MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Réf : ……./UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière** : Sciences Agronomiques
Spécialité : Phytopathologie

Présenté par :

GORRI Bachira

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.*

Soutenu le : 03 / 07 /**2019** **Devant le jury composé de :**

Nom et Prénom	*Grade*		
Mme BOUBEKKA Nabila	*MCB*	*Univ. de Bouira*	*Président*
Melle MEBDOUA Samira	*MCB*	*Univ. de Bouira*	*Promoteur*
Mme TAFIFET LAMIA	*MAA*	*Univ. de Bouira*	*Examinateur*

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciement

Avant tout, nous remercie Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleurs conditions.

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon profond respect à ma Directrice de mémoire, Mr.MEBDOUA SAMIRA , pour sa patience, ses précieux conseils, la rigueur et l'orientation dont j'ai pu bénéficier.

Je remercie également tous les membres du jury d'avoir accepté de lire ce manuscrit et d'évaluer ce modeste travail : le Président de jury Boubekka nabila , le examinateur M Taffifat lamia .

Tous les enseignants du département des Sciences de la nature et la vie pour tous le savoir qui nous ont transmit, les personnes qui travaille dans le laboratoire de recherche, et grand merci à l'ingénieur de labo Mm Houria.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toutes les personnes qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail.

A vous tous, un grand Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avant tout à mes chères parents, qui ont tout sacrifié pour mon bien et qui ont éclairé ma route par leur compréhension, leur soutien. Je souhaite que dieu les garde en bonne et parfaite santé et leur donne une longue vie.

- *A mes chères sœurs*
- *A mes Chères frères*
- *A mes cousins et cousine*

A toute la famille Gorri et Yahiaoui

A mes belles amies : Rokia, Souhila, Fella, Sabrina, Rima, Siham, Rahil

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail

Bouchra….

Liste des abréviations

BHA : butylhydroxyanisole

BHT : butylhydroxytoluène

DCPA: Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar

C : concentration.

HES : Les huiles essentielles

EA : *Erwinia Amylovora*

EC**:** *Erwinia carotovora*

PDA: Potato Dextrose Agar

PG: Gallate de Propyle.

P. lentiscus.L **:***Pistacia lentiscus.L*

SNA: Synthetic Nutrient-poor Agar.

ul : microlitre

Liste des tableaux

Tableau 01:classification botanique de *P.lentiscus* L……. 20

Tableau 02: les concentrations des fongicides dans les solutions mères…… 34

Tableau 03 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques remplis par l'huile…… ……...40

Tableau 04 : les caractéristiques d'HE de *Pistacia lentiscus L*……. 41

Tableau 05 : Taux d'inhibition d'*Aspergillus niger* enregistrés avec les trois doses d'HE …… 50

Tableau 06: Taux d'inhibition d'*Aspergillus flavus* enregistrés avec les trois doses d'HE……..52

Tableau 07 : Taux d'inhibition de *Cladosporuim cladosporoides* enregistrés avec les trois doses d'HE……53

Tableau 08 : Taux d'inhibition de *Fusaruim verticilliode* enregistrés avec les trois doses d'HE…… 54

Tableau 09 : Le taux de germination et contamination des graines traités par l'HE de *P. lentiscus L*…… 57

Tableau 10 : Le taux de germination et contamination des grains traités par les Fongicides …….. 57

Tableau 11 : halo d'inhibition en mm provoqué par l'HE avec différentes concentration….....60

Liste des figures

Figure 1 : Formules d'un acide benzoïque et d'un acide cinnamique…… 4

Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes…….. 5

Figure 3: Structure générale de Tannins hydrolysables…… 6

Figure 4 : Formule générale des glucosinolates…… 8

Figure 5 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques…… 11

Figure 6 : Arbisseaux *P. Lentiscus L*……. 16

Figure 7 : Rameaux feuillés portant des panicules des fleurs de *P. Lentiscus L*…… 17

Figure 8 : Rameaux feuillés portants des fruits de *Pistacia lentiscus L*……17

Figure 9 : Aire de répartition du genre *Pistacia lentiscus L*……. 19

Figure 10 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus.L* des en Algérie…… 20

Figure 11 : Dispotif d'extraction …… 27

Figure 12 : agitations et stérilisation du milieu avec coulage des boites ……29

Figure 13 : les trois doses d du *P.lentiscus L*……. 31

Figure 14 : les étapes de l'essai de l'activité antifongique d'HE sur les grains …… 33

Figure 15 : trempage des graines de blé dans les trois solutions de fongicides ……. 35

Figure 16 : les suspensions bactériennes …… 37

Figure 17 : principe de la méthode de diffusion par disque …… 38

Figure 18 : Les étapes de l'expérience …… ……. ……39

Figure 19 : Colonie *Aspergillus flavus* sur milieu PDA…… 42

Figure 20 : Observation microscopique *d'Aspergillus flavus*…….... 43

Figure 21 :colonie *Aspergillus niger* sur milieu PDA…… 43

Figure 22 :Observation microscopique d*'Aspergillus niger*…… 44

Figure 23 : *Fusaruim verticillioides* sur milieu PDA(**a**) et sur le milieu SNA (**b**)…… 45

Figure 24 :Observation microscopique de *Fusarium verticilloides*…… 45

Figure 25 :*Fusaruim graminareum* sur milieu PDA (a) sur le milieu SNA (b) …… 46

Figure 26 : Observation microscopique des macroconidies du *Fusarium graminearum*... *47*

Figure 27: *Cladosporuim cladosporioides* sur milieu PDA…… 47

Figure 28 : Observation microscopique de *Cladosporium cladosporioides*…….. 48

Figure 29 : Evolution de la croissance radiale *d'Aspergillus niger* en présence des trois dosesd'HE…… 49

Figure 30: Evolution de la croissance radiale d*'Aspergillus flavus* en présence des trois doses d'HE…… 50

Figure 31 : Evolution de la croissance radiale du *Cladosporuim cladosporoides* en présence des trois doses d'HE…… 52

Figure 32 : Evolution de la croissance radiale du *Fusaruim verticilliodes* en présence de trois doses d'HE…… 53

Figure 33: Evolution de la croissance radiale de *Fusaruim graminearum* en présence de trois doses d'HE…… 54

Figure 34: l'effet des fongicides (à gauche) et d'HE du *Pistacia lentiscus L* (à droite) sur les grains du blé tendre…… 56

Figure 35 : Les souches de *Fusarium* détectés sur les grains de blé tendre……... 58

Figure 36: zone d'inhibition enregistrée pour les deux souches……. 59

Tableau de matières

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Listes de tableaux

Liste de figures

Introduction …. …… 1

Première partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralite sur les huiles essentielles

I.1.Définition…….. 3

I.2.secondaires des plantes médicinales…… 3

I.2.1.Huiles essentielles…… 3

I.2.2Composées phénoliques…… 4

I.2.2.1.Acides phénoliques…… 4

I.3 2.2.Flavonoïdes…… 4

I.3 2.3 Tannins…… 5

I.3 2.4 Les alcaloïdes…… 6

I.3 2.5 Glucosinolates…… 7

Chapitre II activités biologiques des huiles essentielles

II .1.Activité antioxydant ……... 9

II .1.1.Définition…… 9

II .1.2.Classification des antioxydants…… 9

II .1.2.1.Antioxydants synthétiques…… 9

II .1.2.2.Antioxydants naturels…… 9

II .1.3. Mécanisme d'action …… 9

II .1.4.Effets de l'Activité antioxydant……... 10

II .2.Activité antibactérienne…… 11

II .2.1.Les actifs antibactériens …… 11

II.2.2.La nature de l'activité antibactérienne …….. 12

II.2.3.Mode d'action contre les bactéries ……. 12
II.3.Activité antifongique…… 12
II.3.1.Évaluation de l'activité antifongique …….. 13
II.4.Activité insecticide…….. 13
II.5.utilisation des huiles essentielles et des extraits comme biopesticides……... 14

Chapitre III Généralité sur Pistacia lentiscus L

III.1.Introduction…… 15
III.2.Description morphologiques…… 15
III.3.Les caractéristiques anatomiques…… 17
III.3.Répartition géographique de *Pistacia lentiscus L*…… 18
III.4.Classification botanique…… 20
III.5.Principaux constituants chimique de *Pistacia lentiscus L*…… 21
III.6.Utilisation médicinale…… 21
III.7.Activité biologique des extraits…… 22
III.8.Activité biologique de l'huile essentielle…… 22
III.9. Activité insecticide…… 23

Deuxième Partie : Etude Expérimental

Chapitre I : Matériel Et Méthodes

I .1 Matériel biologique……. 25
I.1.1 Matériel végétal……. 25

I.1.2 Matériel microbiologique …… 25
I.1.3.Matériels du laboratoire…… 25
I.2.Méthodes……... 25
I.2.1.Préparation du matériel végétal……... 25
I.2.2.Détermination de l'humidité du matériel végétal..…… 25
I.2.3.Extraction des huiles essentielles…….. 26
I.2.3.1.Principe d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation…… 26
I .2.3.2.Dispositif d'extraction…… 26
I .2.3.3.Procédé d'extraction…… 27
I .2.3.5 La densité ……. 27
I.3.Confirmation de l'Identité des souches fongiques testés……. 28
I .4.Préparation des milieux des cultures …… 29
I.4.1.Préparation de milieu PDA……. 29
I. 4.2.Préparation du milieu DCPA Modifié…… 30
I .4.3.Préparation du milieu Levane …….. 30
I.5.Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des HE du *P. lentiscus L*…… 30
I.5.1.Evaluation de l'activité antifongique ……. 30
I .5.1.1.Inoculation des souches fongiques…… 30
I .5.1.2.Préparation et dépôt des disques…… 31
I .5.1.3.Evaluation de la croissance mycélienne…… 31
I .5.1.4.Calcule du Taux d'inhibition (TI%)……. 32
I.5.2.Evaluation de l'effet de l'HE de *P. lentiscus* en traitement de grains…… 32
I. 5.2.1 Essai de l'activité antifongique des huiles sur les graines du blé……. 32
I. 5.2.1.1. Choix de l'échantillon……. 32
I. 5.2.1.2. Préparation des doses de l'huile essentielle…… 32
I .5.2.2.Essai de l'effet de trois fongicides homologués sur les graines du blé……. 33
I .5.2.2.Choix de l'échantillon et les fongicides testés……. 33
I .5.2.2 Préparation des solutions de fongicides…….. 34
I.5.2.3.Lecture de résultats…….. 35

I.5.3.Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *P. lentiscus L* ……... *36*

I 5.3.1.Origine et choix des souches bactériennes…… 36

I. 5.3.2 .Préparation de la suspension bactérienne…… 37

I .5.3.3.La méthode utilisée…… …… 37

I.5.3.3.1.Le principe de la méthode de diffusion ou aromatogramme…… 37

I .5.3.3.2.Protocole expérimentale…… 38

I.5.3.3.3. Lecture des résultats …… 39

Chapitre II Résultats et discussion

II.1.Extraction de l'huile essentielle de *P. lentiscus L* …….. 41

II.1.1.Rendement en huile essentielle …….. …… 41

II.1.2.Détermination du taux d'humidité ……. 41

II.1.3 Détermination de la Densité d'huile essentielle…….. 41

II.2Caractéristiques macroscopique et microscopiques des champignons phytopathogènes utilisés……. 42

II.2. 1 *Aspergillus flavus*……. 42

II.2.2 *Aspergillus niger*…… 43

II.2.3 *Fusaruim verticillioides*……..... 44

II.2.3 *Fusaruim graminareum*…… 46

II.2.5 *Cladosporuim cladosporioides*…… 47

II .3 Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *P. lentiscus L* …… *48*

II.3.1 Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle sur les souches testée …… 48

II.3.1.1 Effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* sur la croissance radiale des champignons …… 48

1.Effet sur la croissance radiale *d'Aspergillus niger* …….. *48*

2.Effet sur la croissance radiale *d'Aspergillus flavus* ……...51

3.Effet sur la croissance radiale *cladosporuim cladosporoides*…… *51*

4.Effet sur la croissance radial de *Fusaruim verticilliodes*…… *53*

5.Effet sur la croissance radiale de *Fusaruim graminearum* …… *54*

II.3.1.2.Evaluation de l'effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* en traitement de grain …… 56

II .3.1.3.Evaluation de l'activité antibactérienne …… 59

Conclusion ……...62

Références bibliographiques…… 64

Annexe

Résume

Introduction

Introduction

L'utilisation des produits chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles **(Magan et Olsen, 2004)** Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces produits a provoqué une contamination de la biosphère. Pour ces raisons les plantes médicinales et ses huiles essentielles détiennent actuellement une place importante dans les systèmes de lutte, leur rôle dans la recherche phytopharmaceutique dans certains pays du monde n'est plus à démontrer **(Lahlou, 2004)**.

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes: on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines: industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie **(Duraffourd et *al*., 1997)**

Les extraits des plantes étaient déjà connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs pour leurs propriétés odorantes, médicinales et antimicrobiennes **(Fellah *et al.,* 2006).** Les huiles essentielles constituent un complexe de molécules bioactives qui possèdent diverses propriétés biologiques intéressantes (antifongique, antibactérienne, antioxydantes. ect), parmi les plantes connues pour leurs huiles essentielles et ces propriétés intéressantes on peut citer le lentisque.

Le lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) est une plante de famille des Anacardiacée, largement répandue dans les maquis du bassin méditerranéen. Elle est connue pour ses propriétés médicinales (antiseptique, stimulante, propriétés antimicrobienne) **(Boullard, 2001).** Plusieurs études antérieures menées sur *Pistacia lentiscus L* ont démontré des vertus biocides dans la lutte contre quelques champignons (**Duru et *al.*, 2003) .**

Dans ce contexte, nous avons entrepris ce modeste travail qui a pour objectifs d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.* vis à vis de cinq champignons et deux bactéries phytopathogènes, et d'étudier la possibilité d'utiliser cette huile comme traitement des grains de blé.

La revue bibliographique de cette étude est articulée en trois chapitres. Le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles. Le deuxième chapitre traite les activités biologiques des huiles essentielles. Le troisième chapitre expose des généralités sur la plante *Pistacia lentiscus* L et l'utilisation de ces extraits et son huile essentielle.

La deuxième partie est composé de deux chapitres, le premier illustre le matériel et les méthodes mis en oeuvre pour l'extraction et l'évaluation des activités biologiques (antifongique, antibactérienne) de l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus L* .Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis des interprétations.
A la fin, ce document est clôturé par une conclusion générale.

Partie 01 : revue bibliographie

Chapitre I : Généralité sur les plantes médicinales.

I.1. Définition

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication (**Halberstein, 2005**).

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses"(**Debuigne, 1974),** les plantes médicinales constituent des ressources inestimables qui ont été utilisées pour trouver de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de futurs médicaments (**Gurib-Fakim, 2006 ; Harrar, 2012**). D'après **Odile et Daniel (2007), e**nviron plus de 30% des médicaments contiennent des principes actifs d'origine naturelle.

I.2. Métabolites secondaires des plantes médicinales

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**). Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre **(Merghem, 2009)**. La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO2 (**Ramakrishna et Ravishankar, 2011**).

I.2.1. Huiles essentielles

Le terme huiles essentielles (HES) dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (**Khenaka, 2011**).

Les HES sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (**Bruneton, 1999**), obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. (**Afnor, 2000**), marqués par une forte et caractéristique odeur, les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) des ces composants (**Hamdani, 2012**), sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (**Yahyaoui, 2005**).

