouira pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de chimie du département des Sciences Technologiques en particulier madame **Hamani S.** pour sa patience, ses conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'elle a apporté à ce travail

Enfin nous exprimons notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Table des matières

Listes des abréviations	
Listes des tableaux	
Listes des figures	
Introduction.....	01

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1. <i>Rosmarinus officinalis</i>	03
I.1.1. Généralités sur la famille des lamiacées.....	03
I.1.2. Présentation générale de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	03
I.1.3. Caractéristiques botanique.....	04
I.1.4. Répartition géographique.....	05
I.1.5. Classification.....	06
I.1.6. Composition chimique du romarin.....	06
I.1.7. Utilisation de l'huile essentielle de romarin.....	07
I.1.8. Propriétés de l'huile essentielle de romarin.....	08
I.2. <i>Fusarium verticillioides</i>	10
I.2.1. Généralités sur <i>Fusarium verticillioides</i>	10
I.2.2. Position taxonomique.....	10
I.2.3. Morphologie.....	10
I.2.4. Symptômes.....	11
I.2.5. Cycle biologique.....	11
I.2.6. Incidence économique.....	12
I.2.7. Incidence sur la santé.....	12
I.2.8. Méthodes de lutte.....	14
I.3. Huiles essentielles.....	16
I.3.1. Définition des huiles essentielles.....	16
I.3.2. Origine et localisation des huiles essentielles.....	16
I.3.3. Propriétés physiques des huiles essentielles.....	17
I.3.4. Composition chimique des huiles essentielle.....	18
I.3.5. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles.....	21
I.3.6. Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	22

I.3.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	24
I.3.8. Domaines d'application des huiles essentielles.....	26
I.3.9. Domaines de conservation des huiles essentielles.....	27

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....	29
II.1.1. Matériel végétale.....	29
II.1.2. Matériel fongique.....	30
II.1.3. Autres matériels.....	31
II.1.3.1. Matériel de collecte, séchage et broyage de la plante.....	31
II.1.3.2. Matériel d'extraction de la plante.....	32
II.1.3.3. Matériel d'évaluation de l'activité antifongique de la plante.....	33
II.2. Méthodes expérimentales.....	34
II.2.1. Méthodes d'extraction de l'huile essentielle.....	35
II.2.2. Détermination du rendement de l'huile essentielle.....	36
II.3. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> l'égard du champignon phytopathogène <i>Fusarium verticillioides</i>	37
II.3.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique.....	38
II.3.1.1. Technique de confrontation directe.....	38
II.3.1.2. Technique de confrontation indirecte.....	39

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultat.....	40
III.1.1. Paramètres organoleptiques de l'huile essentielle de romarin.....	40
III.1.2. Rendement de l'huile essentielle.....	41
III.1.3. Caractéristiques de <i>Fusarium verticillioides</i> au niveau microscopique et macroscopique.....	41
III.1.4. Activité antifongique.....	42
III.1.4.1. Résultats des observations de la croissance mycélienne sur les boîtes.....	42
III.1.4.1.1. Croissance mycélienne de <i>Fusarium verticillioides</i> par la technique de confrontation directe.....	45

III.1.4.1.2.Croissance mycélienne de <i>Fusarium verticillioides</i> par la technique de confrontation indirecte.....	46
III.2.Discussions.....	49
Conclusion générale	
Reference bibliographique	

Liste des abréviations

PDA: Potato Dextrose Agar

SNA: Synthèse Nutriment poor Agar

RDt : Rendement

HE : Huile essentielle

DMSO : Diméthylsulfoxyde

HD : Hydrodistillation

FAO : Organisation des Nations unie pour l'alimentation et agriculture

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristique organoleptique de l’huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	40
Tableau 02 : Rendement en l’huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	41
Tableau 03 : Taux d’inhibition pour chaque dose de l’huile essentielle par la méthode de confrontation directe.....	46
Tableau 04 : Taux d’inhibition pour chaque dose de l’huile essentielle par la méthode de confrontation indirecte.....	48

Liste des figures

Figure 01 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	04
Figure 02 : Feuilles et de fleurs du romarin.....	05
Figure 03 :Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des huiles essentielles.	19
Figure 04 : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.	20
Figure 05 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile.....	22
Figure 06 :Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par entrainement à la vapeur d'eau.....	23
Figure 07 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	29
Figure 08 :Site de récolte des feuilles de romarin.....	30
Figure 09 : <i>Fusarium verticillioides</i> dans le milieu PDA.....	31
Figure 10 :Matériel utilisé pour l'extraction de <i>Rosmarinus officinalis</i>	32
Figure 11 :Séchage et broyage des feuilles de romarin.....	34
Figure 12 :Conservation de romarin en poudre.....	35
Figure 13 : Montage d'hydrodistillation.....	36
Figure 14 : Décantation.....	36
Figure 15 : Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	36
Figure 16 :Coulages des boites pétri.....	37
Figure 17 : Doses utilisées pour l'activité antifongique.....	38
Figure 18 :Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	40
Figure 19 : Observation de <i>Fusarium verticillioides</i> sur le milieu PDA.....	42
Figure 20 :Observation de <i>Fusarium verticillioides</i> sur le milieu SNA.....	42
Figure 21 :Observation microscopique de <i>Fusarium verticillioides</i> dans le milieu PDA...	42
Figure 22 :Croissance mycélienne de <i>F. verticillioides</i> sur le milieu PDA par confrontation directe.....	43
Figure 23 :Croissance mycélienne de <i>F. verticillioides</i> sur le milieu PDA par confrontation indirecte.....	44
Figure 24 :Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium verticillioides</i> par la méthode de confrontation directe....	45

Figure 25 :Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de *Fusarium verticillioides* par la méthode de confrontation indirecte.....47

Introduction

Les maladies des plantes posent un véritable fléau pour les cultures, et les dégâts engendrés par les maladies et les ravageurs deviennent de plus en plus graves en raison de l'expansion des cultures intensives. Selon la **FAO**, les maladies parasitaires réduisent de 12 à 14 % la production agricole mondiale, et 70 % des dommages sont attribuables à des infections fongiques. Ces maladies sont probablement la plus grande contrainte qui entrave la production et le rendement globales des récoltes, et représentent l'un des facteurs majeurs qui limite et altère leur qualité (**Marcia et al., 2015**). On estime entre dix-milles et quinze milles espèces, le nombre d'organismes des types de champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plantes contre une cinquantaine susceptible d'infecter l'homme.

La lutte contre les champignons phytopathogènes, repose plus particulièrement sur l'utilisation des produits chimiques. Cependant, beaucoup d'effets non intentionnels ont été associés à l'emploi intensif et non raisonné de ces produits, suite a une contamination de la biosphère ou même de la chaine alimentaire. Pour résoudre ce problème, une recherche sérieuse et nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendants des produits chimiques et plus respectueuses à l'environnement. (**Prapagdee et al., 2008**).

La lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles antifongiques peut constituer une alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques (**Laib, 2012**). L'Algérie, par sa vaste étendue terrestre du nord au sud et de l'est à l'ouest, et par sa variation climatique, possède une flore abondante, riche et variée dans laquelle il a été dénombré de nombreuses espèces aromatiques susceptible de fournir des huiles essentielles (**Kofidis et al., 2004**).

Les huiles essentielles sont d'intérêts croissants pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques i (**Hellal, 2011**). Beaucoup de recherches ont été effectuées sur l'étude de activités microbiennes des huiles essentielles, notamment contre différentes espèces fongiques (**Bouaine, 2017**). Les huiles essentielles de Citrus : d'orange douce, de citron, de mandarine et pamplemousse ont montré une activité antifongique contre *Aspergillus niger*, *A. flavus*,

Penicillium chrysogenum et *P. verrucosum*. L'activité des huiles volatiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui les constituent, comme les terpénoïdes (**Hellal, 2011**).

Les axes de recherches portant sur l'activité antimicrobiennes des huiles essentielles sont très diversifiés, mais peu de travaux sont réalisés sur activité antifongique des huiles essentielles sur les champignons phytopathogènes, qui occasionnent chaque année des pertes considérables dans le rendement des cultures.

Dans ce contexte, nous nous proposons d'étudier au cours de ce travail de recherche, l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. sur la croissance mycélienne du champignon phytopathogène *Fusarium verticillioides*.

Ce travail se scinde en trois chapitres. Les données bibliographiques sur le Romarin, les généralités sur le champignon *Fusarium verticillioides* et sur les huiles essentielles constituent le premier chapitre. Le deuxième chapitre est consacré à la présentation du matériel et des méthodes utilisés. Quant au troisième et dernier chapitre, il regroupe les résultats obtenus ainsi que leur discussion. Une conclusion et perspectives clôtureront ce document.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I.1. *Rosmarinus officinalis* L.

I.1.1. Généralités sur la famille des lamiacées

La famille des Lamiacées, également connue sous le nom de labiées, comprend environ 200 genres et 6500 espèces répartis à travers le globe, bien que la majorité se trouve dans la région méditerranéenne (**Chenni, 2016**). Parmi ces espèces, on retrouve des plantes populaires telles que le thym, la lavande, la menthe et le romarin (**Hashlaf, 2019**).

Les Lamiacées sont des plantes herbacées qui peuvent parfois avoir l'apparence et la couleur de l'herbe, mais aussi se présenter sous forme d'arbrisseaux ou d'arbustes. Une caractéristique notable de ces plantes est leur richesse en huiles essentielles, ce qui leur confère un intérêt économique et médicinal (**Benchikh, 2017**).

I.1.2. Présentation générale de *Rosmarinus officinalis* L.

Le Romarin, est une plante originaire de la région méditerranéenne, pousse sur les pentes arides, les garrigues et les endroits rocheux (**fig.1**). Depuis l'Antiquité, il est utilisé pour favoriser la mémoire et la concentration. Même de nos jours, en Grèce, les étudiants le font brûler dans leurs chambres pendant les périodes d'examen afin de stimuler leurs facultés cognitives (**Boullard, 2010**).

Le Romarin, également connu sous le nom scientifique *Rosmarinus officinalis* L., est un petit arbuste appartenant à la famille des Lamiacées (ou labiées). Il se trouve à l'état sauvage principalement dans les régions méditerranéennes, en particulier dans les zones de garrigues arides et rocailleuses, préférant les sols calcaires (**Jean-Claude et al., 2008**). Que ce soit sous forme fraîche ou séchée, cette plante aromatique est largement utilisée dans la cuisine méditerranéenne. De plus, une variété améliorée est cultivée dans les jardins (**Jean-Claude et al., 2008**).

Le romarin est une plante qui attire les abeilles et est considéré comme une plante mellifère. Le miel produit à partir du nectar de romarin, également connu sous le nom de « miel de Narbonne », jouit d'une excellente réputation (**Jean-Claude et al., 2008**).



Figure01 :*Rosmarinus officinalis*L.(originale)

I.1.3. Caractéristiques botaniques

Le Romarin, appelé aussi rose de mer, du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mères un arbuste(**fig.2**)persistant mesurant de 60 cm à 2 m de hauteur et pouvant vivre jusqu'à 30 ans. Son écorce est de couleur grise, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux tordus opposés, avec des nœuds espacés de 0,5 à 2 mm. Les feuilles du Romarin sont opposées, coriaces, sans pétiole, linéaires et entières, mesurant de 1,5 à 4,5 cm de long. Leurs bords sont enroulés vers le bas. La face supérieure est d'un vert sombre et lisse, tandis que la face inférieure est blanchâtre, tomenteuse (duveteuse), traversée par une veine saillante et porte des poils articulés ramifiés ainsi que des poils glandulaires serrés, L'inflorescence du Romarin est en forme d'épi, avec des fleurs subsessiles qui s'épanouissent tout au long de

l'année. Ces fleurs sont d'un bleu pâle, lilas ou blanchâtres, avec de petites taches violettes à l'intérieur. Le fruit du Romarin est un tétrakène de couleur brune(Mouas, 2018).



Figure 02 : photo des feuilles, et de fleurs du Romarin (Bousbia, 2009)

I.1.4.Répartition géographique

L'espèce *R. officinalis* L. fait partie du genre *Rosmarinus* et de la famille des Labiacées est largement répandue et spontanée dans tout le bassin méditerranéen, notamment en sol calcaire plus ou moins argileux, à condition que le sol ne soit pas saturé en eau. Cette espèce préfère les sites bien ensoleillés et fait face à des périodes estivales marquées par la sécheresse. Le romarin est rencontré dans les pays d'Afrique du Nord tels que l'Algérie, le Maroc et la Tunisie, ainsi que dans les régions méridionales d'Europe. En Algérie, le Romarin fréquente en particulier les garrigues et les forêts claires, il est souvent appelé « klil » ou « iazir » en Tamazight (Aït Youssef,2006).

I.1.5. Classification

Selon (Quezel et Santa 1963) la systématique de *Rosmarinus officinalis*L. est la suivante :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales (Labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.

I.1.6. Composition chimique de Romarin

I.1.6.1. Huile essentielle

La composition et la concentration des composés du Romarin représentent généralement entre 1 à 3 % de la plante, avec des variations importantes en fonction des chémotypes. Cependant, les études menées sur de nombreux échantillons d'huiles de *Rosmarinus officinalis* et *tournefortii* ne montrent aucune différence notable en termes de nature des composés. En effet, les principaux constituants peuvent inclure α -pinène, 1,8-cinéole, le camphre, le bornéol, l'acétate de bornyle, la verbénone, le p-cymène ou le myrcène, éventuellement accompagné de β -pinène, de sabinène, de linalool, de limonène, de β -caryophyllène, de α -terpinéol et de terpinène-4-ol (Teuscher *et al.*, 2005).

I.1.6.2. Diterpènes phénoliques tricycliques

Constituent principalement d'acide carnosolique (environ 0,35 %) qui se dégrade facilement en carnosol, et est accompagné d'isorosmanol, de rosmariquinone et de rosmaridiphénol.

I.1.6.3. Tanins des labiées

Représentent environ 3,5% et sont constitués principalement d'acide rosmarinique (1,1 à 2,5 %).

I.1.6.4. Flavonoïdes : présents sous forme d'aglycones et d'hétérosides comme le cirsimarine, la diosmine, l'hespéridine, l'homoplantiginine(**Manach et al 2004**).

I.1.6.7. Constituants divers

Le romarin contient des polysaccharides acides, estimés à environ 6%, ainsi que des traces de salicylates .De plus, il renferme des substances inorganiques telles que des électrolytes de sodium, du calcium, du potassium, du chlore, des nitrates, des phosphates et des sulfates (**Brahim, 2013**).

I.1.7. Utilisation de l'huiles essentielles de romarin

I.1.7.1.Agriculture

Les hautes plaines steppiques connaissent aujourd'hui une forte dégradation qui se traduit par la réduction du potentiel biologique et la rupture des équilibres écologiques et socioéconomiques. Afin de préserver et d'améliorer les sols de ces régions, la valorisation des espèces spontanées (fourragères et médicinales) connues pour leurs tolérances à la sécheresse et à la salinité telle que le romarin, s'avère indispensable. Le romarin préfère les sols argilocalcaires, de pH 7 à 8. Poussant naturellement dans la garrigue, le romarin peut valoriser des terrains pauvres, il se développe mieux en terrain profond, léger et perméable (**MOUAS,, 2018**).

I.1.7.2. Parfumerie :

L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne. On connaît en particulier l'eau de la Reine de Hongrie, alcoolat fréquemment utilisé au XVIIème siècle et qui pourrait avoir été conçu dès le XIVème siècle, dont le romarin était un des principaux composants. Le novient de la reine Elisabeth de Hongrie, qui l'aurait utilisé en 1378 à l'âge de 72 ans ; l'eau lui aurait rendu sa fraîcheur à tel point que le roi de Pologne l'aurait demandée en mariage. Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fugères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques, étudièrent la faculté des extraits de romarin a protégé la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la

biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau.(Bousbia.,2011).

I.1.7.3. Médecine et phytothérapie

Le Romarin est couramment cultivé en raison de son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle, les parties aériennes de la plante sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les douleurs menstruelles et comme antispasmodique. De plus, le romarin est considéré comme bénéfique pour la conservation du sol, aidant à contrôler l'érosion du sol (Heinrich *et al.*, 2006). L'huile de Romarin a été utilisée depuis des siècles dans de nombreux domaines. Elle a été largement répandue comme ingrédient dans les produits de beauté, les savons, ainsi que pour assaisonner et conserver les aliments (Arnold *et al.*, 1997).

I.1.8. Propriétés de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L.

I.1.8.1. Activités antibactériennes

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du Romarin, sur la croissance de Bactérie *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés, elle est inportant danc elle est un effet antibactérienne (BENIKHLEF, 2014).

I.1.8.2. Activités antifongiques

L'huile essentielle du Romarin cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre *Aspergillus parasiticus*. En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du Romarin, les résultats ont montré que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomycespombe*, *Saccharomyce cerevisiae*, *Yarrowialypolitica*)(BENIKHLEF, 2014).

I.1.8.3. Activités antivirales

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait du Romarin a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (BENIKHLEF, 2014)

I.1.8.4. Activités ovicide

L'huile essentielle du romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedesa egypti* et *Culex quinquefasciatus*). Cette huile

présente également une activité répulsive contre de nombreux moustiques (**BENIKHLEF, 2014**)

I.1.8.5 Activités anti-oxydantes

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du Romarin comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (**BENIKHLEF, 2014**)

I.1.8.6 Activités anti-cancérogène

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre le cancer (**BENIKHLEF, 2014**).

I.2. *Fusarium verticillioides*

I.2.1. Généralités sur *Fusarium verticillioides*

Fusarium verticillioides, est un agent pathogène majeur du maïs et d'autres céréales, est responsable de la fusariose de l'épi chez les céréales, entraînant une diminution de la qualité des grains. Il est reconnu comme l'agent pathogène principal capable de produire des mycotoxines sur les grains de céréales entreposés (**Rossi et al., 2008**).

I.2.2. Position taxonomique

Selon (**O'donnell et al 2015**) la systématique du *Fusarium verticillioides* est la suivante :

Règne : Fungi

Embranchement : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce : *Fusarium verticillioides*

I.2.3. Morphologie

Le *fusarium* est caractérisée par la présence de macroconidies en forme de fuseau, avec des cloisons, d'où leur nom latin fusus (**Tabuc, 2007**). Leur thalle, qui est la structure végétative du champignon, présente une croissance généralement rapide et peut revêtir différentes couleurs : blanc, crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas (**Jeunot, 2005**)

Sur le thalle des *Fusarium*, on observe parfois la formation de structures ramifiées appelées conidiophores, qui forment des coussinets (appelés sporodochies) et portent des grappes de pores ayant une apparence grasse. Les phialides, qui sont des cellules spécialisées, sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies :

- Les macroconidies des *fusarium* sont de forme fusiforme, souvent courbées, et présentent plusieurs cloisons. Elles sont attachées à une cellule basale par un pédicelle et peuvent avoir un talon distinctif. En plus des macroconidies, certaines espèces de *Fusarium* produisent également de petites microconidies, généralement septées et de forme piriforme, fusiforme ou ovale (**Botton et al., 1990 ; Jeunot, 2005**). Il convient

de noter que certaines espèces de *Fusarium* ne forment que des macroconidies, tandis que d'autres produisent les deux types de conidies (**Botton *et al.*, 1990 ; Jeunot, 2005**).

- La présence ou l'absence de chlamydospores chez les *Fusarium* peut varier. Elles peuvent être présentes à la fois à des positions terminales et intercalaires, et leur formation peut être différenciée par le mycélium ou par les conidies elles-mêmes (**Botton *et al.*, 1990 ; Jeunot, 2005**)

I.2.4.Symptômes

Les lésions provoquées par le *Fusarium* se manifestent généralement à la base de la tige, dans la gaine des feuilles, là où les racines coronales se déchirent lors de leur émergence. Cette infection peut ensuite se propager à la gaine des feuilles, ce qui se traduit par l'apparition de longues stries brunes à la base de la tige (**Andreas *et al.*, 2008**)

Le symptôme le plus courant de l'infection par *Fusarium* est une coloration brun foncé au niveau des nœuds inférieurs. Sur les plants plus matures, cette infection peut évoluer en un pourridié, où la base de la tige devient brune et pourrie, entraînant ainsi un affaissement de la plante et la formation d'épis argentés (**Andreas *et al.*, 2008**). Bien que ce symptôme soit moins fréquent, il peut être observé pendant les périodes de sécheresse intense.

Lorsque les épis sont infectés au début de la floraison, il est fréquent de constater un blanchiment total ou partiel de l'épi, ce qui n'est pas observé lorsque l'infection survient plus tardivement (**Martin, 2004**). Ce blanchiment des épis dans le cas de cette maladie du blé peut entraîner une diminution de rendement, mais la principale préoccupation réside dans la production potentielle de mycotoxines dans les grains (**Martin, 2004**).

La maladie peut se propager rapidement et affecter l'intégralité de l'épi, provoquant un changement de couleur de rose à orange saumoné. On observe également l'apparition de petits organes de fructification noirs produits par le champignon (**Martin, 2004**).

I.2.5.Cycle biologique

Le *Fusarium* est un pathogène qui cause des dommages importants tout au long du cycle de vie de la plante hôte. Il se propage principalement par l'utilisation de semences récoltées à partir de plantes infectées, mais peut également être présent dans le sol. Le *Fusarium* est un parasite tellurique qui a la capacité de vivre en saprophyte, se développant sur des débris végétaux, et de survivre sous forme de chlamydospores. Il peut persister

pendant plusieurs années même dans des conditions défavorables (**Haware et al., 1978 ; Beckman, 1987**).

Les plantes qui sont infectées par les chlamydospores qui restent en dormance jusqu'à ce qu'elles soient stimulées par des substrats organiques ou des exsudats racinaires pour germer. Une fois germées, elles donnent naissance à un mycélium. Si les conditions sont propices, le thalle se développe et produit des conidies (**Beckman et Roberts, 1995 ; Agrios, 2005**).

En présence d'une plante hôte, le mycélium du *Fusarium* commence par envahir les racines en pénétrant l'épiderme, que ce soit dans la zone d'élongation ou par le biais de blessures (**Agrios, 1988 ; Beckman et Roberts, 1955**). Le tube germinatif qui se forme à travers l'épiderme pénètre ensuite les vaisseaux conducteurs du système racinaire. Les microconidies sont transportées passivement par le flux du xylème à travers ces vaisseaux, ce qui leur permet d'infecter les parties aériennes de la plante. En conséquence de cette invasion, la plante subit un stress hydrique, soit en raison du colmatage des vaisseaux (ce qui bloque le transport de l'eau et des nutriments) causé par l'action combinée du mycélium, des microconidies et des substances mucilagineuses produites par la plante en réponse à l'attaque fongique, soit en raison des toxines produites par le champignon, telles que l'acide fusarique, ou d'une combinaison de ces facteurs (**Toyoda et al., 1988 ; Klein et Correll, 2001**).

I.2.6. Incidence économique

L'infection par *Fusarium verticillioides* peut entraîner des baisses de rendement significatives (**Czembor et al., 2010**), car il est responsable de nombreuses fontes de semis. Lorsque les grains sont infectés par *fusarium verticillioides* pendant le stockage, cela entraîne des pertes de qualité commerciale et nutritionnelle.

Dans des régions plus chaudes comme l'Espagne et la Tunisie, une contamination avancée des plantes peut conduire à un dessèchement soudain de la plante (**Champion, 1997**)

I.2.7. Incidence sur la santé

Les cultures céréalières subissent de graves contaminations causées par des champignons producteurs de mycotoxines, en particulier le *Fusarium*. La présence de ces toxines a des répercussions significatives, notamment une diminution de la qualité et du rendement des récoltes, ainsi qu'un risque pour la santé des consommateurs des produits contaminés.

Le terme mycotoxine est dérivé du grec *mycos*, qui signifie champignon, et du latin *toxicum*, qui signifie poison. Il fait référence à des composés chimiques produits par des champignons filamenteux microscopiques ou des moisissures à la fin de leur phase de croissance exponentielle. Ces métabolites secondaires n'ont aucune signification biochimique pour la croissance et le développement fongiques, ni pour la compétition entre les organismes **(Dmello et Macdonald, 1997, Hussein et Brasel, 2001)**.

Les êtres humains et les animaux sont principalement exposés aux mycotoxines par ingestion, mais aussi par inhalation ou contact cutané. Cette exposition peut entraîner des toxicités aiguës, subchroniques et ou chronique, selon le type de mycotoxine et la quantité ingérée **(Peraica et al., 1999, Castegnaro et pfohl-Lrszkoicz,2002)**. Les cas d'intoxication aiguës sont rares, principalement en raison des faibles quantités de toxines présentes dans les aliments contaminés. En revanche, les intoxications chroniques sont plus fréquentes en raison de l'effet cumulatif des mycotoxines, des habitudes alimentaires et de la persistance de ces substances toxiques **(AFSSA, 2006)**.

Les mycotoxines présentent une vaste gamme d'effets toxiques. Certaines toxines ont des effets hépatotoxiques (aflatoxines, ochratoxines, fumonisines), et d'autres sont néphrotoxiques (ochratoxines, citrinine), neurotoxiques (trichotécènes, patuline), immunotoxiques (aflatoxines, ochratoxines, fumonisines, trichotécènes), et oestrogéniques (zéaralénone). De plus, les aflatoxines, les fumonisines, la zéaralénone et les ochratoxines sont connues pour être génotoxiques et cancérigènes **(Pfohl-Leszkoicz et al., 1995, Hussein et Brasel, 2001, Bennett et Klich, 2003 ; AFSSA, 2006)**

Parmi les plus de 400 mycotoxines identifiées et répertoriées, seule une trentaine présente de véritables propriétés toxiques préoccupantes pour l'homme. Les aflatoxines, les ochratoxines, la zéaralénone, les fumonisines, la citrinine, la patuline, les trichotécènes et le déoxynivalénol sont considérées comme les plus importantes du point de vue de l'agroalimentaire et de la santé, et font l'objet d'une surveillance régulière **(Pfohl-Leszkoicz et Castegnaro, 2002, Bennett et Klich, 2003, AFSSA, 2006)**

I.2.8. Moyens de lutte contre le *Fusarium*

Il existe diverses méthodes de lutte contre le *Fusarium*, mais la prévention demeure la meilleure stratégie pour contrer les épidémies de fusariose en culture.

I.2.8.1. Pratique culturale

Afin de réduire la présence de l'inoculum primaire du *Fusarium*, plusieurs pratiques culturales ont été mises en œuvre, étant donné que ce champignon peut survivre dans les résidus des cultures.

Une des pratiques consiste à effectuer une rotation des cultures en utilisant des espèces non graminées. De plus, certaines pratiques de travail du sol et de gestion des mauvaises herbes peuvent contribuer à réduire la quantité d'inoculum de *Fusarium* (Parry *et al.*, 1995).

Effectivement, un travail réduit du sol ou un semis direct augmentent tous deux les risques de fusariose (Tekauz *et al.*, 2000). De plus, semer une culture après une culture sensible à la fusariose telle que le blé, le maïs, le seigle ou le triticale accroît le risque d'infection (Koehler *et al.*, 1924). Par conséquent, il est important de mettre en place des rotations avec des cultures non-hôtes telles que le trèfle, la luzerne, les pommes de terre ou le lin, afin de réduire l'incidence de la maladie (Pageau *et al.*, 2008).

I.2.8.2. Utilisation des fongicides

La lutte contre la fusariose peut également être réalisée en utilisant des produits chimiques tels que les fongicides. Ces produits offrent une suppression partielle de la fusariose et de la contamination par les mycotoxines associée. Cependant, aucun fongicide homologué pour une utilisation dans les cultures céréalières n'est capable d'éliminer complètement la fusariose

Les fongicides sont utilisés pour réduire l'intensité de la maladie et la contamination par les toxines produites par l'agent pathogène. Parmi les fongicides les plus couramment utilisés, on trouve le prothioconazole, le tébuconazole, le metconazole, ainsi que l'association de prothioconazole et tébuconazole. Le prothioconazole seul ou en association avec tébuconazole est homologué pour la suppression de la fusariose de l'épi chez le blé et l'orge.