I.2.2.Composées phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal **(Fleuriet, 1982),** sont des métabolites secondaires des végétaux tout ces composés possèdent des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient **(Manallah, 2012)**. Ils sont fréquemment attachés aux molécules de sucre pour augmenter leur solubilité dans l'eau, Les polyphénols comprennent trois classe majeurs : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins **(Berboucha, 2005).**

I.2.2.1.Acides phénoliques

Sont des composantes organiques caractérisées par une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La dénomination est réservée aux acides cinnamiques de structure C6-C3 (acide p-coumarique, caféique et plus rarement l'acide sinapique) et acides benzoïques caractérises par un squelette en C6-C1 (acide gallique, p-hydrox benzoïque, protocatechique, syringique) rarement l'acide sinapique) (**Balasundrum et *al.*, 2006).**

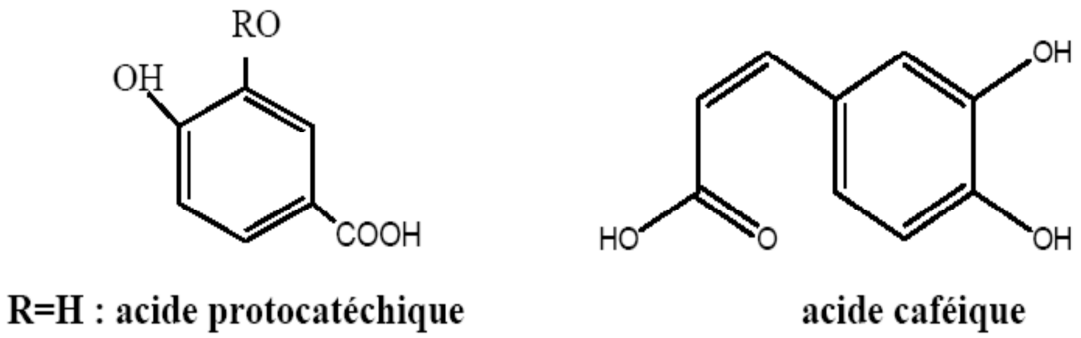


Figure 01 : Formules d'un acide benzoïque et d'un acide cinnamique.

I.2.2.2.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (**Marfak, 2003; Medic-Šarié et *al.*, 2003).** Ces substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous

forme de glycosides et polymères (**Medic-Šarié et *al*., 2003**) et possèdent de nombreuses activités biologiques (**Hanasaki et *al*.,1993**).

Ils se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones…ect et sont diversifiés par l'oxydation, alkylation et la glycolisation (**Furusawa et *al*., 2005**).

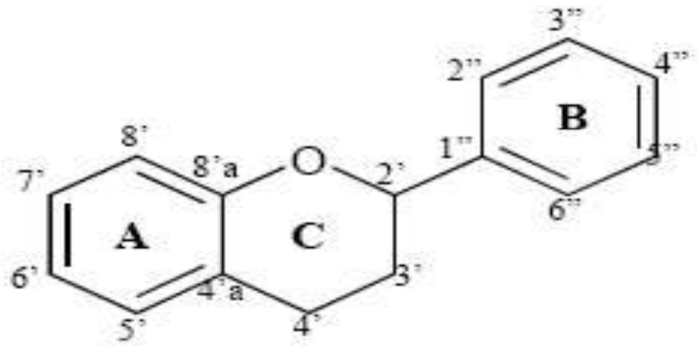


Figure 02 : Structure générale des flavonoïdes

I.2.2.3.Tannins

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles **(Karamać et Pegg, 2009).** Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines (**Manach et *al*., 2004))** d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés **(Monteiro et *al*., 2007).**

I.2.2.3.1 Tannins hydrolysables : qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins **(Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).**

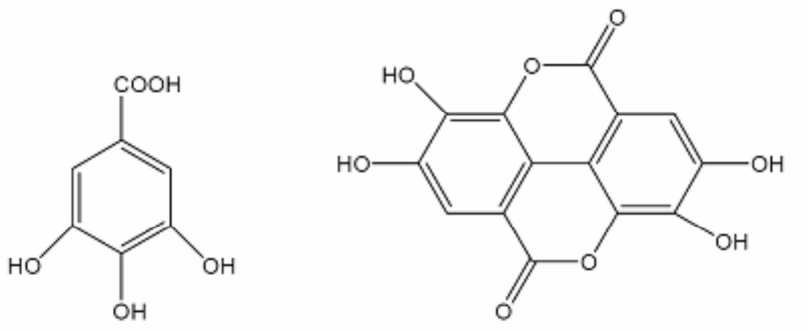


Figure 03 : Structure générale de Tannins hydrolysables

I.2.2.3.2.Tannins condensés : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 **(Monties et *al* ., 1969 ; Danglettere, 2007).**

I.3.2.3.Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale a caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga; 2011**).

Les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles **(Krief, 2003)**, ces composants relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (**Mauro, 2006**). Caractérisés par une solubilité faible dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool. Les alcaloïdes ayant des masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La synthèse des alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont transportés dans leur site de stockage. (**Rakotonanahary, 2012**).

La majorité des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés (le tryptophane, la lysine, l'asparate, et la tyrosine) et sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés (**Cyril, 2001**). Ils comportent trois classes principales : les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes et les proto-alcaloïdes.

1.Les alcaloïdes vrais : l'azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.

2.Les proto -alcaloïdes : ils ne possèdent pas un azote intra-cycliques, ils ont une structure proches des amines (**Guignard, 2000).**

3.Les pseudo-alcaloïdes : ils présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérives des acides aminés (**Bruneton, 1999**).

I.3.2.4.Glucosinolates

La dénomination des glucosinolates a été proposés pour la première fois au XIX siècle par Gadamer (**Gadamer J., 1897).** La constitution moléculaire des glucosinolates combine trois entités structurales remarquables:

- une partie glycosidique (unité 1-thio-D-glucopyranosyle, toujours de la configuration β),
- une partie anionique (fonction anomérique thiohydroximate *O*-sulfatée, généralement associée à un cation de potassium pour les glucosinolates obtenus par extraction de source végétale),
- une partie relativement hydrophobe (une chaîne latérale R).

Les premières glucosinolates isolés ont été la sinigrine (2-propènyl ou allylglucosinolate), elle a été obtenue à partir des graines de la moutarde blanche (*Sinapis alba*) en 1831 **(Robiquet et Boutron, 1831**) et la sinalbine (4-hydroxybenzylglucosinolate) à partir des graines de la moutarde noire (*Brassica nigra*) en 1840 (**Bussy, 1840).** Les glucosinolates sont synthétisés par les plantes de la famille des *crucifères* à partir de huit L-aminoacides : alanine, valine, leucine, isoleucine, phénylalanine, méthionine, tyrosine et tryptophane, ainsi que quelques homologues à longue chaine de la méthionine et phénylalanine **(Kliebenstein et *al.*, 2005)**

Les glucosinolates sont groupés en trois catégories selon les acides aminés à partir desquelles ils sont bio-synthétisés (**Halkier et Du., 1997)**

1.Les glucosinolates aliphatiques (synthétisés à partir acides aminés aliphatiques, le plus souvent la L-méthionine),

2.Les glucosinolates aromatiques (synthétisés à partir de la phénylalanine ou la tyrosine),

3. Les glucosinolates indoliques (synthétisés à partir du tryptophane).

La grande diversité de structure des glucosinolates peut s'expliquer par l'existence de réactions de transformation supplémentaires sur les chaînes latérales (telles que des élongations de la chaîne aliphatique par additions répétitives de groupement méthyle, hydroxylation, oxydation acylation, élimination, etc.) lors de la biosynthèse. **(Grasser et *al.*, 2000)**

Les glucosinolates sont stockés dans toutes les parties de la plante et libérés lors d'une attaque de phytophages. Quand les tissus sont endommagés, les glucosinolates entrent en contact avec la myrosinase et sont hydrolysés en composés actifs, comme les isothiocyanates. Beaucoup de ces produits sont toxiques pour les bactéries, champignons, nématodes et insectes. Ces produits sont aussi à l'origine des propriétés olfactives et gustatives des végétaux riches en glucosinolates.

Les glucosinolates sont également présentés comme des substances de réserve en azote et en soufre pour la plante, notamment pour la synthèse d'acides aminés en cas de nutrition carencée (**Schnug , 1987)**. En effet, certaines conditions de stress environnemental vont avoir une influence sur les niveaux en myrosinase et en glucosinolates dans la plante. En outre, les glucosinolates indoliques pourraient servir de réserve pour la production d'acide indolacétique et joueraient donc un rôle dans le métabolisme hormonal de la plante (**Rausch et *al*., 1983)**

Les glucosinolates sont présents dans tous les organes de la plante mais en quantité plus faible dans les organes végétatifs. Néanmoins, la teneur en glucosinolates est soumise à des fluctuations qualitatives et quantitatives qui dépendent de nombreux facteurs. Les glucosinolates diffèrent également par leur teneur au cours du cycle végétatif (**Iori et *al.*, 1990 ; Merrien et *al*.,1991)**

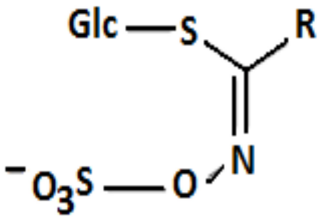


Figure 04 : Formule générale des glucosinolates.

Chapitre II: les activités biologiques des huiles essentielles.

Le rôle physiologique des huiles essentielles pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés.

II .1.Activité antioxydant

II .1.1.Définition

Il y a deux sortes d'activité antioxydante selon le niveau de leur action. Une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation **(Bouhadjra, 2011)**

En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène…etc **(Madhvi *et al.,* 1996).**

II .1.2.Classification des antioxydants

II .1.2.1.Antioxydants synthétiques

Plusieurs antioxydants synthétiques sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité et dans les cosmétiques et les huiles végétales (le BHA…ect)**(Guo *et al.,* 2006).**

Le PG et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaine de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés **(Xiang *et al.,* 2007),** l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, responsable de mutagenicités et peut même présenter un danger pour la santé humaine **(williams, 1993).**

II .1.2.2.Antioxydants naturels

Les antioxydants naturels apportés par l'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs. Les effets bénéfiques sur la santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydantes présentes par un grand nombre de composés phytochimiques **(Caillet et Lacroix, 2007).**

La plus part des espèces qui ont une forte activité antioxydante appartiennent à la famille des lamiacées. Mise à part les composés cités précédemment, les huiles essentielles sont douées également d'un pouvoir antioxydant **(Barlow, 1990).**

II .1.3.Mécanisme d'action

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme « capteurs » de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé dès **1976** par **Sherwin** : l'antioxydant cède formellement un radical

hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus au moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un radical intermédiaire stabilisé de ses structures mésomères conjuguées (**Sherwin**, **1976**)

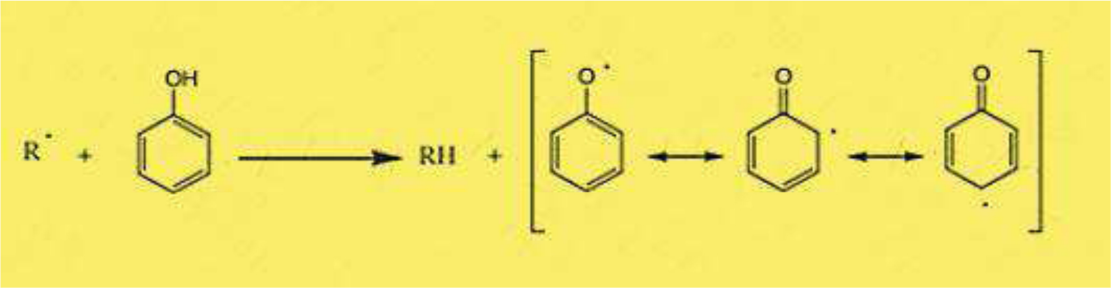


Figure05 : Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques

(Berset et Cervelier, 1996)

II .1.4.Effets de l'Activité antioxydante

L'intérêt porté aux antioxydants naturels ne cesse de croître ces dernières années ; Ceux-ci représentent une alternative à l'utilisation d'antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxytoluène (BHT) ou le butylhydroxyanisol (BHA) **(Benhamou et *al.*, 2008).** Ils sont étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles pour le développement des médicaments thérapeutiques ou protecteurs (**Ghedira, 2005 ; Gardeli et *al.*, 2008).**

Les polyphénols sont des antioxydants efficaces, capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par l'organisme (**Bossé et *al.*, 2003 ; Lahouel et *al.*, 2004**). Meterc et ses collaborateurs (2008) ont montré que les polyphenols sont des antioxydants plus puissants que les vitamines antioxydantes (vitamines C et E). A titre d'exemple, l'épicatéchine gallate extrait du thé vert est un puissant antioxydant ; il est au moins 25 à 100 fois plus efficace que lavitamine E et C, respectivement (**Pietta, 2000 ; Meterc et *al.*, 2008).**

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt. Par conséquent, les HES sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont été étudiées pour leurs propriétés antioxydantes. Les composés phénoliques, comme le thymol, la carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HES présentant les plus fortes activités antioxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (**Gabriel et *al.*, 2013**).

Certaines HES présentent des activités anti-oxydantes et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'HE isolée des graines de *Nigella saliva* L, démontre

une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées cellulaires tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération de métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur **(Mbarek et *al*., 2007).** L'HE de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques (**De Sousa *et al*., 2004))**

II .2.Activité antibactérienne

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leur propriété antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de micro-organisme. Ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (**Remmal, 1993; Chami, 2005**).

La recherche des molécules naturelles aux propriétés antimicrobiennes est d'une grande importance aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine de l'industrie alimentaire. (**Bousbia, 2003; Rayour, 2003; Bouhdid, 2009)**.

II .2.1.Les actifs antibactériens

Les composants avec des structures polyphénoliques comme les flavonoïdes et les tannins étaient fortement actifs contre les microorganismes testés. Les membres de cette famille sont connus pour être, selon la concentration utilisée, soit bactéricides ou bactériostatiques. Les polyphénoles entrainent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation (**Dugo et *al*., 1998; Dorman, 2000; Chaumont et *al*., 2001)**.

Les alcools monotérpénols, viennent immédiatement après les phénols, sont connus pour avoir une action plus bactéricide que bactériostatique. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes, Il agissait comme des agents dénaturants des protéines ou comme des agents déshydratants **(Onawunmi, 1984).**

Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisées sont le néral et le géranial (des citrals), le citronnellal et le cuminal (**Inouye, 2001).**

II .2.2.La nature de l'activité antibactérienne

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets **(Hammer, 1999) :**

- Une activité létale (bactéricide) : c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies.
- Une inhibition de la croissance (bactériostatique) : inhibition momentanée de la multiplication d'une population.

L'activité biologique d'un extrait végétale est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leur effets synergiques **(Dorman, 2000).** Plusieurs études ont été menées sur l'inhibition de la croissance des microorganismes par des composés phénoliques (C**owan, 1994; Karou et *al.*, 2005; Amarowicz et *al.*, 2008).** Une étude menée par **Cowan (1994)** a montré que plusieurs classes de composés phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins interviennent dans le mécanisme de défense de la plante contre les microorganismes pathogènes. Selon des études antérieures, les extraits aqueux de *Tamarindus indica,* à la dose de 300µg/ par disque ont montré des propriétés antibactériennes sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa* ; ces propriétés antibactériennes pourraient être attribuées à la présence de nombreux composés polyphénoliques et des anthocyanidines **(*Rokia et al., 2006).***

II .2.3.Mode d'action contre les bactéries

Les extraits possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, elles sont efficaces contre un large spectre de microorganisme pathogène et non pathogène mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phase **(Dorman, 2000).**

- Attaque de la paroi bactérienne par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

II .3.Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les HES ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire **(Lis-Balchin, 2002)**.

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

Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et *al.*, 1988).** Cette activité est estimée selon la durée

d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique: **Phénols› Alcools› Aldéhydes› Cétones› Ethers› Hydrocarbures.**

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques parait donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de **Chao et *al.* (2000),** ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

II .3.1.Évaluation de l'activité antifongique

En général, les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique sont rapides, moins coûteuses et facile à réaliser. L'activité contre les mycètes filamenteux peut être évaluée par la méthode de diffusion et de la dilution avec les mêmes inconvénients et avantages pour les analyses antibactériennes **(Wilkinson, 2006)**. L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles peut être effectuée par la méthode de microatmosphères (**De Billerbeck et *al.*, 2002; Mohammedi et Fouzia, 2007; Mohammedi et *al.*, 2010; Bajpai et Kang, 2010).** Dans la méthode de dilution d'agar, l'huile essentielle à tester est incorporée à l'agar et alors un disque mycélien activement grandissant est placé au centre de la boite de Pétri. La croissance radiale du mycète après un temps approprié, selon les caractéristiques de croissance du mycète, est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins **(Wilkinson, 2006)**. Alternativement une suspension fongique de cellules peut être inoculée sur le milieu de culture et les concentrations minimales sont déterminées **(Ponce et *al.*, 2003; Klaric et *al.*, 2006; Derwich et *al.*, 2010; Zarrin et *al.*, 2010).**

II .4.Activité insecticide

L'effet insecticide des HES par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide **(Isman, 2000)**.

Des résultats indiquent que les HES extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*. Ces HES agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles

peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Selon **(Koumaglou, 1992)** la technologie de leur extraction est simple et accessible à tous les niveaux.

Les HES des plantes appartenant aux genres *Chenopodium*, *Eucalyptus* ont témoigné de leur efficacité insecticide, la poudre de *Chenopodium ambrosioides* était testée sur six ravageurs de denrées stockées *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis*, *Acanthoscelides obtectus*, *Sitophilus granarius*, *S. zeamais*et *Prostephanus truncatus*, une concentration de 0,4 % provoqua la mortalité de plus de 60 % des bruches après deux jours de traitements **(Tapondjou et *al*., 2002).**

II .5.Utilisation des huiles essentielles et des extraits comme biopesticides

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance des insecticide, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels **(Isman et machial, 2006)**.

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes **(Kim et *al.*, 2000).**

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes **(Shaaya et *al*., 1997).**

Chapitre III : Généralité sur Pistacia lentiscus L .

III .1.Introduction

Le lentisque (*Pistacia lentiscus* L) appartient à la famille d'Anacardiaceae **(Bossarde et Cuissance, 1986)**, cette espèce a une valeur économique importante car elle possède des propriétés médicinales connues depuis longtemps dans la médecine traditionnelle **(Tsokou et *al*., 2007**).

Cette plante joue un rôle important dans l'écosystème, il s'agit d'un arbrisseau très ramifie, ces feuilles persistantes encouragent la bio diversité car elles permettent la croissance facile d'autres plantes vasculaires aussi elles sont très favorables au développement de la faune à laquelle elles fournissent l'abri, la nourriture et le milieu de reproduction **(Pelleti, 1987**), cette plante présente une bonne capacité de renouvellement après le découpage ou les incendies **(Mulas et *al.*, 1998**).

Le lentisque est très rustique, résistant à la sécheresse (**Mulas et *al*.,1998**) et à la basse température jusqu'à 7° en hiver **(Ak et Parlakci, 2009)** son système racinaire très traçant assure la protection des sols contre l'érosion (**Cortina et *al*., 2008)**, comme il peut être utilisé en horticulture ornementale (**Bossarde et Cuissance, 1986)**.

Selon **Seigue (1985),** le lentisque est une source de divers produits, qui peut être utilisés, car leur résine qui coule naturellement ou par incision de ces branches et troncs entre dans l'industrie agro-alimentaire évidemment comme agent masticatoire, dans l'industrie photographique et dans les soins dentaires**,** ainsi leur huile essentielle extraite à partir d'hydrodistillation des rameaux feuillées est utilisé en aromathérapie et phytothérapie pour ces propriétés médicinales (**Belfadel, 2009)**. Autrefois son huile végétale obtenu par la macération de ses fruits comestibles à l'aide d'une pression était couramment utilisé pour l'alimentation, l'éclairage et rentre aussi dans la confection de savons **(Boukeloua, 2009)**. Enfin son bois, qui est très apprécié en ébénisterie grâce à sa robustesse et la finesse de sa structure, est utilisé pour la fabrication des paniers et corbeilles artisanale surtout dans la région de kolèa en Algérie.

III.2.Description morphologique

P. lentiscus L. est un arbrisseau dioïque de 1 à 3 m de haut **(**figure 6) , constituée par des rameaux verruqueux à écorce brune rougeâtre, dragonnant, à forte odeur de résine, ces rameaux portant des feuilles persistant composé de six à douze folioles, coriaces, paripennées,

étroitement abovales de 2 à 4 cm de longueur et de couleur vert foncé lustré dessus **(Bossarde et Cuissance, 1986 ; Crete , 1989 ; Isman, 1999 ; Boullard, 2001)** .

Figure 06 : Arbisseaux *P. lentiscus* L.

Le lentisque est un dioïque dont les fleurs males et femelle sont sur des arbres séparés. ils sont des courtes inflorescences regroupées en panicules à l'aisselle des feuilles, leur pollinisation se fait par le vent, les fleurs males sont munies d'un calice de cinq lobes, composé de 3-5 courtes étamines et de gros anthères rouge foncé. Autrement les fleurs femelles sont vert-jaunâtre ayant un calice de 3 à 4 **lobes** (figure 7b) (**Pelleti, 1987 ; Crete, 1989** ; **Ingri et Shconfelder, 1988**).

Les fruits sont des drupes charnues, pisiforme, d'environ 4mm de largeur. de couleur rouge au début, ensuite les fruits fertiles se tournent vers le noir foncé à la maturité (figure 7a). La multiplication de lentisque, se fait par semis des ces grains fertiles **(Belot, 1978**).

Figure07 : Rameaux feuillés portant des panicules des fleurs de *P. Lentiscus* L (originale)

a : fleurs males, **b** :fleurs femelles

Figure 08 : Rameaux feuillés portants des fruits de *Pistacia lentiscus L* (originale)

noire : Drupes **f**ertiles, **rouge :** Drupes non fertiles.

III.3.Caractéristiques anatomiques

Peu d'études anatomiques sont réalisées sur *P. lentiscus* L. (Anacardiaceae). **Santanna-Santos et *al* (2006),** les espèces de la famille des anacardiaceae sont caractérisés par la présence des canaux sécréteurs remplis par un gum-résine constitué majoritairement par les

huiles essentielles, polysaccarides et certains composé phénoliques des flavonoïdes glucosés (**Santanna-Santos et *al.*, 2006**).

Selon **Sawidis et *al* (2000),** ont constaté que les canaux sécréteurs sont responsables d'extraction de résine, étaient présente dans les tiges, feuilles et racines. Ces canaux ou conduites résineux sont liés à des structures tubulaires et quelque couches des cellules aplatés vers l'extérieur de ces conduites et l'ensemble sont situées seulement dans des vaisseaux vasculaires soutenue par les arcs des fibres de sclérenchymes. Ainsi, ils ont remarqué la présence de cinq conduites résineuses dans les pétioles, par contre ils ont trouvé trois conduites résineuses au niveau de nervures centrales, et l'extrémité de la feuille adjacente des vaisseaux vasculaires dans le mésophile proche de dense parenchyme palissadique**.** en plus, ces conduites résineuses sont dispersées dans le phloème séparé les une aux autres dans la tige et racine (**Sawidis et *al.*, 2000.**).

Al-saghir et *al*.,(2006) ont décrit l'anatomie des feuilles de quelques espèces de genre *Pistacia*. Ils indiquent que l'anatomie interne des feuilles des espèces de *Pistacia* sont homogène avec quelques différences. ils notent au niveau des coupes transversale des feuilles de *P. lentiscus* l. la présence d'une épaisse cuticule et 1-2 couches de cellules épidermiques sur les deux faces de la feuille suivi par un parenchyme palissadique que sur la face ventrale qui occupe la plus grande partie par rapport au parenchyme lacuneux . d'autres auteurs marquent une présence de grandes vacuoles dans les cellules des tissus palissadiques, ces vacuoles contiennent des tanins avec une affinité safranine, et des grands plastides de formes sphériques qui sont pleins d'amidon **(Reig-arminana et *al*., 2004)**. Ces conduites résineuses sont entourés par des nombreuses idoblastes crystalée ils jouent un rôle protecteurs des bourgeons lors de la période de la dormance (**Sawidis et *al*., 2000)**.

III.3.Répartition géographique de *Pistacia lentiscus* L

P.lentiscus L.est un arbrisseau originaire du bassin méditerranée (**Nesco et Sauvage, 1966)**. Il est particulièrement représenté dans les milieux les plus chauds, en asie mineure, l'Afrique et l'europe jusqu'aux iles canaries. (fig n9). Il pousse à l'état sauvage, il est forte répandu sur les bords de la méditerranée, les plaines continentale et les basses des montagnes jusqu'aux 1600m (**Metro et Sauvage, 1955)**. Bien qu'il est une plante typique des régions sèches et arides **(Baba Aissa, 1999)**, commune les zone arides, il est coïncidée entre l'étage semi-aride et sub- humide **(lcaraz, 1979).**

Pistacia lentiscus l. constitue les maquis en association avec l'oléastre (olivier sauvage), les myrtes et les cistes (**Baba Aissa, 1999)** dans un groupement végétale phytosociologie nommer " l'oleolentisque ", mais également dans les boisements claires à pins d'Alep ou d'autre formation de garrigues basses de chêne vert (**Iserin, 2001)**, sur tous types de soles :argileux, sableux, silisieux et calcaire (**Alcaraz , 1979).**

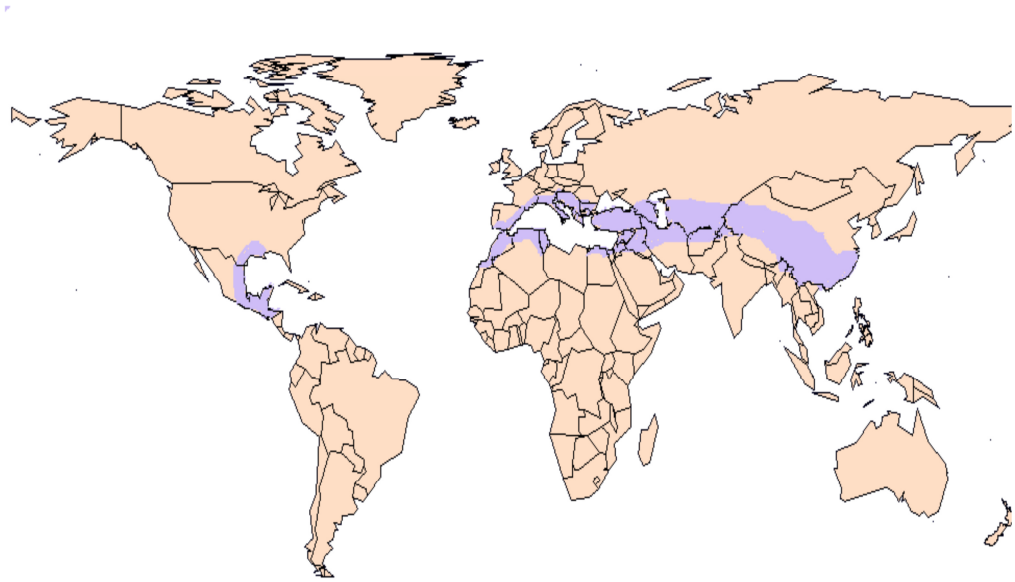


Figure 09: Aire de répartition du genre *Pistacia lentiscus L.* **(Belfadel, 2009)**

En violet : Aire de présence de *Pistacia lentiscus L*

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces :*Pistacia lentiscus.L*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (**Ait youssef, 2006)** in **(Bensalem, 2015).** *Pistacia lentiscu .L.* se trouve au long du tell et dans les zones forestières **(More et White, 2005). (**figure n10**)**

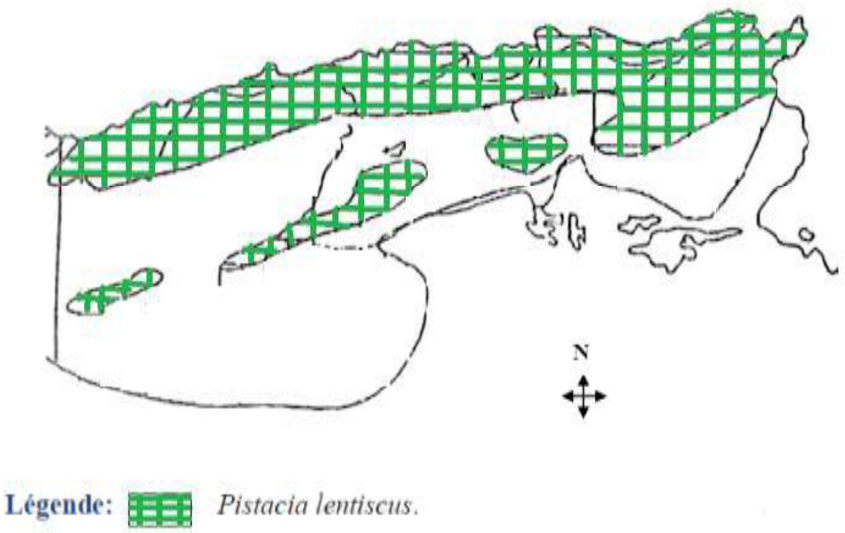


Figure 10: Aire de répartition de *Pistacia lentiscus L.* en Algérie **(Quezel et Santa, 1993).**

III.4.Classification botanique

Le genre *Pistacia* comporte 11espèces d'arbre ou d'arbustes de la région méditerranéenne. Les espèces les plus importantes sont : *Pistacia atlantica L, Pistacia chinensis L, Pistacia lentiscus L, Pistacia terebinthus L, Pistacia vera L, Pistacia integerrima L, Pistacia palestina L, Pistacia khinjuk L.* **(Benrokia et Aouar, 2015)**

Tableau 01 : Classification botanique de *P. lentiscus* L (Linné, 1753).

Règne	Plantae, (végétal)
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	*Pistacia*
Espèce	*Pistacia lentiscus*

III.5.Principaux constituants chimique de *P. lentiscus* L. (lentisque)

Selon beaucoup d'études qui ont été faites pour l'identification les constituants chimiques de la plante marquant leur richesse en tanins, mastic et huile essentielle **(Baba aissa, 1999. Belfadel, 2009 ; Metro et Sauvage, 1955.)**.