Le tébuconazole perturbe la paroi du champignon, ce qui entraîne une réduction de l'intensité de la maladie (Debieu *et al.*, 2000). Une évaluation comparative de différents fongicides a révélé que l'utilisation du prothioconazole seul ou en association avec le tébuconazole entraînait une réduction d'environ 34 % du taux de DON dans les grains d'orge (Rioux *et al.*, 2003). En revanche, les autres fongicides n'ont pas montré d'effets significatifs

Les fongicides sont utilisés afin de réduire les pertes de rendement et la contamination par les mycotoxines. (Mesterhazy *et al.*, 2003). Il est donc essentiel de surveiller plusieurs paramètres, notamment les conditions climatiques, en particulier lors des phases critiques de contamination, et d'appliquer les fongicides au stade de développement approprié de la plante

(Giraud *et al.*, 2011). En plus de l'utilisation des fongicides, la résistance génétique a également été considérée comme la stratégie la plus rentable pour la gestion de la fusariose (Ruckenbauer *et al.*, 2001).

I.2.8.3. Moyens de lutte biologique

Il existe actuellement de nombreux agents de biocontrôle disponibles sur le marché. Le principe de ces agents repose sur l'hyperparasitisme où certains champignons parasitent d'autres champignons. C'est le cas de nombreuses espèces du genre *Trichoderma harzianum* a été identifié comme étant capable de contrôler les maladies causées par *Fusariumoxysporum* chez les bananiers(Thangavelu *et al.*, 2004)

I.3.Huiles essentielles

I.3.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles, qui sont produites par les plantes (Ben Sultane et Bahri, 2017), sont des composés volatils complexes dotés de parfums distinctifs.

En général, une huile essentielle est un mélange de substances naturelles volatiles obtenues en chauffant la biomasse végétale avec de la vapeur d'eau (Metali et Kerras, 2016).

D'après Bouamer *et al.* (2004), le terme « huile » est utilisé car les substances volatiles présentes dans les végétaux ont une consistance visqueuse et sont hydrophobes, ce qui leur confère la capacité de se dissoudre dans les huiles végétales et minérales, les graisses, les alcools et l'éther.

Le terme « essentielles » est utilisé pour refléter le fait que ces plantes émettent des odeurs caractéristiques en raison de ces substances Selon Chiasson *et al.* (2007), les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour se défendre contre les ravageurs phytophages. Ces extraits sont généralement composés d'environ 20 à 60 substances, principalement des molécules peu complexes.

I.3.2. Origine et localisation des huiles essentielles

D'après Aouis (2015), les huiles essentielles ou essences végétales sont largement répandues dans le règne végétal et se trouvent exclusivement chez les plantes supérieures. En effet, elles sont présentes en quantités significatives chez environ 2000 espèces réparties dans 60 familles botaniques, telles que les Lamiacées (lavande, basilic, menthe...), les Myrtacées

(eucalyptus...), les Lauracées (cannelle et sassafras...) et les Apiacées (fenouil, cumin, coriandre, persil...

Les huiles essentielles sont des substances naturelles produites par les plantes et présentes dans différentes parties de la plante, telles que les fleurs (comme dans le cas du rosier), les sommités fleuries (comme la lavande), les feuilles (comme la citronnelle et l'eucalyptus), l'écorce (comme le cannelier), les racines, les fruits, les graines (comme la muscade), ainsi que d'autres parties de la plante (**El Laib, 2011**). Ces huiles essentielles sont élaborées et stockées dans les cellules végétales.

Selon le même auteur, les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées qui sont recouvertes d'une cuticule. Ces huiles essentielles sont stockées dans des cellules spécifiques appelées cellules à huiles essentielles (chez les Lauracées ou les Zingibéracées), des poils sécréteurs (chez les Lamiacées), des poches sécrétrices (chez les Myrtacées ou les Rutacées) ou des canaux sécréteurs (chez les Apiacées ou les Astéracées). Dans certains cas, lorsque les poches à essences se trouvent dans les tissus internes, les huiles essentielles peuvent également être transportées dans l'espace intracellulaire. Au niveau du site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales composées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile, ces membranes présentent une perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ce qui limite considérablement l'évaporation et l'oxydation des huiles essentielles à l'air.

I.3.3. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles se distinguent des huiles grasses tant par leurs propriétés physiques que par leur composition, et elles sont définies par leurs caractéristiques organoleptiques telles que leur odeur, leur couleur et leur goût. Elles partagent également un ensemble de propriétés physiques communes, (**Bekhechi et al. (2010) et Aouis (2015)**). Les huiles essentielles ont une faible solubilité dans l'eau, mais elles sont solubles dans des solvants organiques tels que l'alcool, l'éther, le chloroforme, les émulsifiants, et d'autres. Les huiles essentielles ont des points d'ébullition qui se varient entre 160°C à 240°C. En règle générale, les huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau, variant généralement de 0,75 à 0,99. Cependant, il convient de noter que certaines huiles essentielles, telles que l'huile essentielle de girofle ou de cannelle, constituent des exceptions à cette tendance. Les huiles essentielles se caractérisent par un indice de réfraction élevé. Les huiles essentielles sont généralement actives sur la lumière polarisée, ce qui signifie qu'elles

présentent rarement une inactivité vis-à-vis de ce type de lumière. Elles ont la capacité de décomposer les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore, et elles ont également un effet réducteur sur certains sels. Les parfums en question ont une durée de conservation limitée en raison de leur nature

Ces parfums sont hautement susceptibles de se dégrader et sont sensibles à l'oxydation, bien qu'ils ne deviennent pas rances. Ces substances, de texture huileuse, varient en fluidité, sont hautement odorantes et volatiles. En règle générale, à température ambiante, ces substances sont liquides, de couleur incolore ou jaune pâle, à quelques exceptions près, telles que les huiles essentielles de cannelle (orange), d'absinthe (verte) et de camomille (bleue).

I.3.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels extrêmement complexes qui se distinguent par la présence de deux ou trois composants majeurs, présents à des concentrations relativement élevées (entre 20 et 70%) par rapport aux autres composants présents en quantités minimales (**Hamdani, 2016**).

Selon **Laib (2011)**, les huiles essentielles sont des mélanges complexes et changeants de constituants qui sont presque exclusivement répartis en deux groupes distincts :

✓ Le groupe de terpénoides

✓ Le groupe des composés aromatiques dérivés de phénylpropane.

Les composés présents dans les huiles essentielles possèdent une structure composée d'un squelette hydrocarboné qui forme une chaîne de longueur variable. Ce squelette de base est souvent accompagné d'un ou plusieurs sites fonctionnels, qui peuvent être similaires ou différents. La plupart de ces sites fonctionnels sont oxygénés, contenant un ou plusieurs atomes d'oxygène, bien que certains groupes fonctionnels puissent également contenir de l'azote ou du soufre. La structure des composés varie en fonction de plusieurs critères (**ELLaib, 2011**).

- Du nombre d'atomes de carbone qui les constituent
 - Les monoterpènes
 - Les sesquiterpènes
 - Rarement les diterpènes
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons
- De leur agencement : linéaire ou cyclique
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...)

- De la nature des groupes fonctionnels à savoir :
 - Terpènes : $R_1-HC=CH-R_2$;
 - Alcools terpéniques : $R-OH$;
 - Cétones : R_1-CO-R_2 ;
 - Phénols : C_6H_6-OH ;
 - Aldéhydes : $R-CHO$;
 - Esters : $R_1-COO-R_2$;
 - Ethers : R_1-O-R_2 .

I.3.4.1. Les terpènes :

Selon une citation de Bottin (2006) rapportée par **Benabdelkrim (2013)**, les terpènes sont classés en fonction du nombre d'unités d'isoprène.

Hamdani (2016) mentionne que les principaux types de terpènes comprennent les hemiterpènes (C5), les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20), les triterpènes (C30) et les tétraterpènes (C40). Parmi eux, les plus importants sont les suivants :

- **Les monoterpènes :** sont les constituants les plus simples des terpènes et représentent la majorité des composés présents dans les huiles essentielles (environ 90%). Ils sont formés de deux unités d'isoprène (C₅H₈) et peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques en fonction de la façon dont ces unités sont liées (voir Figure 03).

Ces terpènes sont associés à plusieurs produits naturels qui possèdent des fonctions chimiques spéciales, **El Laib (2011)**.

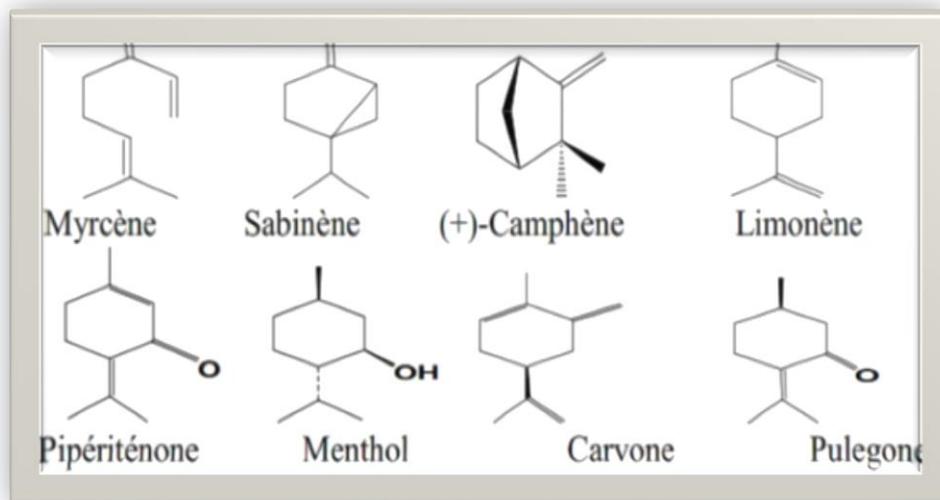


Figure03 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des huiles essentielles (Modzelewska *et al.*, 2005 ; Kaloustian *et al.*, 2012)

- **Les sesquiterpènes** constituent la classe la plus variée des terpènes, comprenant plus de 3000 molécules différentes.

Parmi ces molécules, on retrouve des composés tels que le β -caryophyllène, le β -bisabolène, l' α -humulène, l' α -bisabolol et le farnésol, **Bruneton (1999)** et cité par **Labioud et Aouadi (2016)**

I.3.4.2. Les composants aromatiques (Les phénylpropanes)

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les Terpènes. Ce sont très souvent des allyle et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiaceae, mais aussi de celles du Grofle, de la muscade, de l'estragon, du basilic...etc. (eugénol, safrole, asarones, cinnamaldéhyde, etc.). On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C6-C1 comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (c'est-à-dire les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînés par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (**Bruneton,2009**). (fig.4) présente la structure de quelques composés aromatiques.

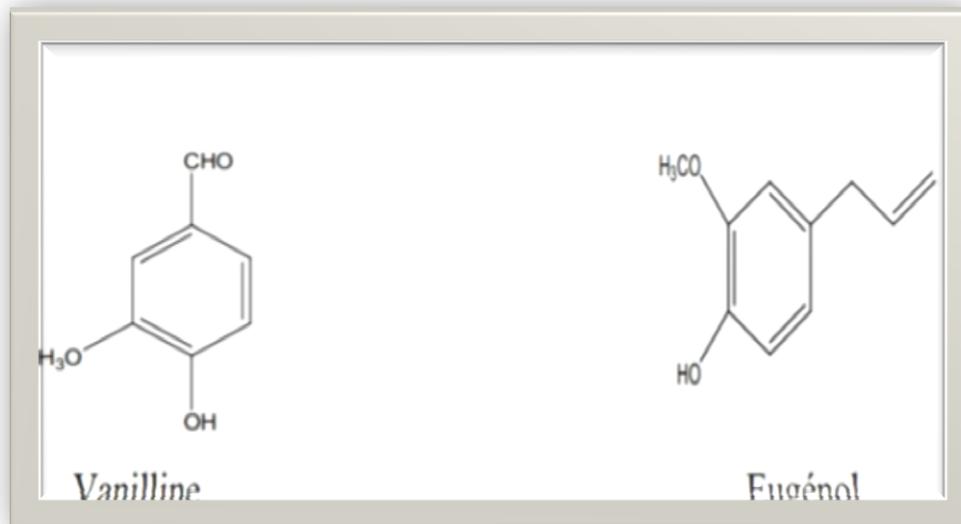


Figure04 : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles(Scimeca, 2007 ; Bruneton, 2009)

Différentes études ont révélé que la composition chimique des huiles essentielles peut être variable en fonction de divers facteurs tels que l'organe de la plante utilisé, les conditions climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction.

I.3.5. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

En raison de leur nature généralement complexe, les huiles essentielles sont caractérisées par une grande variabilité, à la fois en termes de composition et de rendement des plantes d'origine.

Cette variabilité peut être attribuée à différents facteurs, qui peuvent être regroupés en deux catégories, (Laib, 2011)

- ✓ Il existe des facteurs intrinsèques qui influencent la variabilité des huiles essentielles, tels que l'espèce de la plante, le type de clone utilisé, l'organe de la plante utilisé, l'interaction avec l'environnement (type de sol, climat, etc.) et le degré de maturité de la plante récoltée, voire le moment de la récolte au cours de la journée.
- ✓ D'autres part, il existe des facteurs extrinsèques liés aux méthodes d'extraction qui peuvent également influencer cette variabilité

I.3.5.1. Les facteurs intrinsèques :

Il est possible d'obtenir différentes huiles essentielles à partir d'une même plante en sélectionnant différentes parties de celle-ci, car les cellules productrices d'huile essentielle peuvent se trouver dans divers organes. Par exemple, les huiles essentielles extraits des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. De plus, on a également observé des différences de composition des huiles essentielles en raison de l'utilisation différents organes (feuilles et fleurs) et de sous-espèce différente. Il est également important de prendre en compte le stade végétatif de la plante au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes de *Lavandula* obtenue par clonage. (Laib, 2011)

Dans une étude menée par (Bouterfas *et al.* 2016). Il a démontré que la localité d'échantillonnage a une influence significative sur la composition et l'activité antifongique des flavonoïdes extraits des feuilles de *Marrubium vulgare* L. vis à vis de deux souches fongiques, à savoir *Aspergillus niger* ATCC 16404 et *Candida albicans* ATCC 10231.