Des analyse chimiques qui ont été réalisées sur le mastic de *Pistacia lentiscus* L. ont montré la présence d'un polymère de cis-1,4-poly-β-myrcene **(Van de berg et *al*., 1998.)**. il contient une petite fraction d'environ 2% d'huile essentielle (**Alcaraz, 1979.)** et certains nombre de constituant triterpenoïdes se forme de deus types de squelette : squelette de tétracyclique (euphane et dammarane) et squelette de pentacyclique (oleanane et lupane) et triterpenoïdes bicyclique et tricyclique **(Van de berg et *al*., 1998. Papageorgiou et *al*., 1997 ; Marner et *al*., 1991 ; Boar et *al*., 1984).**

L'étude réalisée par **Long et al (2007)** a permis d'isoler des tanins proathocynidique et gallique à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* L**,** ces derniers révélant la présence des acides gallique et dérivées galloyls et des anthocyanes (delphiniodine 3-o-glucosides et cyanidin3-o-glucoside) et des glycosides de flavonol comme les glucosides de quercetine et de myricetine **(Romani et *al.*, 2002.)**. L'étude photochimique réalisé sur les baies de *P.lentiscus* L. a permis d'identifier trois anthocynes (cyanidine3-o-glucosie, delphinidine 3-o-glucoside et cyanidine 3-o-arabinosie) (**Long et *al.*, 2007.).**

III.6.Utilisation médicinale

Pistacia lentiscus l. est connue depuis l'antiquité pour ses propriétés thérapeutiques **(Baba aissa, 1999).** Il présente des propriétés antiseptiques, stimulant, hémostatique expectorant et vulnéraire (**Belfadel, 2009)**

La décoction d'écorce des racines séchées est efficaces pour guérir les troubles et les inflammations gastro-intestinaux ainsi que dans le traitement de l'ulcère et comme emménagogues (**Baba Aissa, 1999 ; boullard, 2001 ; Ouelmouhoub, 2005**). La résine était utilisée en orient comme mastic pour ses propriétés odoriférantes et antiseptiques pour la protection des dents et de la cavité buccale (**Belot, 1978)**. Alors qu'en chine elle est très appréciée pour ses qualités astringentes, carminatives et calmantes car elle est employée dans les cas de gonorrhée et spermatorrhée (**Crete, 1989)**. Selon d'autre, la résine est appliquée comme pansement dentaire sur les ulcère et les furoncles (**Belfadel, 2009)**.

Beaucoup de travaux révèlent la présence de certains effets de résine .ce dernier présente des effets analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogenique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolyque .par conséquence , la résine est souvent cité comme un remède efficace pour guérir certaines maladies telle que l'asthme , diarrhée ,infection bactérienne, ulcére et comme un agent antiseptique du système respiratoire (**Iserin , 2001)**.

Les HES de *P.lentiscus* L. sont connues pour ses différentes vertus thérapeutique, elles présentent des propriétés anti-inflammatoires, sédatives, astringents et antiseptique de muqueuse surtout des voies respiratoires. ainsi, elles sont très utilisées pour fluidifier le catarrhe et pour combattre parfois la mauvaise haleine elles sont employées pour traitait les infections des voies urinaire et comme astringent de l'intestin, contre diarrhée, les dysenteries et pour la cavité buccale (**Pelleti, 1987).**

III.7.Activité biologique des extraits

Les extraits de *P. lentiscus* L. montre une activité antifongique beaucoup plus intéressant que leur activité antibactérienne (**Iauk et *al*., 1996). Benhammou et *al* (2009)** ont testé l'activité antimicrobienne des extraits de *pistacia lentiscus* sur huit bactéries, cinq champignons et levure. Les résultats ont révélé une forte activité antifongique et une faible activité antibactérienne.

Benrokia et Aouar (2015) ont étudié l'effet des extraits de lentisque vis-à-vis de quatre bactéries (*Pseudomonas aeroginosa* et *Staphyloccocus aureus, Escherichia coli. et Staphylococcus bland),* ils ont conclue que l'extrait methalonique des feuilles présentent l'activité anti bactérienne la plus puissante quoique celles que montrent les autres extraits ne soient pas négligeables.

III.8. Activité biologique de l'huile essentielle

Il y a eu diverses études sur les activités biologiques de *pistacia lentiscus* l.*,* surtout après la découverte de l'activité microbienne de ses huiles essentielle (**Ouelmouhoub, 2005** ;**Tassou et Nychas, 1995**; **Ali-shtayeh et Abu ghdeib, 1999**).

Duru et ses collaborateurs (2003) ont évaluée l'activité antifongique des HES des feuilles de trois espèce de *Pistacia* (*Pistacia vera , Pistacia teribinthus Pistacia lentiscus* L) et des fractions (totale , acide et neutre) de la résine de *Pistacia lentiscus* contre la croissance de

trois phytopathogéne agricole :*Pythium ultimum* ,*Rhizoctonia solani* et *Fusarium sambucinum* .Quelques dose des huiles essentielles des trois espèces de *pistacia* et de fraction de résine de *pistacia lentiscus* (totale et neutre) ont empêché de manière significative la croissance du R*hizoctonia solani* .Cependant tous les échantillons n'ont pas montré un effet antifongique contre *Pythium ultimum* et *fusarium sambucinum*, et au contraire, ils ont augmenté la croissance de cette dernière. Ces auteurs trouvant que les terpinenole et α-terpènol sont les principaux constituants de l'ordre technique d'HES de *P.lentiscus* L **(Duru et *al.*, 2003).**

Le travail de **Barra et *al* (2007)** a montré l'effet antifongique des HES de *P. lentiscus* l. Ces auteurs ont examiné cette huile essentielle sur : *Aspergilus flavus* , *Rhizoctonia solani* , *Fusarium oxysporum* et *Penicillum sp* les résultats indiquent que la croissance de *:Aspergilus flavus* est empêchée totalement

L'activité antifongique d'HES de *P.lentiscus* L avérée due à la haute concentration en α-pinène (**Mardarowicz et *al*., 2002** ; **Imelouane et *al*., 2009.**). D'autres auteurs signalent que α-pinène et β-pinène sont bien connue comme produits chimiquement ayant des potentiels antimicrobienne .cependant, un autre composé le linalol possède aussi une large gamme d'activité antibactérienne et antifongique (**Imelouane et *al.*, 2009).**

L'étude de l'activité anti-microbienne des huiles essentielles de *P. lentiscus* sur les bactéries gram positif et gram négatif *(Staphylococcus aureus, Lactobacilus plantarum, Pseudomonas sp* et *Samonella enteritidis*) a montré que le taux d'inhibition était plus grand dans le cas des bactéries gram négatif (**Tassou et Nychas, 1995**).

Les HES de la résine sont avérée très efficace contre les microorganismes, tandis que les huiles essentielles des feuilles et des tiges de *P. lentiscus* L ont montré une activité modérée contre les bactéries (**Magiatis et *al*., 1999**).

III.9.Activité insecticide d'huile essentielle

Selon **Mediouni-ben djemaa et *al* (2010)** qui ont étudié la possibilité d'utiliser les extraits des plantes comme alternative source de contrôle les ravageurs, les huiles essentielles de *P. lentiscus* L possèdent une activité insecticide, .ces auteurs ont testé la toxicité des huiles essentielles par fumigation sur les individus de 1-7 jour de *Tribolium castaneus* et *Lasioderma sericone*. Ils ont trouvé que la mortalité est liée à la concentration, le temps d'exposition et d'espèce de l'insecte, le potentiel de toxicité est plus élevé sur *Lasioderma sericone* que à celle de *Ribolium castaneus.*

Plusieurs autres études existent portant sur les effets insecticides de *P. lentiscus* (**Traboulsi et *al.*, 2002 ; Lamiri et *al.*, 2001 ; Mediouni-ben jemaa et *al.*, 2010**).

Lamiri et *al* (2001) signalent que les HES de *P. lentiscus* L sont plus efficaces contre les œufs des parasites. **Aslan et *al* (2006)** ont montré que la toxicité des HES de *P. lentiscus* L sur les adultes *Sitophilus granarius* est due à la présence des monoterpènes.

Bachrouch et *al* (2010) ont testé la toxicité des HES de *P.lentiscus* L par fumigation sur *Ectomyelois ceratoniae* et *Ephestia kivehniella*. Ils ont trouvé que l'HE composé de terpin-4-ol (23.32%), β-caryphyllen (22.62%) et α-terpineol (7.12%) possède un potentiel insecticide très élevé contre *Ephestia kivehniella* **(Bachrouch et *al.*, 2010).**

Partie 02 : Etude expérimental

Chapitre I Matériels et méthodes

I. Matériels et Méthodes

Cette étude a été réalisée au niveau des Laboratoires de sciences agronomiques de la Faculté de science de la nature et de vie et des sciences de la terre au niveau de l'université Akli Mohand Oulhadj Bouira pendant une durée de 2 mois.

I .1.Matériel biologique

I.1.1.Matériel végétal

Les prélèvements des échantillons ont été faits au mois de mars et avril. Nos échantillons composés des tiges feuillées de plante médicinale *Pistacia lentiscus* L ont été récoltées au niveau de la région de Lakhedaria de la wilaya de Bouira au stade début de formation de fruit.

I.1.2.Matériel microbiologique

Nous avons utilisées cinq espèces fongiques et deux espèces bactériennes, concernant les champignons il s'agit de: deux espèces du genre *Fusaruim* (***F. graminearum, F. verticillioides)*** et deux espèces d'*Aspergillus* (***A. niger, A. flavus***) et une espèce de genre *Cladosporuim* (**C. *cladosporioides***) . Ces cinq espèces ont été isolées à partir de céréales (Blé et Mais) au niveau du laboratoire des sciences agronomiques de l'université de Bouira.

Pour les bactéries, il s'agit de deux espèces du genre *Erwinia* (*E. amylovora*, *E.carotovora*) qui été fournies par le département des sciences agronomique de l'université de Médéa.

I.1.3.Matériels du laboratoire

Les matériels et les réactifs utilisés sont présentés dans l'annexe I.

I.2. Méthodes

I.2.1.Préparation du matériel végétal

Après avoir été collectée sur terrain à l'aide d'un sécateur, les parties aériennes du *P. lentiscus* L . ont été ramenée au niveau du laboratoire.

I.2.2.Détermination de l'humidité du matériel végétal (teneur en eau) (H %)

L'humidité est la quantité d'eau contenue dans un échantillon quelconque et qui disparait sous l'effet du chauffage, elle est quantifiée en masse perdue du végétal par dessiccation à l'étuve dans des conditions déterminées (un séchage isotherme à une température de 103°C ± 2°C) (ISO 662, 1998).

Principe : Le taux d'humidité est calculé à partir de la différence de poids d'une prise d'essai avant et après séchage à l'étuve à une température de 103°C ± 2°C pendant 4 heures.

Procédure

Une prise d'essai de 5g (M1) mesuré dans une balance est mise dans un cristalloir vide dont la masse est mesurée auparavant (M0), le tout est séché dans une étuve à une température de 103 °C pendant 4h. Après cette période, le cristalloir et la prise d'essai sont refroidis dans un dessiccateur. Le cristalloir et la prise d'essai sont pesés à nouveau (M2).

L'humidité est calculée suivant cette la formule :

H%= M1-(M2-M0) /M1 *100

- **M0 :** Masse du cristallisoir vide en grammes.
- **M1 :** Masse de la prise d'essai en grammes.
- **M2 :** Masse du cristallisoir contenant l'échantillon après chauffage en grammes.

I.2.3.Extraction des huiles essentielles

I.2.3.1.Principe d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par la technique d'hydrodistillation dans un montage adapté (Figure n 11) Selon **Bagard et Simon (2008**): Le principe de l'hydrodistillation est le suivant :

1) La substance contenant l'espèce volatile à extraire est mélangée avec de l'eau et l'ensemble est porté à ébullition.

2) La phase gazeuse, contenant l'espèce volatile et la vapeur d'eau, arrive en haut de la colonne, passe dans le réfrigérant et se condense.

3) Le résultat d'hydrodistillation est le distillat. Ce dernier comporte alors deux phases liquides, que nous pouvons séparer par décantation.

I .2.3.2.Dispositif d'extraction

L'extraction de l'HE du *P. lentiscus L* a été faite par un hydrodistillateur Il est constitué d'une plaque chauffante, un erlenmeyer à vide en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et une ampoule à décanter.

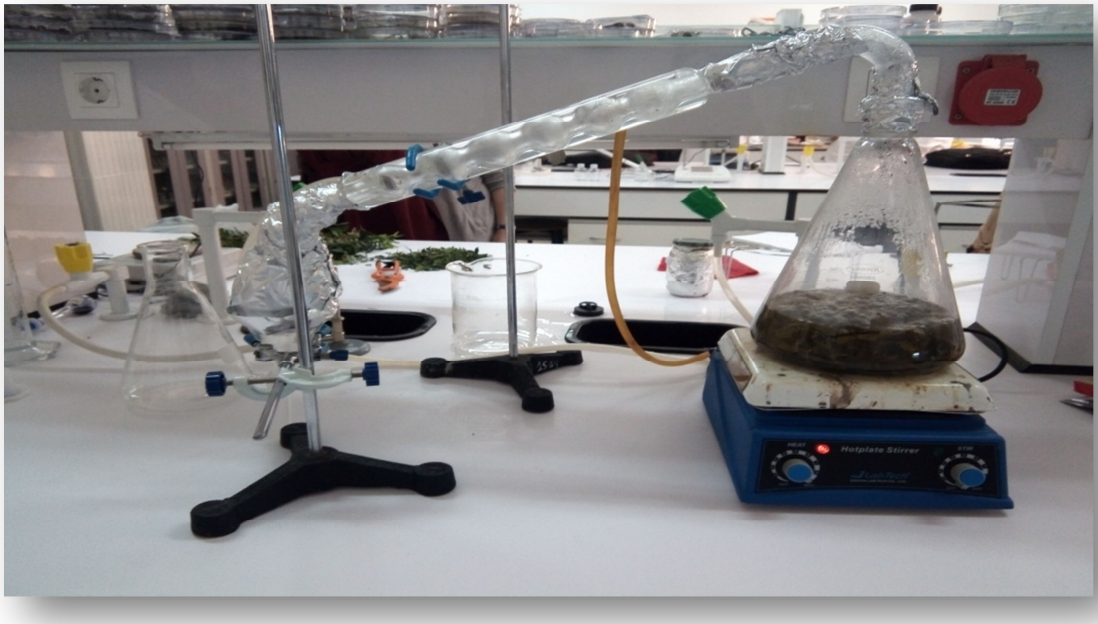


Figure 11 : Dispositif d'extraction.

I .2.3.3.Procédé d'extraction

On pèse deux cent grammes (200g) de petit morceau de la tige feuillée de *P. lentiscus L* dans un erlenmeyer de 2000ml. Puis on Additionne 800ml de l'eau distillée ; L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation; l'huile essentielle est alors entrainée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur, qu'est fixé par un support approprié en position inclinée pour faciliter l'écoulement du distillat. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes.Le résultat obtenue c'est l'apparition de deux phase l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. La séparation entre les deux phases (organique et aqueuse) se fait par l'ajout de sulfate de sodium une Na SO4.

Le temps de cette extraction est d'environ deux heures. Cette opération est répétée plusieurs fois pour obtenir l'huile essentielle

I .2.3.4.La densité

La densité (la masse volumique) est une grandeur physique qui caractérise la masse d'une matière par unité de volume. Pour mesurer la densité de notre huile, on a pesé (m) un volume

de 1ml (V) dans une balance de précision (+/- 0.1mg), le volume de 1ml est prélevé à l'aide d'une micropipette. (4 répétitions). La masse volumique est déterminée suivant cette formule

Masse volumique =m/V

- m = masse d'huile.
- V=volume d'huile

Cette méthode n'est pas très précise (non officielle) mais elle nous donne une mesure approximative de la densité de notre huile. On l'a utilisé comme alternatif de la méthode de Pycnomètre, en effet, vue la petit quantité de huile essentielle que nous possédons (< 10ml), il est impossible d'utiliser les pycnomètres de 10ml les seuls qui existe au niveau du laboratoire.

I .3.Confirmation de l'Identité des souches fongiques testés

Conventionnellement, l'identification des genres et des espèces fongiques est réalisée par examen de la culture sur milieux solides en boite de Pétri. L'examen est effectué à l'oeil nu, à la loupe et au microscope. Il est relativement facile d'identifier le genre mais il est beaucoup plus délicat de déterminer avec certitude l'espèce **(Guiraud, 1998).** Pour l'examen macroscopique on a utilisé le milieu PDA et pour l'examen microscopique, on a utilisé des montages entre lame et ruban adhésif ou entre lame et lamelle avec coloration à l'aide le bleu de coton a partir des colonies développées sur le milieu SNA et PDA.

L'examen macroscopique permet d'étudier les caractères suivants :

a) L'aspect des colonies : elles peuvent êtres duveteuses, laineuses, poudreuses…etc.

b) Le relief des colonies : elles peuvent avoir un aspect plat ou plissé ainsi que leur consistance qui peut être friables, molles … etc.

c) La taille des colonies : elles peuvent êtres petites 3 à 3.5 cm ou étendues 4 à 5 cm ou envahissantes.

d) La couleur des colonies : c'est un élément très important d'identification, les colonies peuvent êtres de couleur blanche, crème, jaune, verte ou brune, les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) **(Botton et *al.*, 1990).**

L'examen microscopique permet d'étudier les caractères suivants **(Guiraud, 1998 ; Smith, 2002)** :

- Hyphes cloisonnés ou non ;
- Mycélium diffus, épais, coloré, incolore

- Présence et type de spores sexuelles : oospore, zygospore, ascospores et basidiospores
- Présence de spores asexuées : type et apparence ;
- Agencement des conidiophores et sporangiophores.

I .4.Préparation des milieux des cultures

Pour les tests de l'activité antifongique de l'HE de *P. lentiscus*, on a utilisé deux milieux, le milieu PDA et le milieu DCPA. et pour l'évaluation de l'activité anti bactérienne, on a utilisé le milieu levane .

I. 4.1.Milieu PDA

Nous avons utilisé le PDA (Potato Dextrose Agar) pour évaluer l'activité antifongique (**Singh et *al.*, 2006; Cheng et *al.*, 2006; Bajpai et Kang, 2010**).

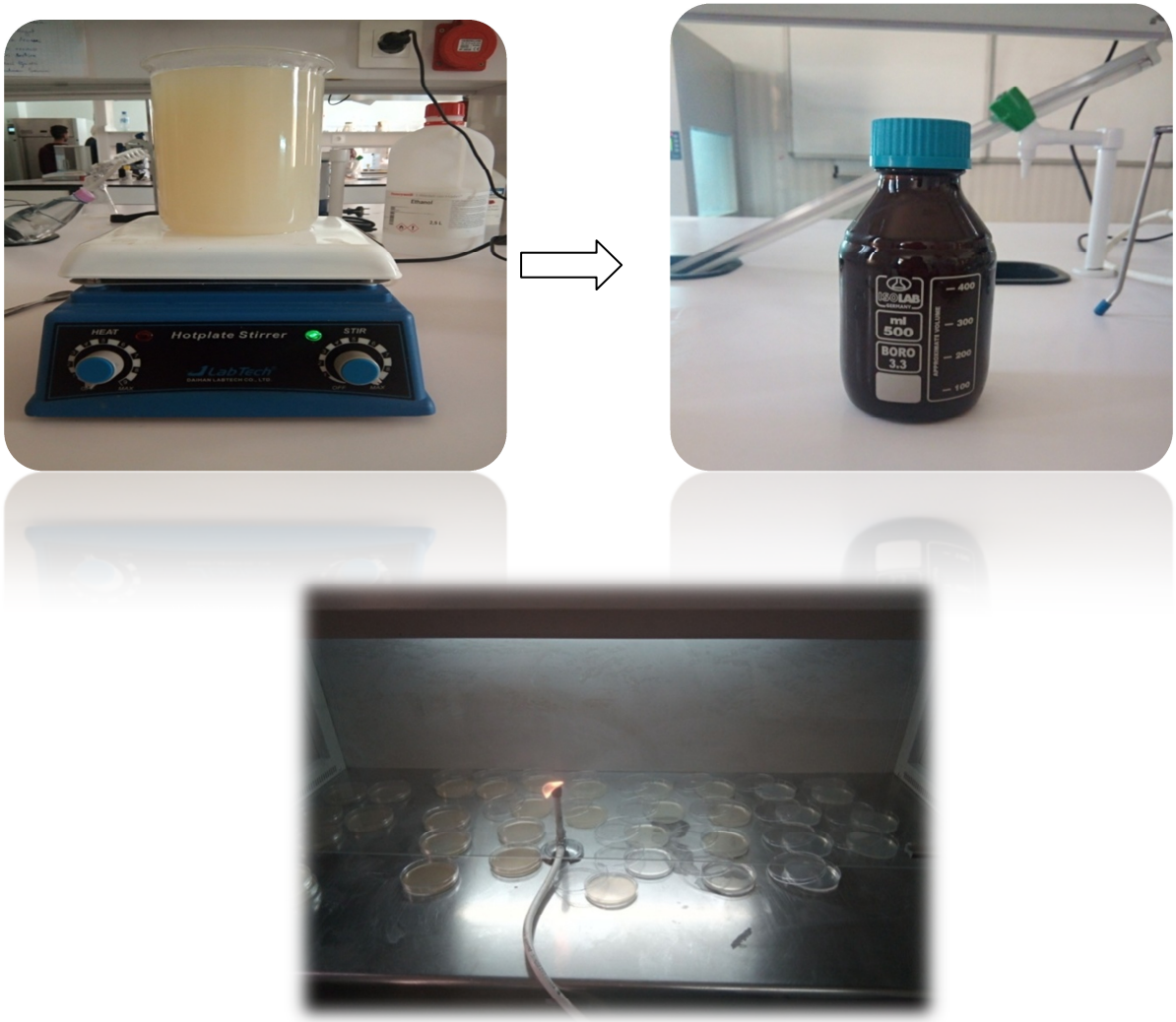


Figure 12 : Agitation et stérilisation du milieu avec le coulage des boites.

I. 4.2. Milieu DCPA Modifié

Le Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar (DCPA) est un milieu inventé dans les années 1980 d'abord considéré comme un milieu sélectif au genre *Fusarium* (**Andrews et Pitt, 1986),** on a utilisé ce milieu modifié pour évaluer l'activité antifongique sur la semence de blé.

I .4.3. Milieu Levane

Pour évaluer l'activité antimicrobienne ; nous vous utilisé le milieu Levane parce que ce milieu est adapté pour les souches bactériennes de genre *Erwinia.*

I.5. Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des huiles essentielles du *P. lentiscus L*

Les méthodes du laboratoire qui permettent d'estimer les propriétés d'un produit sont nombreuses, mais reposent toutes sur le même principe, celui de confronter la substance antimicrobienne (fongicide, bactéricide, insecticide,) et l'agent pathogène (champignons, bactéries, insectes,…) sur un support artificiel.

I. 5.1.Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique de l'HE étudiée a été testée sur cinq souches pures issues de Laboratoire. Les souches testées sont deux souches de *Fusaruim* et deux souches d'*Aspergillus* et une de *Cladosporuim* . L'activité antifongique des de l'huile essentielle a été testée par la méthode des microatmosphères décrite par Singh *et al.* (2006) et Siripornvisal et *al.* (2009). La méthode de microatmosphère est basée sur le contact de l'huile essentielle dans sa globalité avec les champignons, la méthode de micro-atmosphère repose sur l'évaluation de l'activité inhibitrice de la fraction volatile d'huile essentielle à une température d'incubation donnée, sur la croissance mycélienne.

I .5.1.1.Inoculation des souches fongiques

Les souhes à tester sont cultivées sur un milieu PDA contenu dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. A partir d'une colonie âgée de dix (l0) jours, des disques mycéliens de taille identique (5 mm) sont délimités à l'aide d'un emporte-pièce. Chaque disque est ensuite déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA.

I .5.1.2.Préparation et dépôt des disques

Des disques sont préparés à partir de papier Wattman qui est découpé en rondelles de 06mm de diamètre.ces disques sont ensuite imbibés par 20 µL de l'HE(D1) pure ou dillué (D2 et D3) puis placé au centre du couvercle de chaque boîte de Pétri. Les boîtes sont fermées par le parafilm (dépôt en position inversée, sur le couvercle de la boîte de Pétri). puis incubées à l'obscurité à une température de 26°C. Pour chaque espèce fongique et chaque concentration, trois répétitions sont réalisées.

Les doses utilisées dans cet essai sont préparées dans de l'huile végétale :

Dose 01 : 20ul de l'HE seule

Dose 02 : 10ul de l'HE+ 10ul de l'huile végétale.

Dose 03 : 5ul de l' + 15ul de l'huile végétale.

Figure 13 : les trois doses de l'HE du *P. lentiscus L*

I .5.1.3.Evaluation de la croissance mycélienne

L'évolution de la croissance mycélienne est estimée par la mesure quotidienne du diamètre de la colonie fongique testée. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec celles des témoins, qui sont démarrés dans les mêmes conditions et le même jour du test.

I .5.1.4.Calcule du Taux d'inhibition (TI%)

D'après **(Doumbouya et *al.,* 2012)** les taux d'inhibition de la croissance par rapport au témoin, sont ensuite calculés selon la formule suivante :

$$TI(\%)=100 \times (DC-DE)/DC$$

TI(%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

DC = Diamètre de colonies dans les boîtes du témoin en mm.

DE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'huile dans le disque en mm.

I.5.2.Evaluation de l'effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* en traitement de grain

Pour évaluer l'activité antifongiques de l'huile essentielle du *P. lentiscus*, nous l'avons testée sur les grains du blé tendre importé dans le but de l'utiliser comme traitement de semences ou de grains, et ensuite la comparer avec l'effet de quelques fongicides homologués en Algérie.

I. 5.2.1.Essai de l'activité antifongique des huiles sur les graines du blé

I. 5.2.1.1.Choix de l'échantillon

L'échantillon de grains de blé retenu pour cet essai est d'origine importée. Il présente un niveau élevé de contamination fongique (100%). Les contaminants fongiques sont principalement (*Aspergillus, Fusarium, Alternaria, Phoma*). nous avons utilisé 18 graines pour chaque traaitement.

I. 5.2.1.2.Préparation des doses de l'huile essentielle

Nous avons préparé trois doses d'HE (D1, D2, D3) avec un témoin et nous les avons testés sur des échantillons de 5g de blé tendre ; ces doses sont préparées dans l'eau distillée stérile en présence de deux gouttes du savon vaisselle liquide. Le dernier permet le mélange entre l'huile essentielle et l'eau et l'obtention d'une émulsion. Nous avons utilisé pour cet essai le milieu DCPA modifié. La procédure de préparation est la suivante :

- ✓ **Témoin :** 5 g de grains du blé +5 ml de l'eau distille+2gouttes de savon vaisselle liquide.
- ✓ **Dose 01 :** 5g grains du blé +1ml de HE à compléter jusqu'à 5 ml avec l'eau distillée stérile + 2 gouttes de savon vaisselle liquide.

- ✓ **Dose 02 :** 5g grains du blé + 400ul de HE à compléter jusqu'à 5ml avec l'eau distillée stérile + 2 gouttes de savon vaisselle liquide.
- ✓ **Dose 03 :** 5g grains du blé + 200ul de HE à compléter jusqu'à 5ml de l'eau distillée stérile + 2 gouttes de savon vaisselle liquide.

Les quatre lots de grains ainsi préparés sont laissés tremper pendant 30 minutes, puis nous les avons séché sur un papier filtre, puis avec l'aide d'une pince les grains sont mis dans le milieu DCPA modifié et laissé incubé dans un phytotron à 26°C.

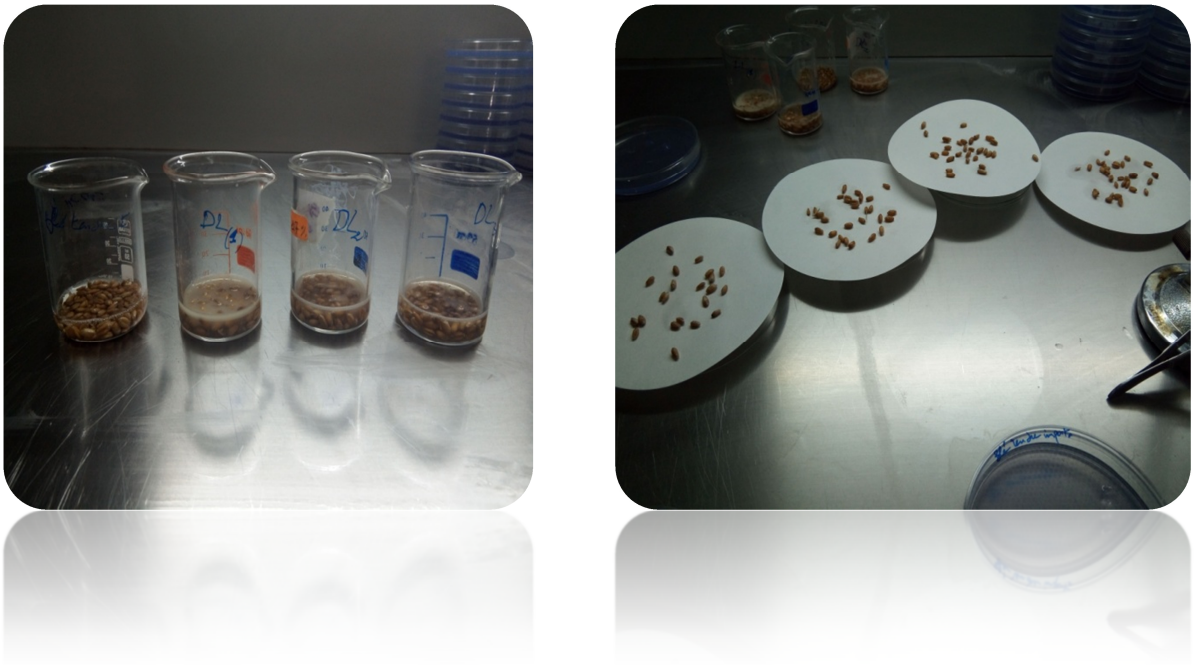


Figure 14 : les étapes de l'essai de l'activité antifongiques d'HE sur les grains.

I .5.2.2.Essai de l'effet de trois fongicides homologués sur les graines du blé

I .5.2.2.1.Choix de l'échantillon et les fongicides testés

Nous avons testé l'effet de trois fongicides homologués en Algérie sur le même lot de grains de blé tendre qu'on utilisé pour l'essai de l'HE .les fongicides testés sont : fludioxonil, tébuconozole et epoxioednazole, leurs concentrations dans les solutions mères utilisées sont indiquées dans le tableau

Tableau 02 : les concentrations des fongicides dans les solutions mères.

Fongicides	Concentration
Fludioxonil	0.75 mg/ml
Tébuconozole	0.162 mg/ml
Epoxiconazole	0.61 mg/ml

-Le Tébuconazole appartenant à la famille des triazoles, est utilisé comme substance active de produits phytopharmaceutiques en tant que fongicide et régulateur de croissance de plantes. Le tébuconazole se présente sous forme de cristaux incolores du formule $C_{16}H_{22}ClN_3O$, Il est non volatil, très peu soluble dans l'eau (32 – 36 mg/L à 20 °C) et soluble dans les solvants organiques. Le tébuconazole est une substance stable à température ambiante, quel que soit le milieu (acide, neutre ou alcalin).

-Le Fludioxonil est un fongicide de formule brute $C_{12}H_6F_2N_2O_2$ utilisé comme un traitement de semence. fludioxonil se présente sous forme de cristaux jaunes, il est très peu soluble dans l'eau (.

-L'Epoxiconazole est une substance active fongicide de la famille des azoles, cette substance inhibe en particulière le métabolisme des cellules fongiques qui infestent les plantes cultivées et empêche donc le développement des champignons. Epoxiconazole se présentes se formules brute $C_{17}H_{13}ClFN_3O$, il est très peu soluble dans l'eau.