I.3.5.2. Les facteurs extrinsèques

Les études menée par Huang *et al.* (1995) ainsi que Lemberkovics *et al.* (2003) mettent en évidence l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles. De plus, le stockage des matières premières avant distillation peut également avoir un impact sur la composition et le rendement des huiles essentielles. Fantino (1990) a observé des pertes significatives d'huile essentielle lors d'un stockage

I.3.6. Les techniques d'extraction des huiles essentielles

I.3.6.1. Distillation

La méthode d'extraction des huiles essentielles la plus couramment utilisée de nos jours est entraînement des substances aromatiques à l'aide de la vapeur d'eau. Cette technique repose sur la formation d'un azéotrope ayant une température d'ébullition inférieure à celles des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau sont distillés simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. Par conséquent, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir de modifications majeures (Marianne, 2008). Trois procédés différents utilisant ce principe sont spécifiquement employés : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion. :

I.3.6.1.1. Extraction par hydrodistillation

La méthode utilisée est une distillation classique réalisée à l'aide d'un dispositif de Clevenger (fig.5). Dans cette méthode, la matière végétale est émergée dans de l'eau et le

mélange est porté à ébullition. La vapeur d'eau chargée de substances volatiles se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. Les essences, étant moins denses que l'eau, se séparent et sont récupérées en surface par simple décantation (**Camara *et al.*, 2010**). Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont résistants à la chaleur (**Nedjai, 2017**).

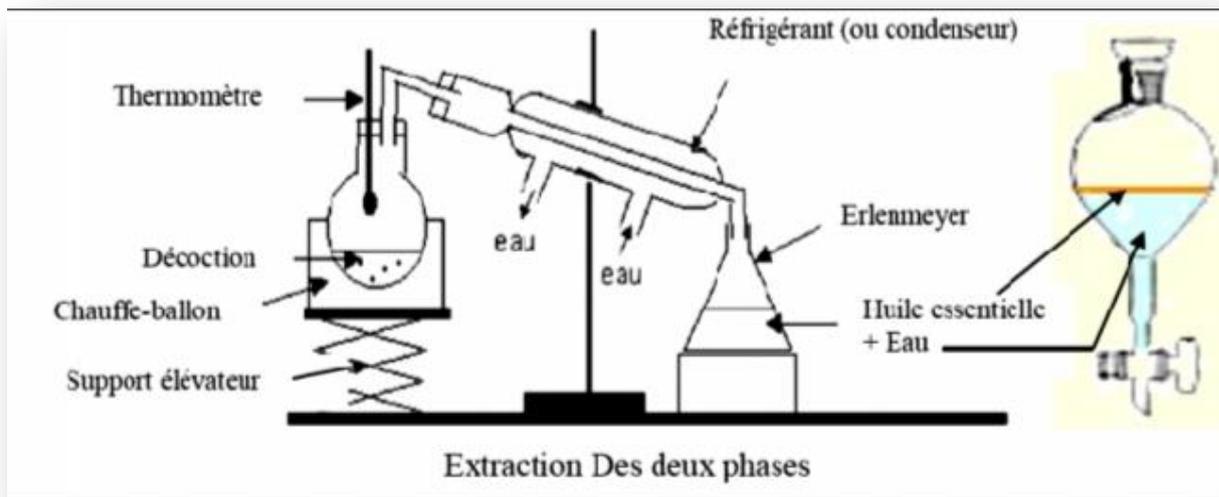


Figure 05 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Nedjai, 2017)

I.3.1.6.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique (fig.6) n'implique pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter. Pendant le passage de la vapeur à travers le matériau, les cellules éclatent, libérant ainsi l'huile essentielle qui est ensuite vaporisée par la chaleur pour former un mélange d'eau + l'huile essentielle. Ensuite, la vapeur d'eau, qui a entraîné l'huile essentielle, se condense dans le serpentin du réfrigérant, le mélange est récupéré et ensuite séparé (**Meghazi, 2012**).

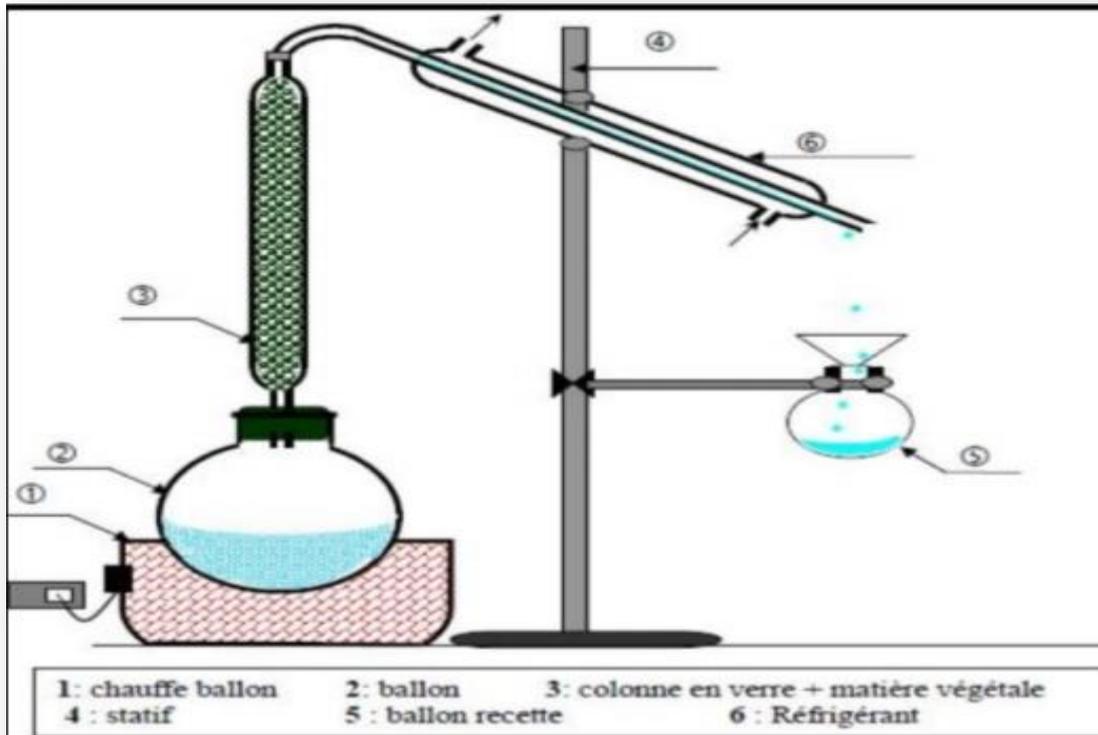


Figure 06 : Dispositif d'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau (Nedjai, 2017)

I.3.1.6.3. Hydrodiffusion ou percolation

La méthode de percolation implique l'envoi de vapeur d'eau de haut en bas, contrairement à la distillation où la vapeur se déplace de bas en haut. Cette méthode présente l'avantage d'être plus rapide, ce qui réduit les dommages potentiels à la qualité des substances aromatiques. Cependant, la percolation a pour l'inconvénient de charger les huiles essentielles en substances non volatiles. Par conséquent, des essences de percolation plutôt que des huiles essentielles à proprement parler (Attou, 2017)

I.3.6. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Chapitre II

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

Notre travail vise à étudier l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., sur la croissance mycélienne du champignon phytopathogène *Fusarium verticillioides*. Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie de la faculté des sciences et des sciences appliquées ainsi qu'au niveau de laboratoire de département des sciences agronomiques de l'université de Bouira. Dans notre approche, nous avons eu recours à l'utilisation de la méthode d'hydrodistillation pour l'extraction de l'huile essentielle du Romarin et la tester sur le *F. verticillioides*.

Le choix du Romarin a été fait pour les raisons suivantes :

- Sa large utilisation en médecine traditionnelle et pour le traitement des infections antimicrobiennes.
- Sa large répartition comme ressource botanique naturelle en Algérie.
- Le manque de travaux de recherche sur les propriétés biopesticides en particulier le pouvoir antifongique.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L., ont été collectées en mars 2023 dans la région d'Akbou (36.459106° l'altitude, 4.533416° longitude) (Fig.7), wilaya de Béjaïa, qui est située à l'extrême centre de l'Algérie est limitée au nord par la mer méditerranée, au sud par les wilayas de Sétif et Bordj Bou Arreridj, à l'Est par la wilaya de Jijel et à l'Ouest par les wilayas de Bouira et Tizi Ouzou.

Figure 07 : Site de récolte des feuilles de Romarin (Google MAPS)

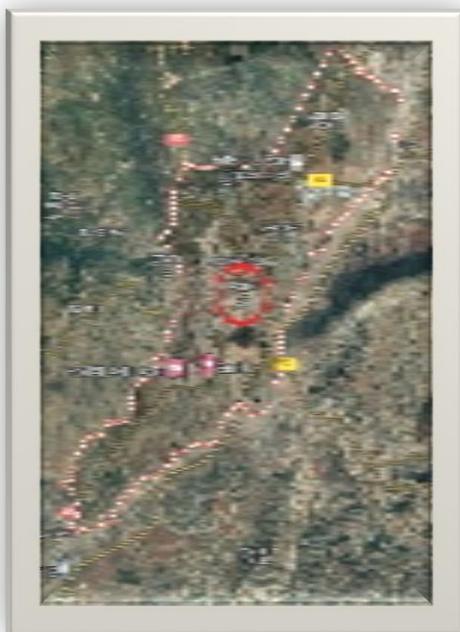




Figure 08 :*Rosmarinus officinalis* L. (originale)

II. 1.2. Matériel fongique

Pour l'évaluation de l'activité antifongique nous avons utilisé une seule souche fongique, à savoir *Fusarium verticillioides*. Cette souche a été isolée en 2015 à partir de grains de céréales, purifiée et conservée dans le milieu PDA au congélateur. *F. verticillioides* est un champignon qui se développe rapidement sur les milieux de culture classiques tels que le PDA et la gélose au malt (Fig.9). Le thalle présente initialement une couleur blanche, pêche ou rose saumon, puis devient vivace à violet. Le mycélium aérien est dense et a une apparence floconneuse et poudreuse. Le revers peut varier entre le violet foncé, le lilas, le vivace ou le crème. Cette espèce est l'un des principaux champignons responsables de la fusariose de l'épi Sur le blé, l'orge et d'autres céréales comme le maïs (Chehri *et al.*, 2010 ; El-Wakil, 2013).

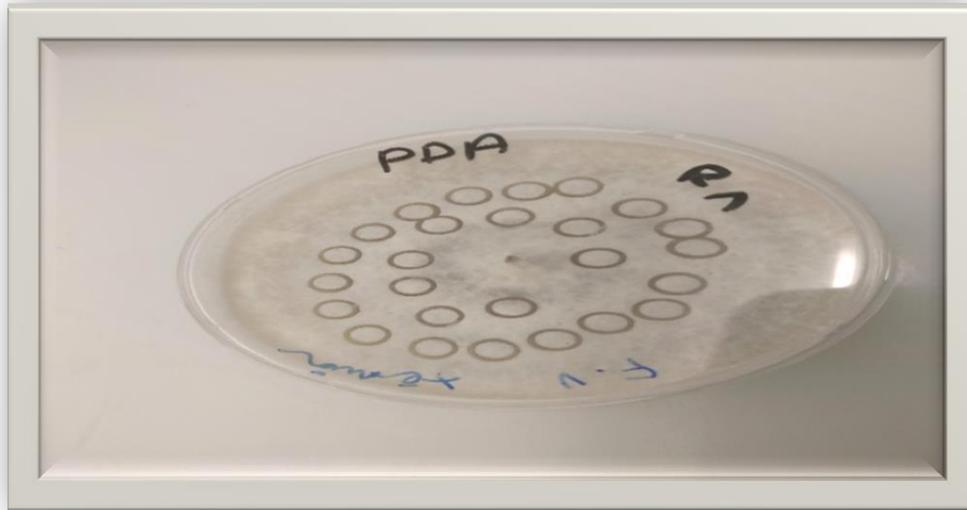


Figure 09 : *Fusarium verticillioides* dans le milieu PDA (originale)

II.1.3. Autre matériel

II. 1.3.1. Matériels de collecte, séchage et de broyage de la plante

La collecte, le séchage et le broyage des plantes nécessitent l'utilisation d'un équipement léger comprenant :

- ◆ Des sécateurs et une hache pour couper les parties dures.
- ◆ Des sacs en papier pour la conservation et le transport vers le lieu de séchage.
- ◆ Un broyeur électrique pour broyer la partie aérienne de la plante séchée.

II. 1.3.2. Matériel d'extraction de la plante

L'huile essentielle du Romarin extraite par l'utilisation de méthode d'hydrodistillation de type Clevenger nécessite la présence du matériel décrit dans la fig 10



Clevenger



Becher



Balance



Flacon



Eau distillé



Eppendof

Figure 10 : Matériel utilisé pour l'extraction de *Rosmarinus officinalis* L.,(Originale).

II. 1.3.3. Matériel d'évaluation de l'activité antifongique

Le matériel utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique est mentionné en détail dans l'annexe.

II.2. Méthodes expérimentales

II.2.1. Préparation de poudre des feuilles de *Rosmarinus officinalis L.*

Après avoir rincé les feuilles de notre plante avec l'eau distillée deux fois afin d'éliminer toute impureté, elles sont séchées sur un papier propre à l'air libre et à l'obscurité pendant quatre semaines. Après à l'aide d'un appareil électrique les feuilles sèches de la plante ont été broyées (fig.12) en poudre fine et passées par un tamis de 200 μm , puis elles sont conservées dans un flacon hermétique en verre à 4°C.(Fig.13)



Figure 12 : Séchage et broyage des feuilles de Romarin (originale).



Figure 13 : Conservation de romarin de poudre (originale)

II.2.2. Méthode d'extraction de l'huile essentielle

Pour réaliser l'extraction par hydrodistillation (HD), un appareil de type Clevenger était utilisé (**Fig.15**). Dans ce processus, 50 g de matière végétale sont placés dans un ballon de 1L, en ajoutant de l'eau distillée équivalente aux 2/3 de la capacité du ballon. Une fois le montage installé et fermé, le chauffage du ballon est activé avec un réglage optimal pour assurer une extraction stable à une vitesse constante et contrôlée. La vapeur chargée d'huile essentielle circule ensuite vers le condenseur. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 heures (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'huile essentielle). L'huile essentielle est différenciée de l'hydrolat (eau aromatique) en raison de leur différence de densité et de couleur. Elle est séparée de l'hydrolat par décantation (**Fig14**). Ensuite, elle est séchée à l'aide de sulfate de

sodium anhydre (Na_2SO_4), puis récupérée et conservée dans des flacons en verre, soigneusement scellés et stockés dans un endroit frais (à 4°C), à l'abri de la lumière (**Fig 16**).



Figure 14 : décantation (originale) Figure 15 :Montage d'hydrodistillation

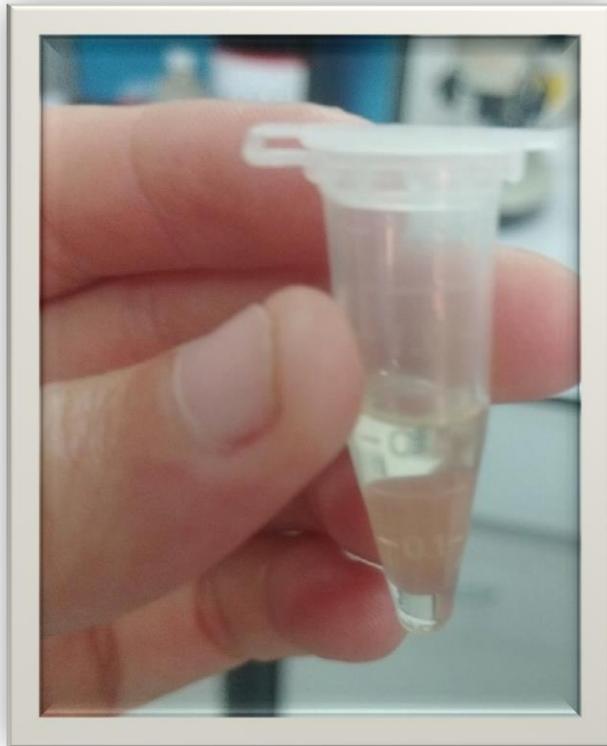


Figure 16 : huile essentielle du Romarin

II.2.3. Détermination de rendement de l'huile essentielle

- Selon (AFNOR., 2000) le rendement en huile essentielle exprimé en volume d'huile (ml) obtenu à partir de 100 g de matière végétale sèche

Parla

relation suivante :

$$\text{Rdt} = \left[\frac{v}{ms} \times 100 \right] \pm [\Delta v) ms \times 100]$$

Rdt (%) : rendement en huiles essentielles (ml/g).

V : volume d'huiles essentielles recueilli.

ΔV : erreur sur la lecture.

Ms : masse végétale sèche.

II.3. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentiel de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de champignon phytopathogène *Fusarium verticillioides*

-Préparation de milieu PDA et collages des boites pétries :

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) utilisé pour cultiver le champignon *F. verticillioides*, il a été préparé à partir de PDA déshydraté a raison de 42 g pour un litre d'eau distillée, puis autoclavé a 120 °C, puis laissé refroidir jusqu'à 60 °C puis coulé dans les boites de pétri.



Figure 17 : Coulage des boites pétries

II.3.1 Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

Pour évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles testées sur les souches fongiques étudiées, deux techniques de confrontation ont été employées :

II.3.1.1 Technique de confrontation direct

La confrontation direct « souches fongiques/HE » est une technique qui consiste En le diffusé de l'HE en plaçant sur un disque de papier Wattman de 6 mm de diamètre Ce disque est placé à la surface de milieu PDA et a une distance égale a 4 cm de disque mycélien de la souche de *Fusarium* étudiée.

Dans chaque boîte de Pétri, on place sur une surface de milieu PDA un disque mycélien de 6 mm prélevé à partir d'une culture de 10 jours. Puis a une distance de 4 cm on place un disque de papier Wattman stérile de 6 mm de diamètre, et on utilise une micropipette pour l'imbiber avec 20µl de l'huile essentielle ou de sa dilution.

Quatre doses de l'huile essentielle ont été testées(**fig.18**)

- ✓ **D1** : Contenant 20µl de l'huile essentielle seul.
- ✓ **D2 1/2** : contenant 10µl de HE et 10 µl DMSO
- ✓ **D3 1/5** : contenant 4 µl de HE et 16 µl DMSO
- ✓ **D4 1/10** : contenant 2 µl de HE et 18 µl DMSO
- ✓ **Témoin** : contenant 20 µl de DMSO seul.

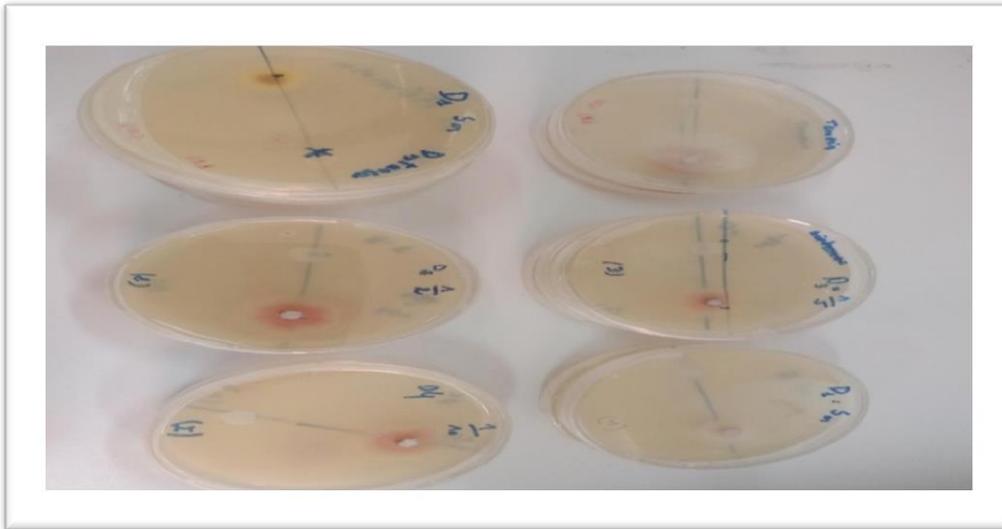


Figure 18 : Doses utilisé pour l'activité antifongique (originale)

Les boîtes ont été incubées à 24 °C, la mesure de diamètre des colonies s'effectue quotidiennement

Pour la calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches testées a été effectué comme suit :

$$Ic (\%) = (D0 - Dc) / Dx * 100$$

Ic : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D0 : la croissance diamétrale du témoin

Dc : la croissance diamétrale de la souche fongique testée en présence de l'huile essentielle

II.3.1.2. Technique de confrontation indirecte

Ce teste a été réalisé dans le but dévaluer la capacité antifongique des composés volatiles de l'huile essentielle.

Placer le disque de mycélium du champignon au centre de la boîte de pétri contenant de l'agar PDA. Les champignons antagonistes ont ensuite été striés sur une autre gélose nutritive ordinaire. Les couvercles des deux boîtes ont été jetés et les fonds contenant les

PDA ont été collés (chevauchement ou en sandwich) avec du parafilm (**fig.17**). Les agents pathogènes sont placés sur les antagonistes. Placer une boîte de pétri de contrôle contenant un disque de mycélium pathogène déposé sur la surface du gélose PDA chevauchant le fond d'une boîte de gélose nutritive non inoculée. Toutes les boîtes ont été incubées pendant 72h à 22°C dans une chambre climatique (photopériodes de 14 h et 90 % d'humidité). Trois boîtes ont été utilisées pour chaque modalités (isolat et contrôle) et l'expérience entière a été répétée trois fois indépendamment (**Barakat *et al.*,2014**).

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PGI) du pathogène est calculé comme suit :

$$\text{PGI (\%)} = (C - T/C) * 100$$

PGI (%) : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D0 : La croissance diamétrale du témoin

DC : La croissance diamétrale de la souche fongique testé en présence de l'huile essentielle

Résultat et discussion

III. Résultats et discussion

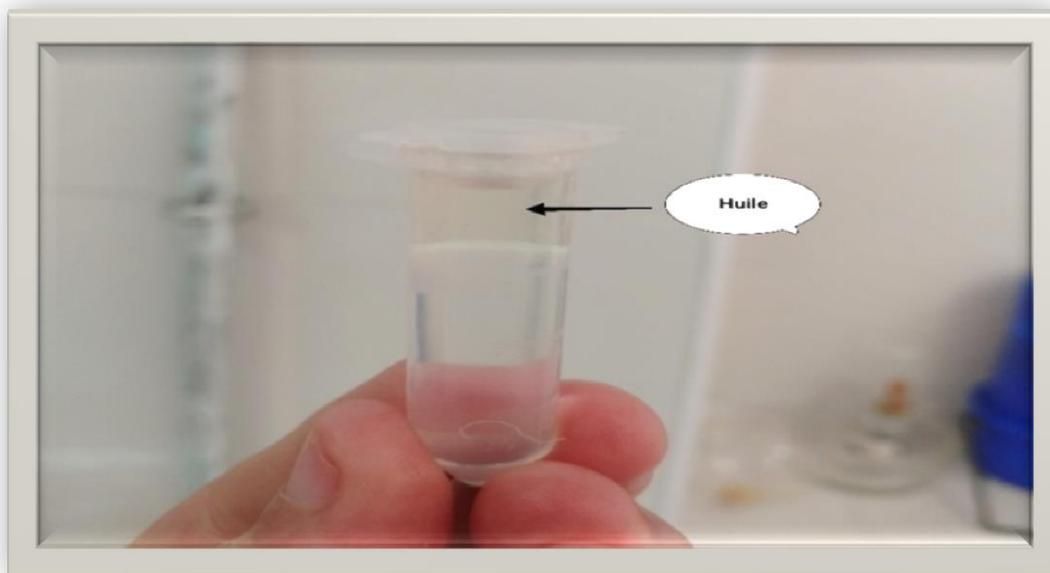
III.1. Résultats

III.1.1. Paramètres organoleptiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle obtenue par l'hydrodistillation (HD) de *Rosmarinus officinalis* L., selon son odeur, sa couleur et son aspect sont regroupés dans le tableau suivant :

Plante	Odeur	Couleur	Aspect
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Forte ✓ Camphrée ✓ Fraiche 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Jaune Claire 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Liquide mobile

Tableau 01 : caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*



L.

Figure 19 : l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.(originale)

III.1.2. Rendement en huile essentielle

Espece	Quantité de la biomasse (en g)	Quantité de l'huile essentielle (en g)	Rendement (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	50 g	0,121 g	0,24

Tableau 02 : Rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

III.1.3. Caractérisation de *Fusarium verticillioides* au niveau microscopique et macroscopique :

Fusarium verticillioides est un champignon microscopique imparfait. Au niveau macroscopique, la colonie mycélienne de ce champignon présente généralement une coloration rose sur le milieu de culture PDA. Le mycélium lui-même est de couleur blanche rosée (**fig.20**). Ce champignon a une croissance moyenne sur le milieu PDA, avec un diamètre de colonie atteignant plus ou égale à 5,5 cm.

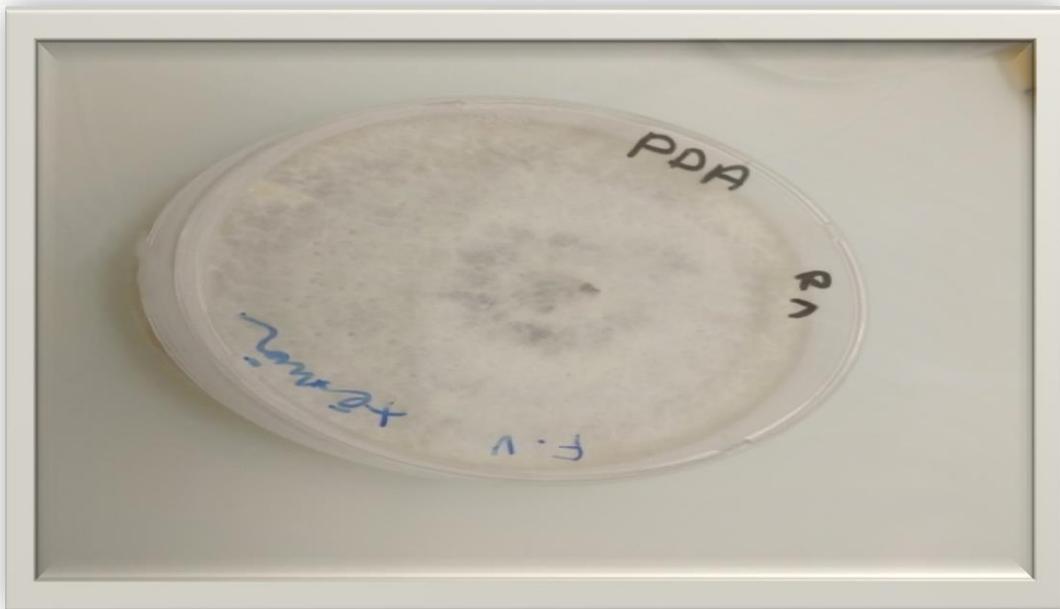


Figure 20 : *Fusarium verticillioides* dans le milieu PDA (originale)

Sous microscope, on observe que les conidiophores de *Fusarium verticillioides* sont peu ramifiés. Sur le milieu de culture PDA, ces conidiophores produisent de nombreuses micro-conidies unicellulaires, hyalines, ovales, et parfois bicellulaires.

Sur le milieu de culture SNA, les micro-conidies sont également produites en abondance et organisées en fines chaînes très longues. Ces caractéristiques sont spécifiques à *Fusarium verticillioides* (Nelson *et al.*, 1983).