I .5.2.2.2.Préparation des solutions de fongicides

Les solutions sont préparées dans l'eau distillée stérile afin d'avoir des concentrations égales ou très proches de celles utilisés dans l'index phytosanitaire pour le traitement de semence (DPVCT, 2017). Nous avons utilisé pour cet essai également le milieu DCPA modifié. La procédure de préparation est la suivante :

- **Fludioxonil :** 5 g du blé tendre + 200 ul de la solution mère du fludioxonil à compléter jusqu'à 5 ml avec l'eau distillée stérile (concentration finale 0,03mg / g de blé tendre).
- **Tébuconazole :** 5 g du blé tendre + 1ml de la solution mère du Tébuconazole à compléter jusqu'à 5ml avec l'eau distillée stérile (concentration finale 0,03mg / g de blé tendre).

- **Epoxiconazole :** 5 g du blé tendre + 200 ul de la solution mère du Epoxiconazole à compléter jusqu'à 5ml avec l'eau distillée stérile (concentration finale 0,02mg / g de blé tendre)

Les grains ainsi préparés sont laissés tremper pendant 30 minutes, puis nous les avons séché sur un papier filtre, puis sont mis dans le milieu DCPA modifié (à raison de 18 grains pour un seul fongicide) et laissé incubé dans un phytotron à 26°C comme pour l'essai de l'huile essentielle.

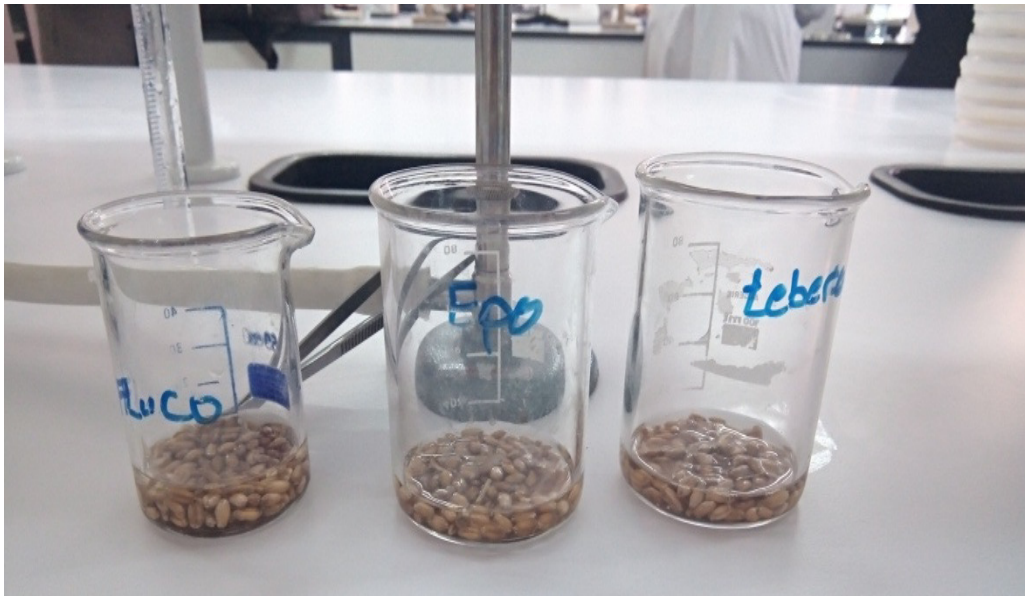


Figure 15 : Trempage des grains de blé dans les trois solutions de fongicides.

5.2.2.3. Lecture de résultats

Les observations sont faites après 4 et 7j d'incubation, les paramètres concernés sont le taux de germination des grains ainsi que le taux de grains contaminés. Sur la base du nombre total des graines utilisées (Nt), le pourcentage des graines en germination (Ni) est calculé selon la relation :

$$Tg = Ni*100/Nt$$

De la même façon on a calculé le pourcentage de contamination fongique :

Pourcentage de contamination = Nombre de grains contaminés x 100/ Nombre de grains total

I .5.3.Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *P. lentiscus L*

I 5.3.1 .Origine et choix des souches bactériennes

Les souches bactérienne utilisé pour cette études sont des bactéries phytopathogénes de genre *Erwinia* .Ces souches ont été fournies par le département de la science agronomie de l'université Médéa.

Erwinia amylovora

Erwinia amylovora (Ea) a été appelée *Bacillus amylovorus* et *Bacterium amylovorum*. Cette espèce appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Les membres de cette famille sont Gram négatifs et anaérobies facultatifs. Les cellules d'*Ea* sont des bâtonnets droits mesurant 0,5 à 1µm sur 1 à 3µm. Elles sont souvent individuelles et ne formant pas de chaîne cellulaire, ne possédant pas d'endospores et sont mobiles par des flagelles péritriches. Cette Bactérie ne dégrade pas la pectine comme on le croyait avant, mais hydrolyse la gélatine.

Sur Gélose Nutritive à 5% de saccharose, les colonies d'*Ea* sont bombées, muqueuses, et blanchâtres à centre légèrement floculant. La température optimale de croissance est de 25°C, alors que la température maximale de croissance est de 33 à 35°C.; Cette bactérie est oxydase négative et catalase positive **(Lelliott et Dickey, 1984)**. Elle est responsable de la maladie du feu bactériennee des pommier et poirier et plusieurs arbres rosacées à pépins.

Erwinia carotovora (Pectobacterium carotovorum)

Erwinia carotovora (Ec) ou ***Pectobacterium carotovorum*** *(Pc)* est une bactérie phytopathogène qui appartient à la famille des ***Enterobacteriacées.*** Elle provoque la pourriture molle de nombreux fruits ou légumes (dont la pomme de terre). Cette bactérie ne survit pas dans la terre et utilise un vecteur insecte pour se propager d'une plante à une autre. Cette bactérie entraîne le développement d'une pourriture molle des tubercules. Les attaques précoces du parasite peuvent faire pourrir les tubercules-mères en terre et provoquer des manques à la levée ; ces tubercules contaminés assurent l'essentiel des contaminations mais le développement de la maladie dépend largement des facteurs climatiques. En outre, Il peut y avoir une sensibilité variétale à la bactérie **(Toth et *al*., 2003)**. L'entérobactérie *Pc* est une bactérie opportuniste possédant les mêmes caractéristiques qu'*Ech* et est apte à affecter un large éventail d'hôtes dans de très vastes aires géographiques, autant dans les zones tropicales que dans celles tempérées.

I. 5.3.2.Préparation de la suspension bactérienne

La méthode de préparation de l'inoculum est celle préconisée par la société française de microbiologie S.F.M. (communiqué de 2005). Elle consiste à préparer à partir d'une culture jeune, de 18 à 24h, une suspension microbienne dans l'eau distillée

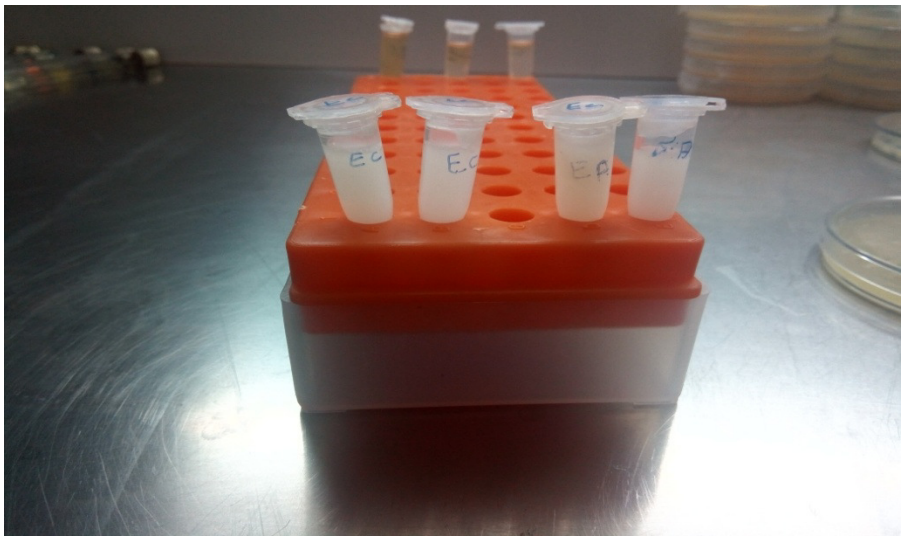


Figure 16 : les suspensions bactériennes (*Ea, Ec*).

I .5.3.3.La méthode utilisée

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé solide. Il s'agit de la méthode des disques ou aromatogramme, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

I.5.3.3.1. Le principe de la méthode de diffusion ou aromatogramme

La méthode aromatogramme a été décrite et appliquée par **Mayachiew** et **Devahastin (2008); Gachkar et *al* (2006) et Hussain *et al* (2010).** Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HEs sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri pour déterminer l'activité antimicrobienne et permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'H.E sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cette H.E.

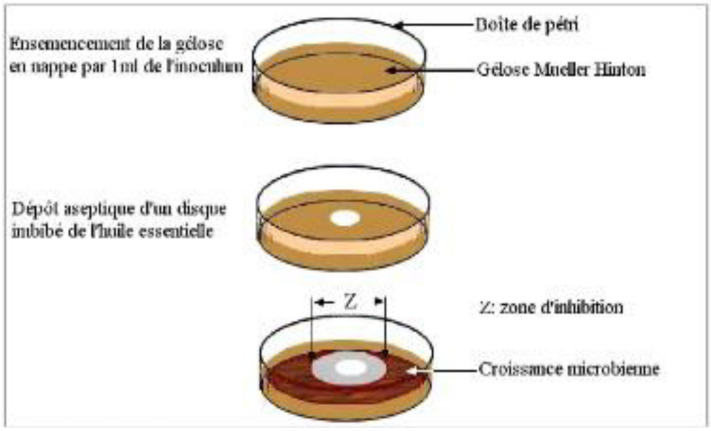


Figure 17 : Principe de la méthode de diffusion par disque

I .5.3.3.2.Protocole expérimentale

Dans des conditions aseptiques on a mis 200ul de la suspension bactérienne Ea et Ec choisi dans le milieu levane, cette suspension est bien repartie sur la surface de milieu à l'aide d'une pipete pasteur- étaloir. A l'aide d'une pince stérile, on a prélevé des disques de papier filtres stériles (diamètre 6 mm) puis on les a déposé sur le milieu ensemencé,. Ensuite , À l'aide d'une micropipette du 20 ul, on a imbibé le disque avec l'huile essentielle du *P.lentisque l* (trois concentrations :20, 10 ,5ul sont utilisées) en la mettant seulement en contact avec le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'HE jusqu'à l'imprégnation totale du disque.

Les boites Pétri sont ensuite fermées et laissées dans l'étuve à la température de 26°C pendant 24h. L'expérience est répétée 3 fois pour chaque souche bactérienne et pour chaque concentration pour minimiser les erreurs expérimentale.

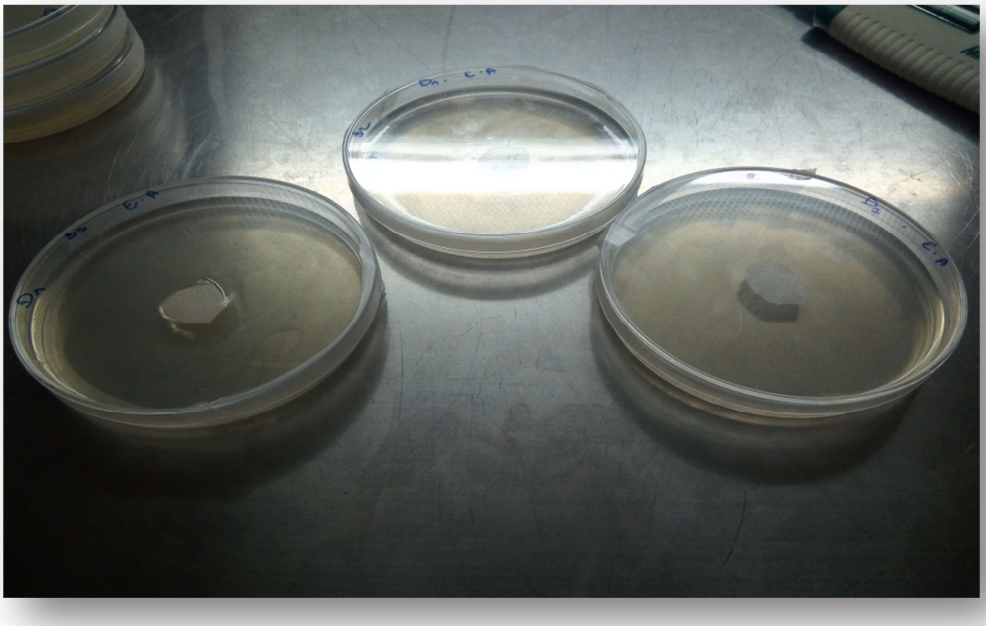


Figure 18 : Etape de la méthode de diffusion sur le disque

I.5.3.3.3 .Lecture des résultats

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant l'huile essentielle à tester. La lecture est faite par la mesure des diamètres des zones inhibition obtenues par chacune des souches. La

valeur du diamètre de la zone d'inhibition retenue représente la moyenne des trois essais. D'après la mesure de la zone d'inhibition observée, la souche bactérienne peut être qualifiée de résistante, sensible, très sensible ou extrêmement sensible (Tableau 3).

Tableau 03: Transcription des diamètres d'inhibition des disques remplis par l'huile **(Ponce et *al* ,2003).**

Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	**Transcription**	**Sensibilité du germe**
<8	**-**	Non sensible ou résistante
9-14	+	Sensible
15-19	++	Très sensible
>20	+++	Extrêmement sensible

Chapitre II : Résultats et discussion

Résultats et discussion

II .1.Extraction de l'huile essentielle de *P. lentiscus L*

II .1 .1. Caractéristiques organoleptiques

Nous avons effectuée 6 extractions des huiles essentielles par hydrodistillation sur les feuilles de *P. lentiscus L* ; à chaque extraction on a utilisé une quantité de 100g de feuilles fraiches. Pendant les extractions, nous avons obtenu une couche très fine du couleur jaune, mais la quantité était aussi petite que c'était impossible de la récupérer. Devant cette situation, nous avons utilisé l'huile essentielle commercialisée (volume 10ml) ; les caractéristiques de cette huile sont mentionnées dans le tableau 04.

Tableau 04: les caractéristiques organoleptiques d'HE de *Pistacia lentiscus L*:

Paramètre	Caractère observé
Odeur	Forte odeur caractéristique
Couleur	Jaune claire
Aspect	Liquide mobile limpide
Solubilité	Liposoluble

II.1.2.Détermination du taux d'humidité

Les plantes aromatiques contiennent des proportions d'eau qui varient d'une plante à un autre (**Kothe, 2007),** cette variation due à plusieurs paramètres entre autre due à l'espèce elle-même puis aux facteurs environnement citant : l'habitat et la saison, les type de sol, les conditions de récolte …etc. La teneur en eau des échantillons des feuilles de *Pistacia lentisques L* étudiées est de 24.4%, cette teneur est un paramètre très importante pour réalisation des testes antifongiques, antibactérienne et antioxydants.

II.1.3.Détermination de la Densité d'huile essentielle

Les HES possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes**.** Malgré leurs différences de constitution Elles sont généralement sous forme liquides à température ambiante (**Faye et *al.,* 1997).**

La densité de l 'HE de *P. lentiscus L* utilisée dans cette étude est 0.0832 ± 0,008 ; les valeurs de la densité de huiles essentielle varient d'une espèce a une autre mais restent

généralement inférieures à 1 (densité de l'eau à 20°C). Sauf certaine huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau comme *Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis* **(Rivera, 2006).**

II.2.Caractéristiques macroscopique et microscopiques des champignons phytopathogènes utilisés

Dans notre étude, cinq espèces fongiques sont utilisés : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium verticilloides*, *Fusaruim graminareum* . Dans cette partie de travail, la confirmation de l'identité de ces souches a été faite. L'identification d'un champignon se base sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques sur différents milieu comme le PDA, SNA …etc **(Cahagnier, 1998)**

II.2.1. *Aspergillus flavus*

L'observation macroscopique de cette espèce, montre des colonies duveteuses à poudreuses de couleur jaune –verte foncée sur le milieu PDA, le diamètre de ces colonies est de 69 mm après 10jours d'incubation à 26°C. , le verso de la colonie est incolore à crème. .