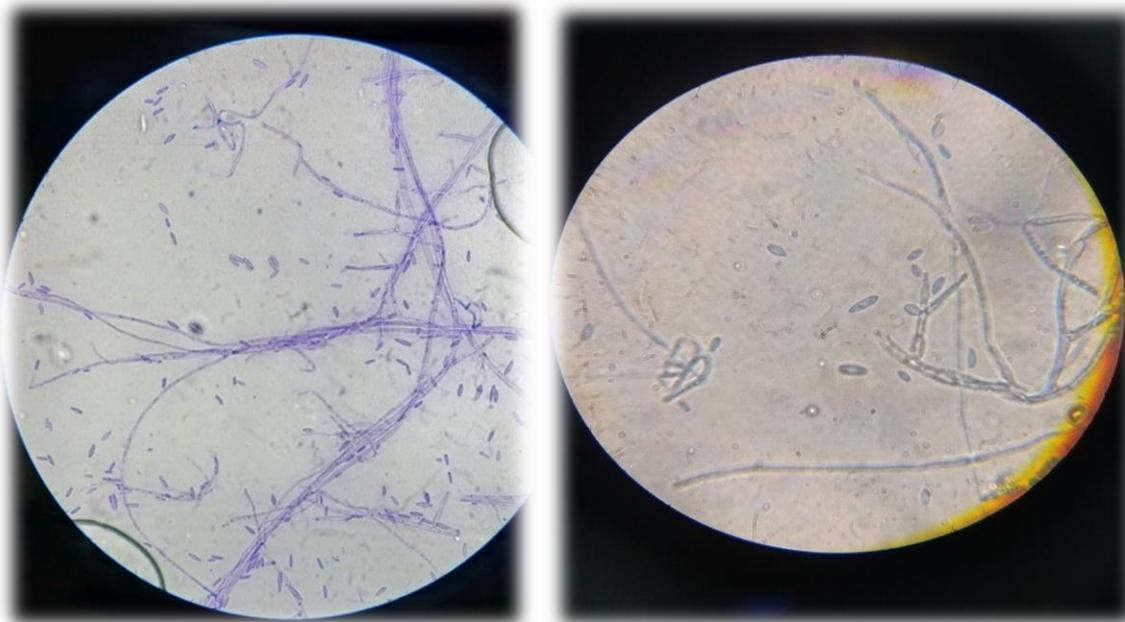


Figure 21 : observation microscopique de *F. verticillioides* dans le milieu PDA **Figure 22 : observation microscopique de *F. verticillioides* dans le milieu SNA**

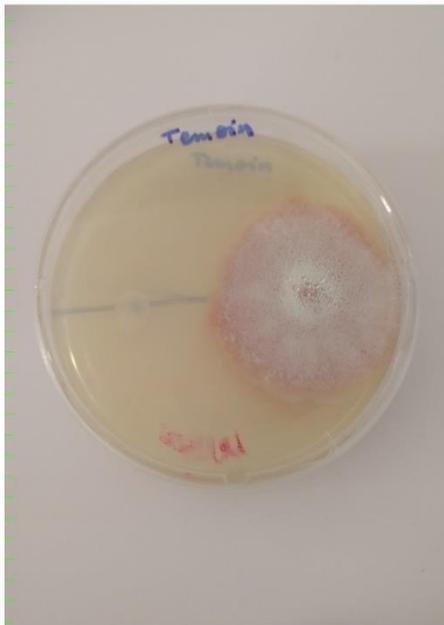
verticillioides dans le milieu PDA

verticillioides dans le milieu SNA

III.1.4. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., sur le champignon *Fusarium verticillioides*

III.1.4.1. Résultats des observations de la croissance mycélienne sur les boîtes

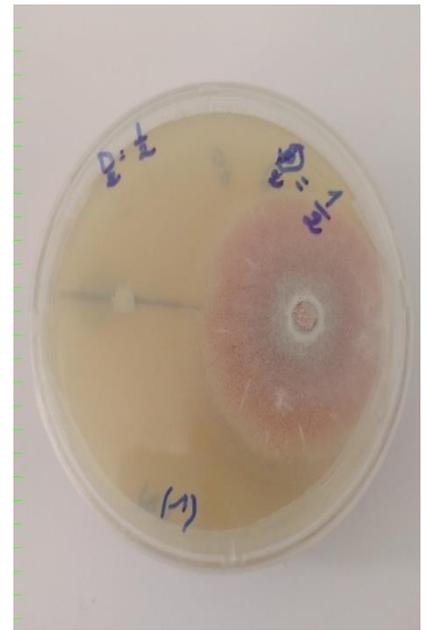
Les résultats des observations de la croissance mycélienne sur les boîtes de pétri sont représentées dans les (fig.22) et (Fig.23).



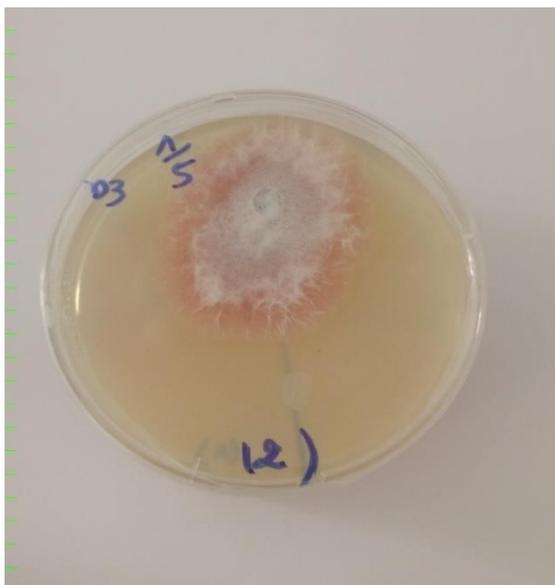
Témoin.



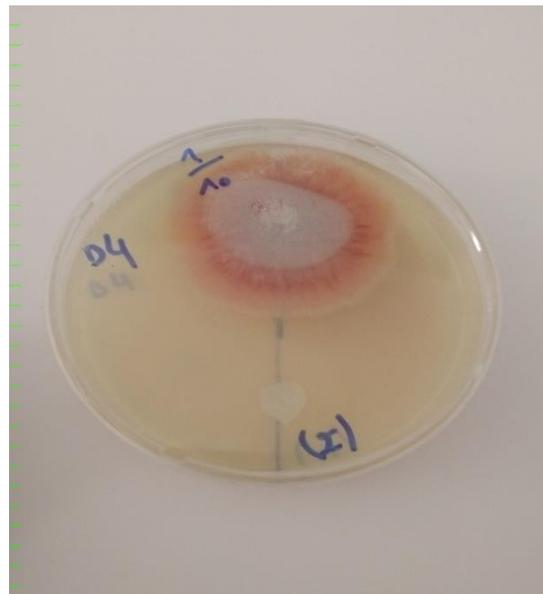
Dose 01.



Dose 02



Dose 03.



Dose 04

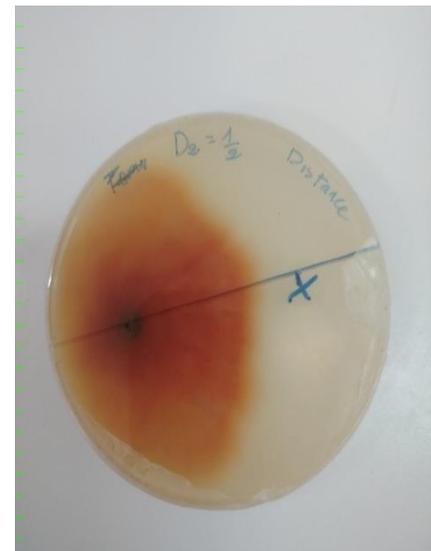
Figure 22 : Croissance mycélienne de *Fusarium verticillioides* sur le milieu PDA par confrontation directe (originale).



Témoin



Dose 1.



Dose 2

Figure 23: Croissance mycelienne de *Fusarium verticillioides* sur le milieu PDA par de confrntation indirecte (originale)

III.1.4.1.1. Résultats de la croissance mycélienne de champignon par la technique de confrontation direct

Les résultats obtenues du test de confrontation direct de l'huile essentielle de *R. officinalis* L., sur la croissance mycélienne de *F. verticillioides* est représenté dans la (fig.25).

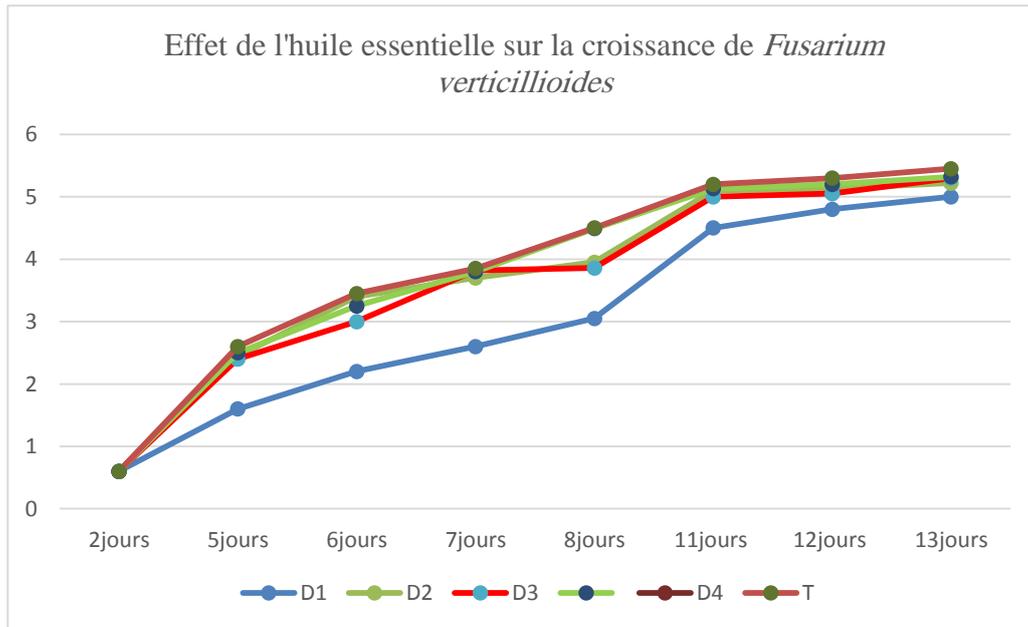


Figure 25 : effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne de *Fusarium verticillioides* par la méthode de confrontation direct

Les résultats obtenus pour le test de l'activité de l'huile essentielle testée sur la croissance mycélienne de champignon phytopathogène *F. verticillioides* varie considérablement en fonction des concentrations des doses utilisé pour l'huile essentielle du romarin.

L'examen des résultats obtenus après la culture du champignon *F. verticillioides* confronté aux huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

La croissance mycélienne du champignon phytopathogène est similaire pour toutes les concentrations des doses utilisés pour l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L., dans le deuxième jour de notre test

Après 2 jours de notre test on observe une augmentation de la croissance mycélienne de champignon phytopathogène *F. verticillioides*.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., Exerce un effet inhibiteur de la croissance champignon phytopathogène.

• Taux d'inhibition pour chaque dose de l'huile essentielle du Romarin par le test de confrontation direct

Le taux d'inhibition est calculé dans le tableau suivant par la loi :

Pourcentage d'inhibition = $100 \times [(DMT - DME) / DMT]$

	2jours	5jours	6jours	7jours	8jours	11jours	13jours	15jours
D1	0%	38.46%	36.23%	32.46%	32.22%	13.46%	9.43%	8.25%
D2	0%	5.76%	4.44%	3.89%	0.73%	1.92%	3.20%	4.22%
D3	0%	7.69%	13.04%	12.86%	12.22%	3.84%	4.71%	5.75%
D4	0%	3.84%	5.79%	1.29%	0.22%	1.43%	4.83%	5.88%

Tableau 03 : Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de confrontation direct

L'examen des résultats obtenus après 2 jours de culture du champignon *F. verticillioides* confronté aux huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

- Aucune zone d'inhibition de la croissance mycélienne du *F. verticillioides* n'a été observé pour toutes les concentrations des doses dans les deux premiers jours de test (0%). La souche est dite résistante.

- La zone d'inhibition est moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 32% et 38% dans le 5^{ème} jour jusqu'à 8 jours, la souche est dite limitée. Après 11 jours l'inhibition comprise entre 8% et 13%, la souche est dite peu sensible

- La zone d'inhibition est peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0% et 13%. Après 5 jours de test, la souche est dite peu sensible ou résistante (Dose 2, Dose 3, Dose 4).

III.1.4.1.2 Résultats de la croissance mycélienne de champignon par la technique de confrontation indirecte

Les résultats obtenus du test de confrontation direct de l'huile essentielle de *R. officinalis*. Sur la croissance mycélienne de *F. verticillioides* est représenté dans la ! (fig.26).