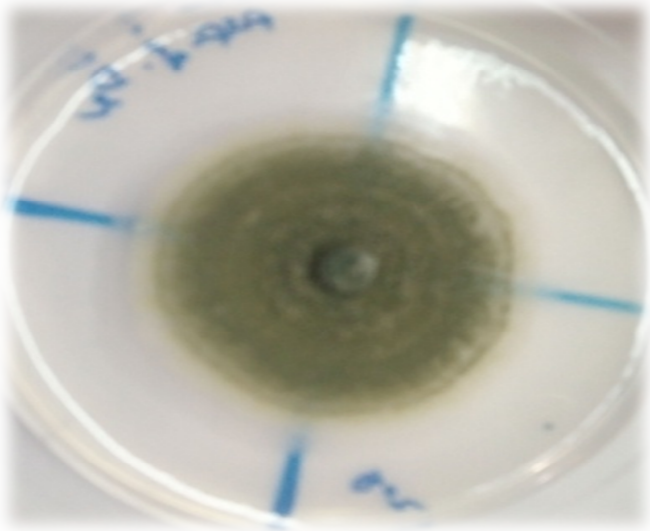


Figure 19: Colonie *Aspergillus flavus* sur milieu PDA.

Sous microscope photonique, l'espèce *Aspergilus flavus* se caractérise par une tête aspergillaire bisériée mais on peut rencontrer des têtes plus petites unisériées ou mixtes. La vésicule globuleuses ou subglobuleuses légèrement allongées, fertiles sur toute la surface, les phialides sont verdâtres. Les conidies sont subsphériques à ellipsoïdales vert pâle et

légèrement rugueuses. Cette description correspond à celle d'*A. flavus* rapporté par **Tabuc (2007)**

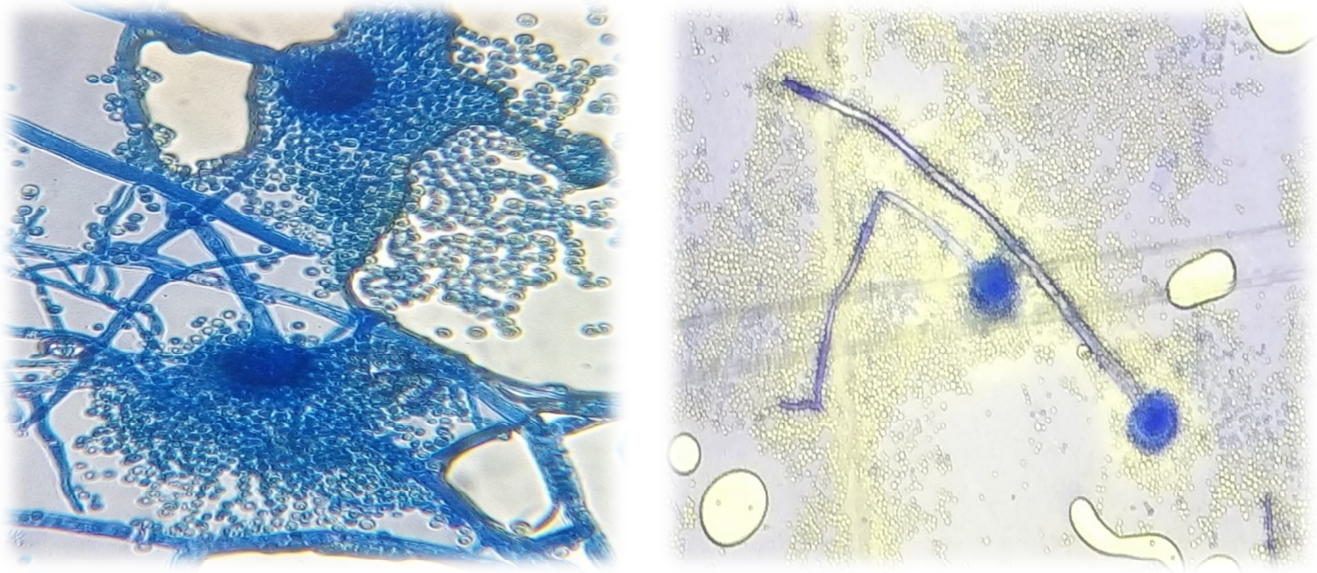


Figure 20 : Observation microscopique *d'Aspergillus flavus*

II.2.2.*Aspergillus niger*

Sur milieu PDA, cette espèce, croît facilement, **(Gacem, 2011),** une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui est généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune claire.(fig21).

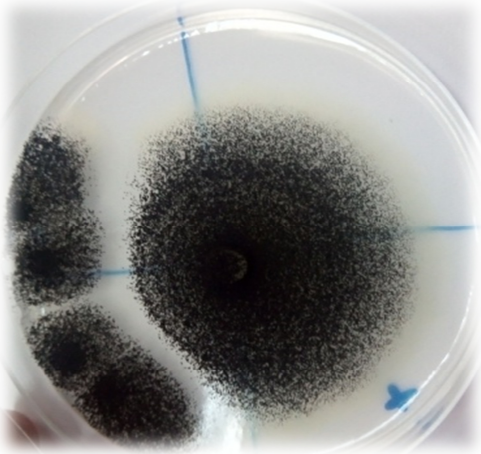


Figure 21 : colonie *Aspergillus niger* sur milieu PDA.

Sous microscope, On observe alors des têtes conidiennes larges, brun rouge très sombre a noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille

Les conidies sont produites en très longues chaînes qui, au fil du temps, ont tendance à se regrouper en plusieurs colonnes compactes. Elles sont typiquement globuleuses, brunes, échinulées à très verruqueuses. La tête aspergillaire est donc bisériée radiée, et noire à maturité. Ces observations sont en accord avec celles rapporté par **Quatresous (2011)**.

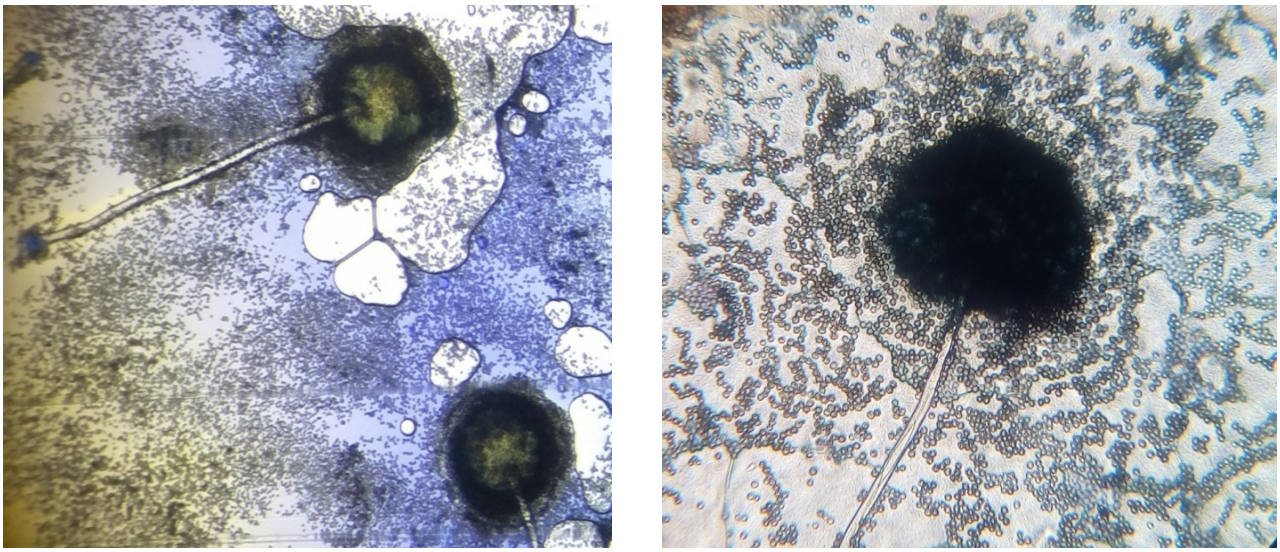


Figure 22 : Observation microscopique d'*Aspergillus niger*

II.2.3.*Fusaruim verticillioides*

Sur milieu PDA, la colonie mycélienne présente généralement une coloration rose. Le mycélium est ras, blanc à pourpre. Avec l'âge les colonies deviennent poudreuses. Le verso de la colonie est de couleur rose foncé à pourpre**.** La croissance de ce champignon est rapide sur le milieu PDA, après 6 jours d'incubation les colonies présentent un diamètre moyen de 5,4cm. Sur le milieu SNA, les colonies sont blanche et présentant un mycélium très abondant. Cette description correspond à celle rapporté par **Leslie et Summerell (2006).**

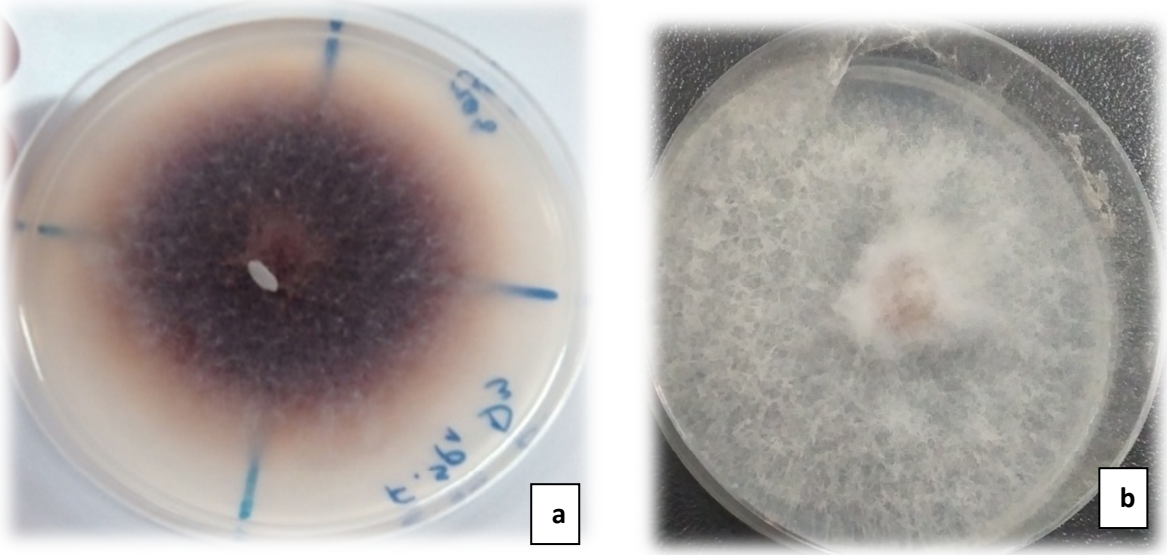


Figure 23 : *Fusaruim verticillioides* sur milieu PDA(**a**) et sur le milieu SNA (**b**)

Sous microscope optique: *Fusaruim verticillioides* possède de conidiophores qui sont peu ramifiés et produisent des conidies en chaînes fines et très longues. Il produit des micro-conidies unicellulaires et quelque fois des macro-conidies droites ou incurvées, pourvues de trois à sept cloisons Les microconidies sont hyalines, fusiformes, unicellulaires et occasionnellement bicellulaires. Elles sont disposées en chaînes et en fausse têtes. Ce qui est en accord avec **Mathur et Kongsdal (2003) et Leslie et Summerell (2006).**

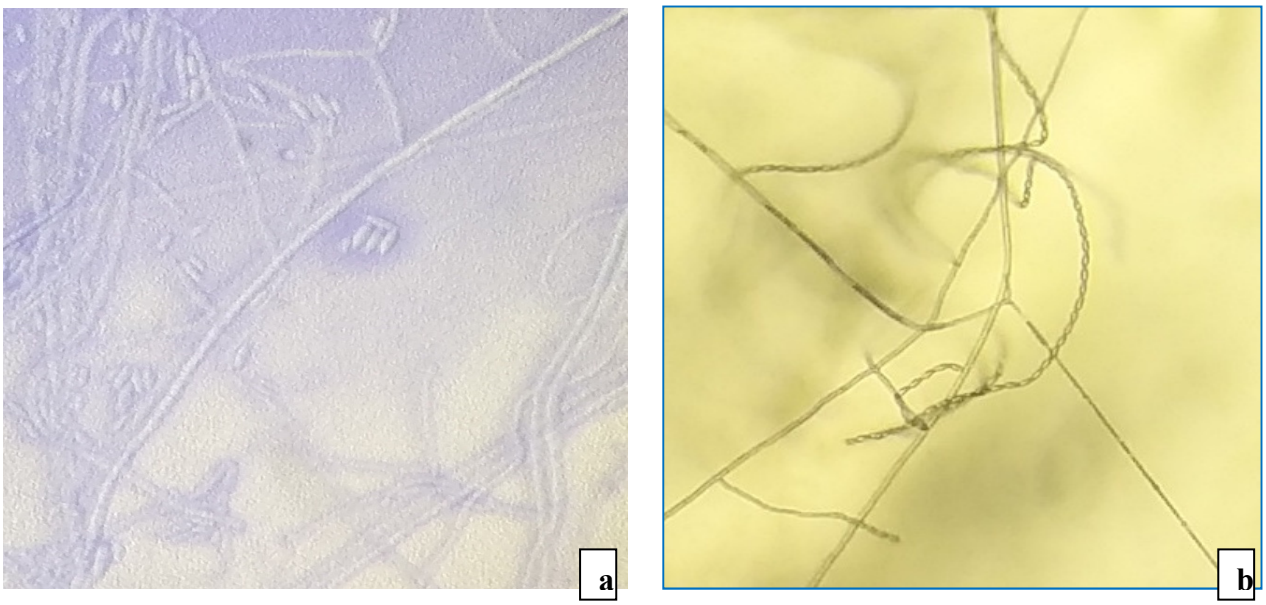


Figure 24 : Observation microscopique de *Fusarium verticilloides* : **a** : montage sur lame après coloration par bleu de coton ; **b:** observation directe sur la culture

II.2.3 *Fusaruim graminareum*

Sur le milieu PDA, Les colonies formé sont rose claires, le mycélium est blanc à blanc rosé. (**Lauzon et al., 2007**), le mycélium aérien est très abondant . La vitesse de croissance des souches varie à 25 °C, entre 10,6 et 11 mm par jour. Sur le milieu SNA, les colonies sont blanche et présente un mycélium aérien très abondant