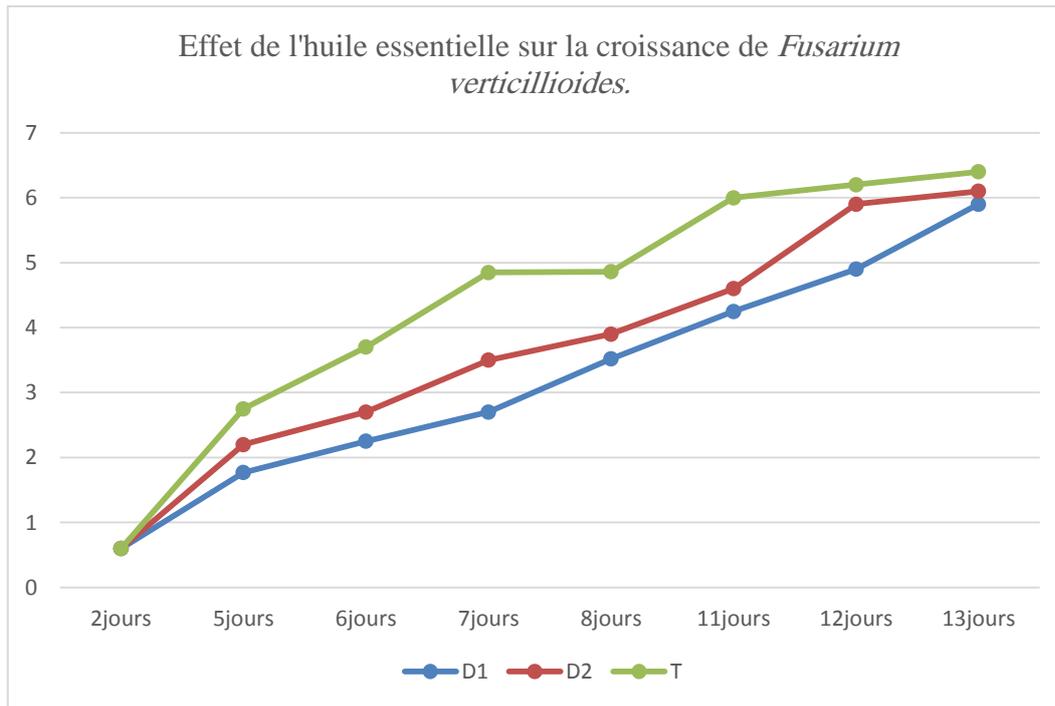


Figure 26 : Effet de l’huile essentielle sur la croissance de *Fusarium verticillioides* par la méthode de confrontation indirect.

L’examen des résultats obtenus après la culture du champignon *F. verticillioides* confronté aux huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

La croissance mycélienne du champignon phytopathogène est similaire pour toutes les concentrations des doses utilisés pour l’huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*. L dans le deuxième jour de notre test

Après 2 jours de notre test on observe une augmentation de la croissance de champignon phytopathogène *Fusarium verticillioides*.

Les résultats montrent que l’huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. Exerce un effet inhibiteur de la croissance de champignon phytopathogène.

• **Taux d'inhibition pour chaque dose de l'huile essentielle du romarin par le test de confrontation indirect**

	2jours	5jours	6jours	7jours	8jours	11jours	13jours	15jours
D1	0%	35.63%	39.18%	34.93%	22.64%	21.29%	20.96%	13.81
D2	0%	20%	37.03%	27.83%	19.75%	23.33%	4.86%	4.68%

Tableau 04 : Taux d'inhibition pour chaque dose de l'HE par la méthode de confrontation indirect

L'examen des résultats obtenus après 2 jours de culture du champignon *F. verticillioides* confronté aux huiles testées, a permis de soulever les constatations suivantes :

- Aucune zone d'inhibition de la croissance mycélienne du *F. verticillioides* n'a été observé pour les deux concentrations des doses dans les deux premiers jours de test(0%).La souche est dite résistant.

- La zone d'inhibition est moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 13%et 39 % après 5 jours jusqu'un 11jours, la souche est dite sensible.

Les résultats obtenus montre que l'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L., contre ce champignon phytopathogène.

III.2.Discussion

III.2.1.Paramètres organoleptique de l'huile essentielle

Les paramètres organoleptique de notre huile essentielle (l'odeur, la couleur, l'aspect) sont en accorde avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR** , ce qui indique que l'huile extraite de *Rosmarinus officinalis* L., de la région de Akbou présente une bonne qualité sensorielle.

Cependant, les caractéristiques sensorielles telles que la couleur, l'odeur et l'apparence fournissent uniquement des indications initiales sur la qualité d'une huile essentielle. Étant donné que ces propriétés ne fournissent que des informations limitées sur cette huile, il est nécessaire d'utiliser d'autres techniques de caractérisation plus précises. Les normes

acceptées pour évaluer la qualité et la valeur commerciale des huiles essentielles reposent sur des indices physicochimiques (**Bouaoune, F. et al, 2020**).

III.2.2. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de notre plante (*Rosmarinus officinalis. L*) est exprimé en pourcentage par rapport à la masse utilisée de la matière sèche du végétal (g/100g).

La plante *R. officinalis. L* fournit un taux d'environ 0.24 %. Ce dernier taux est inférieur que celui obtenu de la même espèce dans l'étude de (**Zemour, 2020**) de l'ordre 0.38% et (**Mimouni, 2016**) de l'ordre 0.57% (**Berkani, 2013**) de l'ordre 1.35% et inférieur à celui de (**Baghloul, 2007**) de l'ordre 1.69% et (**Ayadi et al., 2011**) de l'ordre 1.85%.

Selon nos résultats nous pouvons dire que :

Malgré l'utilisation de la même technique d'extraction, on observe une variation dans le rendement. Cette variabilité peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que le stade de croissance de la plante, les conditions pédoclimatiques, la période de récolte, le moment de la récolte et le processus de séchage.

III.2.2.3 Discussion des résultats obtenus pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*, sur le champignon phytopathogène

L'analyse et l'interprétation des résultats de l'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*, la croissance de souche antifongique testée, montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*, possède une activité antifongique contre le champignon phytopathogène étudié.

L'évaluation de l'activité antifongique de cette HE a montré que les variations d'inhibition sont en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'huile essentielle, ainsi que la souche fongique étudiée. Ainsi, les différences observées entre les activités antifongiques des différentes HE étudiées peuvent être attribuées à des différences dans leurs fractions actives.

Nous avons utilisé différentes doses pour tester l'efficacité d'une huile essentielle. Cependant, l'inhibition n'a pas atteint un taux maximal de 100%. Tandis que ce travail de recherche doit être complété par d'autres études afin d'évaluer la dose qui inhibe la croissance à 100%. En effet, plusieurs chercheurs (**Boutarfaia et Benyahia, 2015 ; Belhamel**

et al, 2021) rapportent que les champignons ont montré une sensibilité accrue à l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle dans leur milieu de culture. Où le diamètre de la colonie se réduit à chaque fois qu'on augmente la dose jusqu'à une inhibition totale où aucune croissance n'est observée.

L'effet de l'huile essentielle de romarin sur la croissance mycélienne de champignon étudié a montré que ce champignon est sensible vis-à-vis cette huile avec des taux d'inhibition entre 20% et 30%. D'autre part, Pour l'espèce de *Fusarium*, cette huile a exercé un effet inhibiteur sur la croissance comparé au témoin.

L'activité antifongique des huiles essentielles a été démontré que les effets antifongiques de ces huiles essentielles inhibent la croissance du *Fusarium verticillioides*. Certains auteurs (**Belhamel et al, 2021 ; Boutarfaia et Benyahia, 2015**). Ces auteurs ont constaté que le diamètre de la croissance mycélienne diminuait à mesure que le dosage du diamètre mycélien d'huile essentielle augmentait. Cela reflète probablement la présence de composés plus actifs. Augmente la concentration des huiles essentielles. Certains chercheurs (**Khaldi et al., 2021 ; Abou Nabila, 2017**). Ils ont signalé que l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles est affectée par la méthode de test utilisée.

Les résultats obtenus suggèrent l'utilisation des huiles essentielles comme agents antifongiques potentiels pour lutter contre les champignons pathogènes (**Hamdani et al, 2021**).

Conclusion

Conclusion générale

Sur la base des informations recueillies à partir de la synthèse bibliographique, nous pouvons citer

Sur le plan économique, le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, il se développe en tant que pathogène secondaire sur les tissus végétaux. Cette espèce peut attaquer les céréales en provoquant d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte.

Les huiles essentielles de romarin cultivé dans la région d'Akbou (Béjaïa) ont été obtenus par hydrodistillation. L'étude de ces huiles essentielles extraites montre que :

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle (l'odeur, la couleur, l'aspect) sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR ce qui indique que l'huile extraite de *Rosmarinus officinalis* présente une bonne qualité sensorielle. Cependant, les caractéristiques sensorielles telles que la couleur, l'odeur et l'apparence fournissent uniquement des indications initiales sur la qualité d'une huile essentielle.

Le rendement en huile essentielle est variable selon la localisation géographique, en effet, cette variabilité peut être due aux facteurs climatiques, la nature du sol, le cycle végétatif de la plante, le mode d'extraction ou même selon l'âge

L'effet de l'huile essentielle de romarin sur la croissance mycélienne de champignon étudié a montré que ce champignon est sensible vis-à-vis cette huile avec des taux d'inhibition entre 20% et 30%. D'autre part pour l'espèce de *Fusarium*, cette huile a exercé une bonne activité antifongique.

Comme perspective et en vue de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait nécessaire également:

- _ De complété cette étude par l'identification des composés qui possèdent un pouvoir rotatoire
- _ D'étudié la variation de la compositions en huile essentielle selon les saison ou les mois
- _ D'exploiter la richesse de la flore algérienne pour créer de nouvelles espèces d'études et donner naissance à plusieurs idées dans le domaine de biotechnologie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

1. **Abou Nabila, F. (2017)**. Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L (Doctoral dissertation).
2. **AFNOR., 2000**) Huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyses monographies relatives aux huiles essentielles.
3. **AFSSA. (2006)**. Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale, décembre 2006.40.
4. **Aissani F., 2015**. Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles essentielles *Thymus ciliatus* (Zaitra) et *Ammoïdes verticillata* (Nunkha). Mémoire pour l'obtention du diplôme Master en Agronomie, option technologie des industries agroalimentaires, Département d'Agronomie, Université Aboubaker belkaid, Tlemcen : 76 p.
5. **Aït Youssef, M(2006)**. Plantes médicinales de Kabylie. Ibis press, Paris, p 4.
6. **Agrios, G.(1988)** Plant Pathology, In : Noriega Group, editor. Plant Pathology, 3rd Ed. Mexico : Academic Press. 803 p.
7. **Agrios, G.N. (2005)**. Plant Pathology ,5ème édition. Department of Plant Pathology University of Florida ; Elsevier Academic Press. 948 p.
8. **Amarti F et al.,(2010)**. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 14(1) : 141-148.
9. **Andreas, K.,et al (2008)**. La Fusariose : maladie du blé *Fusarium* spp . and *Microdochium nivale*. BASF : The Chemical Company.67p.
10. **Aouis N.,(2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de Fenouil et de persil. Thèse de Doctorat en chimie organique. Université d'Oran 01 : 239p.
11. **ARNOLD N.et al (1997)**. «Comparative Study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. officinalis* L. from other countries». J.essent.Oil Res. 9 (1997), 167-175.
12. **Attou A., 2017**. Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent). Etude de Leurs Activités antioxydante et antimicrobienne, Thèse de Doctorat en Biologie, Option :Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse, Université Abou Bekr Belkaid, Telemcen : 9 p.

Références bibliographiques

13. Ayadi S., Jerribi C. & Abderrabba M.,(2011). Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. J. Soc. Alger. Chim., 21 (1) : 25-33.Press, University Park, Pennsylvania, USA, 193 p.

B

14.Baghloul F.,(2007). Caractérisation chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Romarin. Mémoire Magister en Biochimie Appliquée. Univ. Badji Mokhtar-Annaba, 62 p

15.Barakat, f et al. (2014). Effect of volatile and no volatile compounds of trichoderma spp. On botrytis fabae the causative agent of faba bean chocolate spot. American journal of life sciences, 2(6-2), 11-18.

16.Beckman,C.(1987). The Nature of Wilt Diseases of Plants. (St. Paul, MN : American Phytopathological Society Press).55p.

17. Beckman, C.H., Roberts, E.M.(1995). On the nature genetic basis for resistance tolerance of fungal wilt diseases. Advances in Botanical Research, 21, 35-77.

18.Belhamel, I. Belaachi, E.et al (2021). Les Huiles essentiels a usage thérapeutique.

19.Benabdelkrim N.,(2013). Contribution à l'étude du rendement et du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Piturantho schloranthus* de la région de Biskra. Mémoire présenté en Vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie. Option : Biochimie appliquée département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen : 28

20.Benchikch,S (2017). Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* spp *Aurasianum Labiatae*. Thèse de doctorat, département des Génie des procédés, Université de Kasdi Merbah-Ouargla.

21.BENIKHLEF A,(2014). Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effet Antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla . Thèse de master, Universités de Tlemcen,27 p.

22.Bennett, J. W., Klich, M. (2003). Mycotoxins. American Society for Microbiology, 16, 497-516.

23.Berkani, I et al.,(2013). Détermination de l'effet antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de Master en biologie. Spécialité : Biologie moléculaire des procaryotes. Université 08 Mai 1945 Guelma. P 72.

Références bibliographiques

24. Ben Sultane F., et Bahri F. (2017). Activité antioxydante des huiles essentielles du Gingembre (*Zingiber officinale*) et du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master, option : Analyses biologiques et biochimiques, département de Biologie, Université de Djilali Bounaama, Khemis Miliana, Algerie, 57p.

25. Bouaine, A. (2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales : Lentisque et Myrte. Master, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès : 44 p

26. Bouaoune, F. et al., (2020). Etude de rendement et caractères organoleptiques de l'huile essentielle d'une plante activité anti microbienne importante Rosmarinus off. Mémoire de Master sciences biologiques. Option : microbiologie appliquée : Université de Larbi Tébessi – Tébessa, page 43.

27. BOULLARD et al (2010). L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla.

28. Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Docteur en Science spécialité chimie. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique. 175 p.

29. Bouterfas K et al., (2016). La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Journal de Mycologie Médicale. N° 26 : 201-211.

30. Bruneton J., 1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc. Lavoisier, Paris : 915 p.

31. Botton, B., et al (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2e Ed Masson. Paris, Milan, Barcelone et Mexico. 512p.

C

32. Camara B., et al (2010). Lutte biologique contre *Deightoniella torulosa* (Syd.) Ellis, par l'application des huiles essentielles d'*Eucalyptus platyphylla* F. Muell. Et de *Melaleuca quinquenervia* L., volume : DOI 10.1007/s10298-010-0568-3, phytothérapie et écologie, Springer-Verlag France : 240-244.

Références bibliographiques

- 33. Castegnaro, M., Pfohl-Leskowicz, A. (2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. Moll & Moll (eds) Lavoisier. 28p .
- 34. Chehri, k. Jahromi, s et al (2010).** Occurrence of *Fusarium* spp, And Fumonisin in stored wheat Grains Marketed in Iran, *Toxins*, 2, 2816-2823.
- 35. Chenni, M., (2016).** Etudes comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic *Ocimum basilicum* L. extraite par l'hydrodistillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. 185 p.
- 36. Cronquist A., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York. 1262 P.

D

- 37. Debieu, D., et al . (2000).** Inhibition of Ergosterol biosynthesis by Morpholine, Piperidine, and Spiroketalamine Fungicides in *Microdochium nivale*: Effect on Sterol Composition and Sterol $\Delta 8 \rightarrow \Delta 7$ -Isomerase Activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 67 (2), 85-94
- 38. D'Mello ,J., Macdonald ,A. (1997).** Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*. 69, 155–166.

E

- 39. El Laib A., (2011).** Valorisation des terpènes naturels issus de plantes marocaines par Transformations catalytiques. Thèse de Doctorat en biologie, option Chimie organique et Catalyse, Département de biologie, Université Paul Sabatier, Toulouse III – France : 157 p.
- 40. El-Wakil, D. A. (2013).** Wheat seed-Borne Mycoflora, pathogenicity of evaluation of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.,) leaves volatile oil and its methanolic.

H

- 41. Hajji F., et al (, 2012).** Étude des compositions Chimiques de quelques espèces d'Eucalyptus du Maroc. *Al Biruniya, Rev. Mar. Pharm.* 5 (2) : 125-132.
- 42. Hamdani F., (2016).** Déterminisme moléculaire de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites à partir des feuilles d'agrumes, Thèse de Doctorat en biologie, option Agronomie, Université Hassiba Ben bouali, Chlef : 144 p.
- 43. Hamdani, F. Ziri, S. et al. (2021).** Fort potentiel antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*. *Phytothérapie*, 19, 190-194.

Références bibliographiques

44.Haware ,et al (1978). Eradication of F. Oxysporum f. sp. Ciceris transmitted in chickpea seed. *Phytopathology*, 68,1364-1367.

45.Hellal, Z. (2011). Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de Certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la Sardine (*Sardina Pilchardus*). Mémoire de magister en biologie, Departement des sciences biologiques, Universite Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 120 p

46.HEINRICH, M.el al.,(2006). «Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences». *J Ethnopharmacol.* 107, (2006), 157-160.

47.Hussein ,H.S., Brasel,J. M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of Mycotoxins on humans and animals. *Toxicology.* 167,101–134.

J

48.Jean-Claude Rameau et al (2008). Flore forestière française : Région méditerranéenne, 2008.Cité par Frouhet Z et Lahini B. Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mén. Mas. Biochim app. Université Kasdi Merbah-Ouargla., 29 ;2013.

49. Jeunot, B . (2005) . Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation. T h è s e : pour obtenir le diplôme d'étatde docteur en Pharmacie. Université H e n r i P o i n c a r é – N a n c y 1.87p.

K

50. Kaloustian J., et Hadji-Minaglou F., 2012. La connaissance des huiles essentielles : qealitologie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale Raisonnée, Springer- verlag, Paris-France : 17-160.

51. Khaldi, F.AMAR, A., et a (2021). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Origanum floribundum* Munby. Et *Thymus capitatus* L. sur *Aspergillus Fumigatus*.

52.Klein,K.K.,Correll,J.C.(2001). Vegetative compatibility group diversity.In : Summerell BA, Leslie JF, Beckhouse D, Bryden WL, Burgess LW (eds) *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St Paul, MN, 83–96 p.

53.Koehler, B., et al. (1924). Wbeat scab and corn root caused by *Gibberella saubinetti* in relation to crop successions. *Journal of Agricultural Research.* 61p.

54. Kofidis, C.,et al.(2004). An electrophysiological study of errorless learning.*Cognitive Bran Researcg*, 19(02), 160_173.

L

Références bibliographiques

- 55. Labiod R., et Aouadi S., 2016.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en biochimie, option biochimie appliquée, Département de Biochimie, Université Badji Mokhtar-Annaba : 128 p.
- 56. Laib I., 2012.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des Fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Revue « Nature & Technologie », N° 07, 44-52.

M

- 57. Manach C. (2004).** Polyphenols : food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79, N° 5, p.p. 727-747.
- 58. Marianne P., (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire présenté à l'université du Québec à Chicoutimi comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables, 5 p.
- 59. Martin, R. (2004)** .Les fusarioses chez les céréales dans le Canada Atlantique, centre de recherche sur les cultures et les blés.
- 60. Meghazi N., 2012.** Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme du magistère en sciences agronomiques option santé végétale et environnement, école nationale supérieure Agronomiques El Harrach, Algérie : 76 p.
- 61. Mesterházy, Á., et al (2003).** Influence of wheat cultivar, Species of *Fusarium*, and isolate aggressiveness on the efficacy of fungicides For control of *Fusarium* head blight. *Plant Disease*, 87 (9), 1107-1115.
- 62. MIMOUNI, M.(2016).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane. Master en biologie. Spécialité : Valorisation des substances Naturelles végétales. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P 65.
- 63 . Modzelewska A., et al.,(2005).** Sesquiterpenes : Natural Products that decrease cancer growth. *Current. Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents*. N° 5 : 477-499.
- 64. Morcia C., Mehani M., et al(2015).** On the role of natural compounds in mycotoxigenic fungi. Control the battle against Microbial Pathogens. A. Méndez-Vilas : 193-197.

Références bibliographiques

65. Mouas, y (2018). Effet comparative des paramètres physiologiques, Biochimiques et Thérapeutique de Romarin *Rosmarinus officinalis* L., Thèse de doctorat spécialité amélioration des productions végétales. Université Saad Dahleb de Blida. 165 p.

66. Mouas, y.(2018). Effe tcomparatif des parametres physiologiques, Biochimiques et therapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis* L.thèse de doctorat en Sciences agronomiques. Option : Amélioration des productions végétales Université Saad dahleb BLIDA. 165 p.

N

67.Nelson, P.et al., (1983). *Fusarium species – An illustrated manual for identification.* The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA, 193 p.

O

68. O'Donnell,k.et al (2015). DNA sequence-based identification of *Fusarium* : current status and future directions. *Phytoparasitica*, 43 (5) : 583-595.

P

69. Peraica ,M.,et al (1999). Toxic effects of Mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organisation* ,77,754-766.

70. Pfohl-Leszkowicz ,A et al.,(1995). Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin : DNA adducts formation in female mouse tissues. *Carcinogenesis* ,16, 2315-2320

71. Pfohl-Leszkowicz ,A., Castegnaro ,M. (2002). Rôles des mycotoxines dans

72. Prapagdee, B.et al.,(2008). Antifungal potential of extracellulaires metabolite produces by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4 : 330-337.

Q

73.Quezel, P., et Santa s, (1963) Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales Tome II. C.N.R.Sc. Paris.781-783-793p

R

74. Rioux, S., Pouleur, S.,Langevin, F. (2003). Comment réduire les risques de Fusariose chez l'orge. *Grandes cultures, La Terre de chez nous* , 1-5 p.

75. Rossi, v. et al (2008). Effect of environnementale conditions on spore production by *Fusarium verticillioides*, the causal agent of maize ear rot. *European Journal of plant pathology* 123 :159-169.

S

Références bibliographiques

76. Scimeca D.,(2007). Les plantes du bonheur, Ed. Alpen : 12-17.

T

77. Tabuc, C . (2007) .Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse : pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique et de l'université de Bucarest. O p t i o n : Pathologie, Mycologie, Génétique Et Nutrition.

78. Tekauz, A.,et al. (2000). Fusarium head blight of barley In western Canada. Canadian Journal of Plant Pathology, 22 (1), 9-16.

79. Teuscher E.et al (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condimentet huiles essentielles. Ed. Lavoisier, Paris, 522p.

80 Toyoda, H.,et al.,(1988). Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology, 78,1307–1311.

81.Thangavelu R., A. palaniswani & R.Velazhahan .(2004).Mass Production Of *Trichoderma Harzianum* for managing Fusarium wilt of banana. Agricultural Ecosystems and Environment ,103,259-263.

Z

82.Zemour, M. (2020). Evaluation de l'activité antibactérienne et de l'activité antioxydante des huiles essentielle des feuilles de Romarin *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de master en science de la nature et de la vie, spécialité : Biotechnologie et volarisation des plantes. Université SAAD DAHLEB BLIDA. p 128.

Annexe

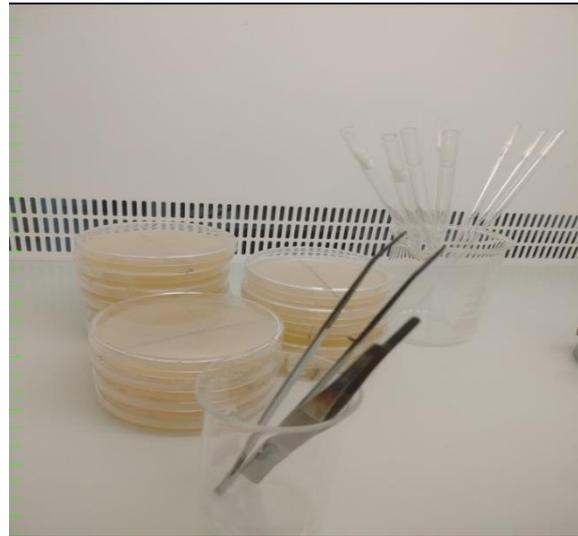
Annexe : Matériel utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique

Le matériel utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique est représenté dans l'annexe ci-dessus :

A : Verreries.

B : Appareils.

C : Produits



Papier whatmen.

Boites de pétries, pinces, pipette pasteur

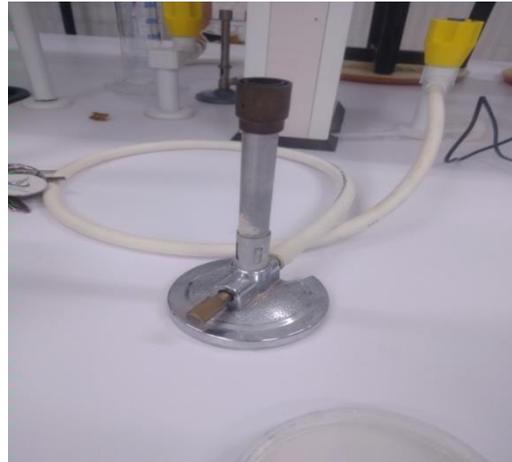


Annexe

Micropipette.

Parafilm. Lames Microscopique

A : Verreries utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique (originale).



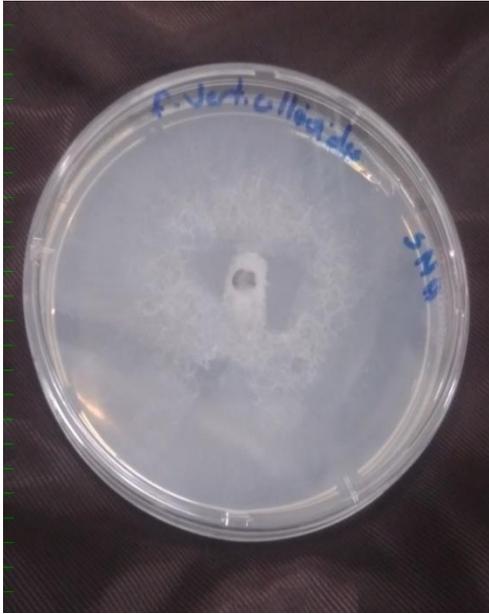
Étuve.

Bec Bunsen



Microscope optique

B : Appareils utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique (originale).



Milieu SNA.



Milieu PDA.



Bleu de coton.



DMSO

C : produits utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique (originale).

Résumé

L'objectif de notre travail est l'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis d'une souche fongique isolée et identifiée à partir de grains de céréales, purifiée et conservée dans le milieu PDA. L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger.

D'après les résultats obtenus, le rendement de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est de l'ordre 0.24%, cette valeur est exprimée en pourcentage par rapport à la masse utilisée de la matière sèche du végétal (g/100 g)

L'effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur la croissance métabolique de champignon *Fusarium verticillioides* a montré que ce champignon est sensible vis-à-vis de cette huile avec des taux d'inhibition entre 20% et 30%. Pour ce la l'huile essentielle a exercé un bon effet antifongique contre le champignon *Fusarium verticillioides*.

Mots clés: *Rosmarinus officinalis* L., *Fusarium verticillioides*., huile essentielle, extraction, activité antifongique.

Abstract

The objective of our work is the evaluation of the antifungal activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. against a fungal strain isolated and identified from cereal grains, purified and stored in the PDA medium. The extraction of the essential oil was carried out by the hydrodistillation method on a Clevenger type apparatus.

Based on the results obtained, the yield of *Rosmarinus officinalis* essential oil is in the order of 0.24%, this value is expressed as a percentage of the dry matter mass of the plant (g/100 g)

The effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* on the medium growth of the fungus *Fusarium verticillioides* showed that this fungus is sensitive to this oil with inhibition rates between 20% and 30%. For this the essential oil exerted a good antifungal effect against the fungus *Fusarium verticillioides*.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L., *Fusarium verticillioides*, essential oil, extraction, antifungal activity.

الملخص.

Rosmarinus تقييمًا لنشاطا لمضاد للفطريات للزيت العطري-

حبوب الحبوب ومنقاة *Rosmarinus officinalis* L.. Il s'agit d'un sujet important pour la recherche sur *Rosmarinus officinalis* L.. تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي على جهاز PDA ومحفوظة في وسط

Le clevenger a un taux d'intérêt de 0,24 % *Rosmarinus officinalis* et est en mesure de le faire.

ة كنسبة مئوية بالنسبة إلى الكتلة المستخدمة من المادة الجافة للنبات (جم / 100 جم).

و 20 30 by معدلات تثبيط تتراوح *Rosmarinus officinalis* et de *Fusarium verticillioides*. Il s'agit de *Rosmarinus officinalis* et de *Fusarium verticillioides*. لهذا, مارس الزيت العطري تأثيرا مضادا جيداً

زيت *Fusarium verticillioides*, *Rosmarinus officinalis* L., *Fusarium verticillioides* الفطريات عطري, استخراج, نشاط