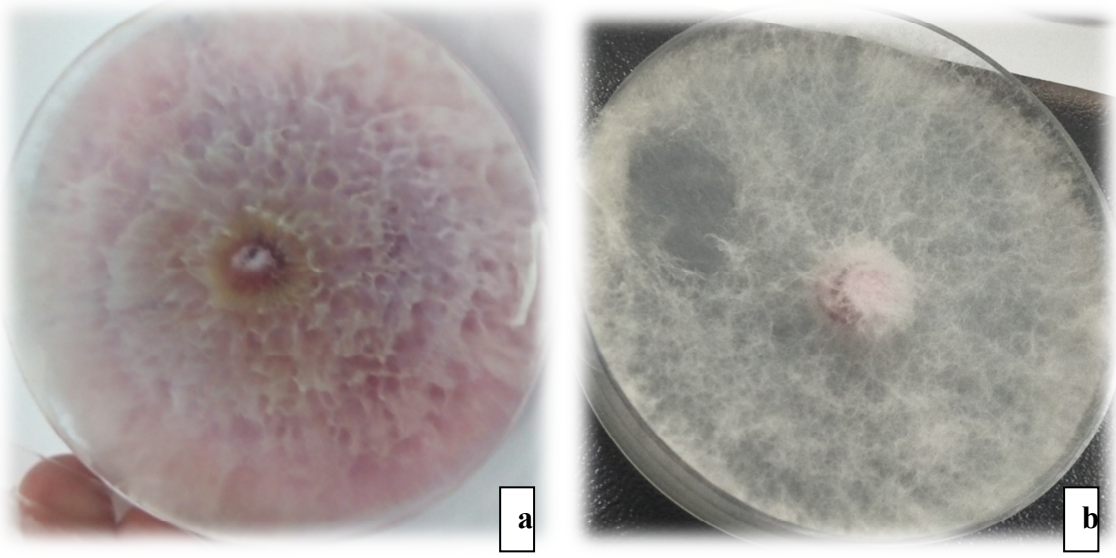


Figure 25 : *Fusaruim graminareum* sur milieu PDA (a) sur le milieu SNA (b)

Les macroconidies se développent surtout au contact du milieu gélosé, sous le mycélium aérien et sont peu nombreuses. Elles sont très caractéristiques : de courbure parfaite, elles possèdent une extrémité distale pédicellée, une extrémité terminale pointue et sont constituées de 5 à 6 cellules, de taille assez imposante, leur plus grande largeur se situe dans leur partie médiane. Cette espèce ne produit pas de microconidies **(Messiaen et *al*., 1976)**

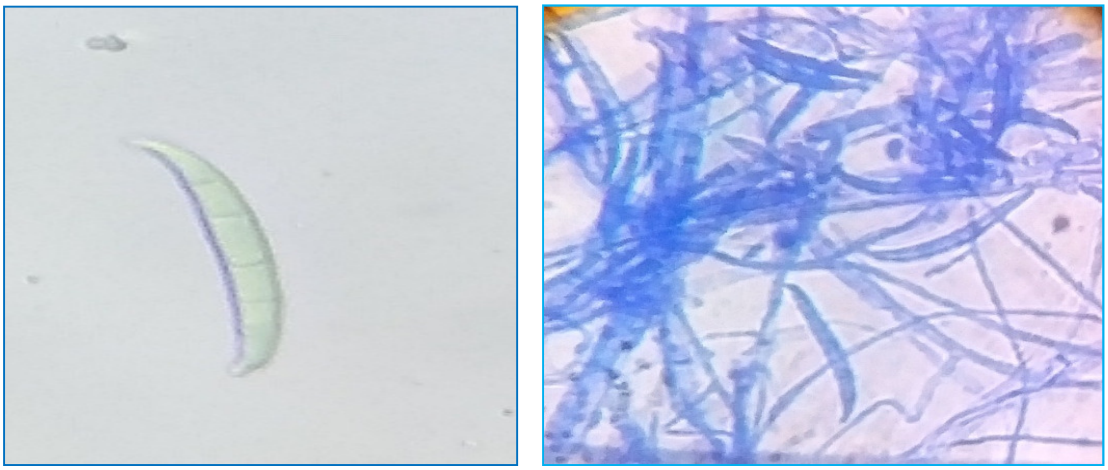


Figure 26 : Observation microscopique des macroconidies du *Fusarium graminearum*

II.2.5.*Cladosporuim cladosporioides*

Les colonies de *Cladosporium* ont plutôt une croissance lente et atteignent un diamètre de 3 à 3,7 cm en dix jours sur milieu PDA à 25 °C, et la texture des colonies varie également de veloutée à poudreuse et la couleur varie de vert olivâtre à noire; le revers de la colonie est noir, ces observation sont en accord avec celle de **Fiedler et *al* (2001)**).

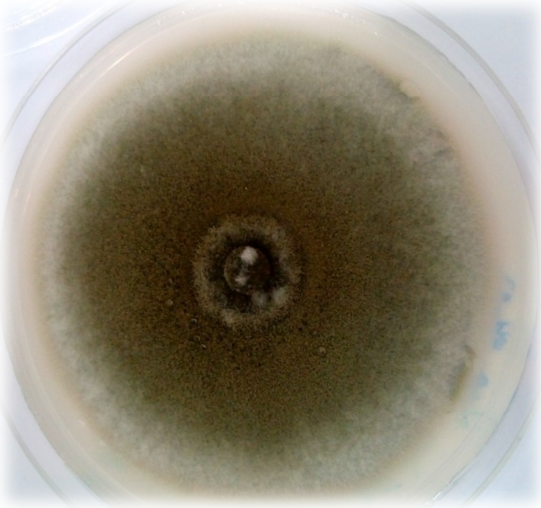


Figure 27: *Cladosporuim cladosporioides* sur milieu PDA.

La *cladosporuim cladosporioides* produit des hyphes foncés septés, des conidiophores érigés et pigmentés, les conidiophores du *C. cladosporioides* ne sont pas géniculés, Les conidies sont en général de forme elliptique à cylindrique, sont brun très pâle à brun foncé et ont des hiles foncés et unicellulaire. Les conidies sont produites en chaîne ramifiée qui se désarticule facilement à maturité. Les parois des conidies sont lisses ou parfois échinulées. Cette description concorde avec celle rapportée par **Patterson et *al* (2009) et Gravesen et *al* (1994).**

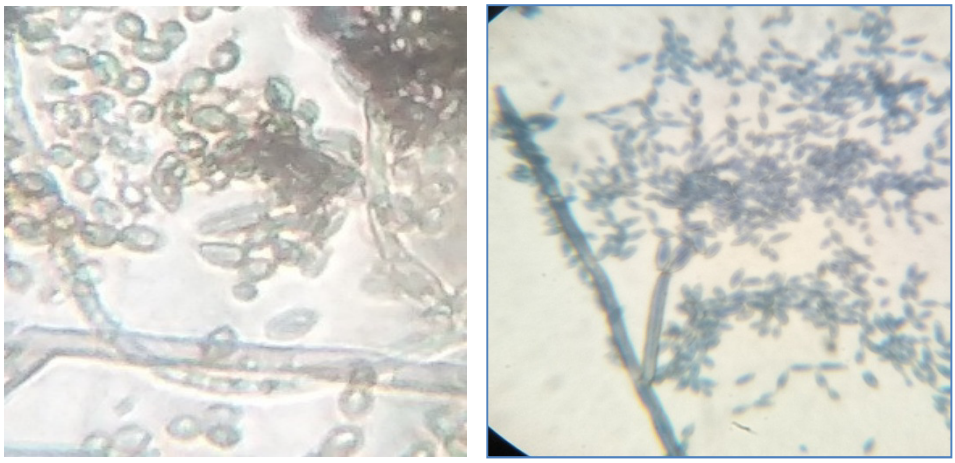


Figure 28 : Observation microscopique de *Cladosporium cladosporioides*

II .3. Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus L*

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobienne del'huiles essentielle de *Pistacia* lentiscus par la méthodes de microatmosphére des disques sur un milieu gélosé solide (le milieu PDA) pour les champignons et par la méthodes de diffusion des disques sur une milieu Levane pour les bactéries .

II.3.1.Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle sur les souches testée

II.3.1.1.Effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* sur la croissance radiale des champignons

Dans cette partie du document, nous avons détaillé les résultats de l'effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Pistacia* sur la croissance mycélien des cinq champignons.

1.Effet sur la croissance radiale d'*Aspergillus niger*

D'après **la figure 29**, on remarque, que le champignon *Aspergillus niger* (Témoin) présente une croissance radiale de 3.7cm après 6 j d'incubation ce qui correspond à une vitesse de croissance égale à 0.5 cm/jour durant les 3 premiers jours d'incubation. En présence de H.E à différente concentration, on a observé un peu de retard de la croissance pour les différentes doses sauf pour la dose 3 (D3). Ou le diamètre de la colonie de *A. niger* dépasse le diamètre de colonie témoin au 6^{ème}e jour. La vitesse de croissance radiale durant les 3 premiers jours est de 0,1cm/j pour D1, 0, 32cm/j pour D2 et de ,0.38cm/j pour D3.

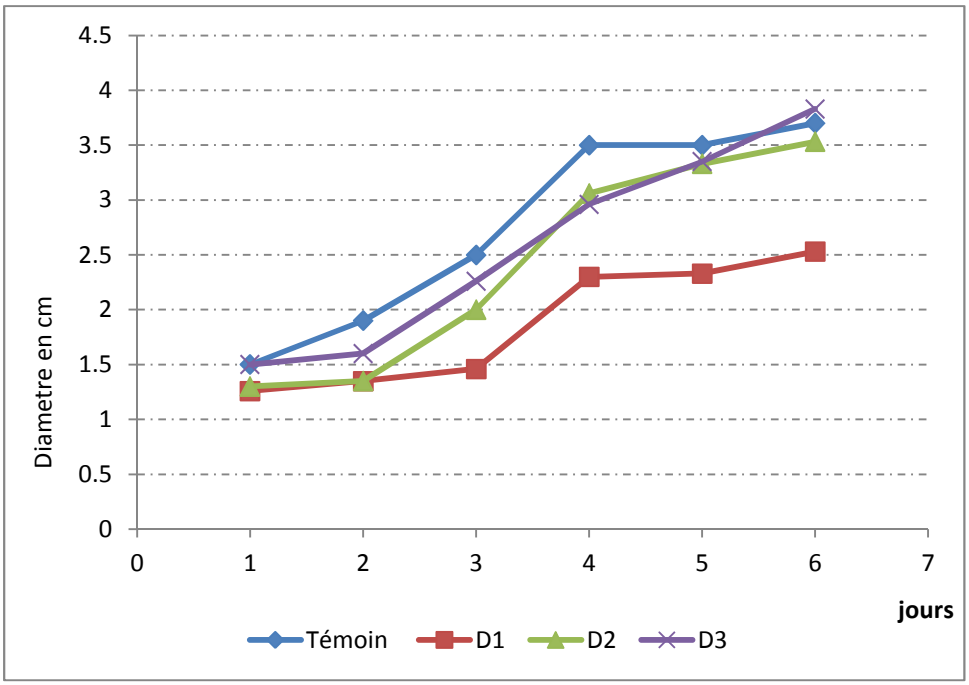


Figure 29 : Evolution de la croissance radiale *d'Aspergillus niger* en présence des trois doses d'HE

La diminution de la vitesse de la croissance radiale correspond à des taux d'inhibitions allant du 16 % à 41.6% pour la dose D1 (20ul HE) avec une maximum d'inhibition enregistré au 3ème jour. Pour la dose D2 de HE (10ul), le taux d'inhibition est entre 4,59% et 28,9 % .Pour troisième dose (5ul), le taux d'inhibition moyen pour les 4 premiers jours est de 13,75%, mais cette inhibition décroit vite au 5éme jours. Ce résultat indique que l'huile essentielle a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger*.

Tableau 05 : Taux d'inhibition d'*Aspergillus niger* enregistrés avec les trois doses d'HE.

jours / Doses	1J	2J	3J	4J	5J	6J
D1	16%	28.94%	41.6%	34.28%	33.42%	31.62%
D2	13.33%	28,94%	20%	12.57%	4.85%	4.59%
D3	0%	30%	9.6%	15,42%	4,28%	-3.51%

2. Effet sur la croissance radiale *d'Aspergillus flavus*

Dans le milieu PDA (Témoin), la colonie d'*Aspergillus flavus* atteins un diamètre du 3.9 cm après 6 jours d'incubation .La vitesse de croissance est de 0,7 cm/jours durant les quatre premiers jours; Par contre en présence de la première dose, le diamètre est de 3.2cm après 6 jours. Ce diamètre est de 3.4 cm en présence de la deuxième dose et il est de 3.66cm en présence de la troisième dose.

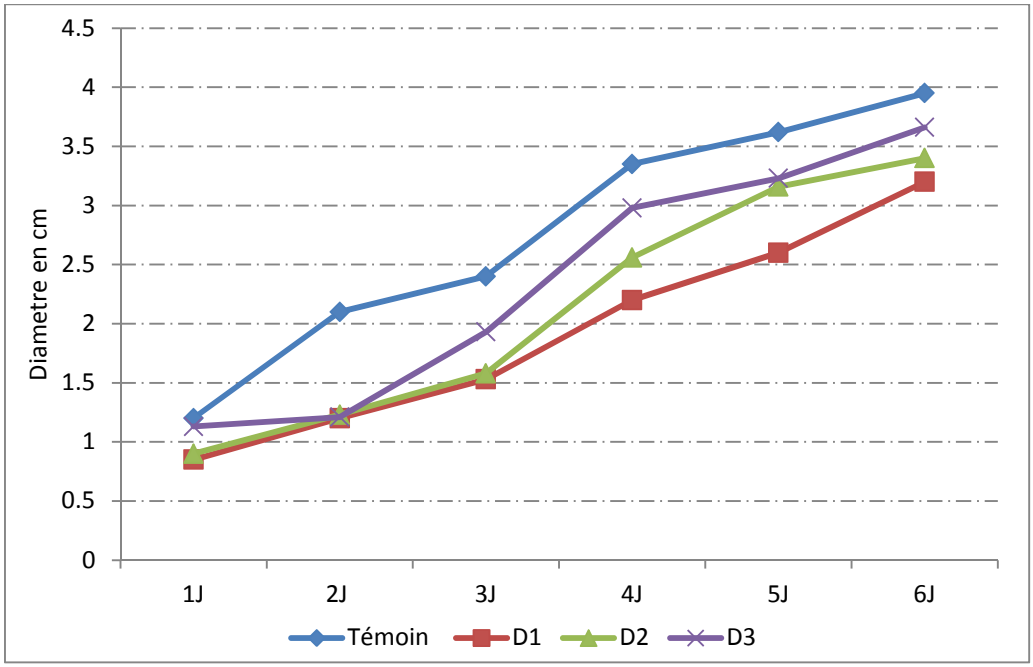


Figure 30: Evolution de la croissance radiale d'*Aspergillus flavus* en présence des trois doses d'HE

Les taux d'inhibition enregistrés en présence des différentes doses d'HE sont présentés dans le tableau n06 .Un taux d'inhibition de la croissance radiale entre 19 et 43% est observé durant les six jours d'incubation en présence de la dose D1. Pour la dose D2, ces taux sont entre 12.7 et 41.4%. Alors que pour la dose D3, ces taux sont encore plus faibles. D'après ces résultats, on conclue que l'HE de *Pistacia lentiscus L* exerce un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus flavus*

Tableau 06: Taux d'inhibition d'*Aspergillus flavus* enregistrés avec les trois doses d'HE.

Jours / Doses	**1J**	**2J**	**3J**	**4J**	**5J**	**6J**
D1	29.17%	42.86%	36.25%	34.33%	28.18%	18.99%
D2	25.00%	41.43%	34.17%	23.58%	12.71%	13.92%
D3	5.83%	42.38%	19.58%	11.04%	10.77%	7.34%

3.Effet sur la croissance radiale de *Cladosporuim cladosporoides*

Dans le témoin, nous avons observé des colonies de *cladosporuim cladosporoides* de 3.8cm de diamètre après 6 jours d'incubation sur PDA, la vitesse de croissance enregistré durant les cinq premiers jours est de 0.6cm /jour. En présence des différentes doses d'HE, la croissance de ce champignon est fortement retardée. Ainsi avec la dose D1, le diamètre des colonies est seulement de l'ordre de 1cm après 6joursd'incubation; et il est égale à 2.6 cm et 3.3cm pour les doses D2 et D3 respectivement.

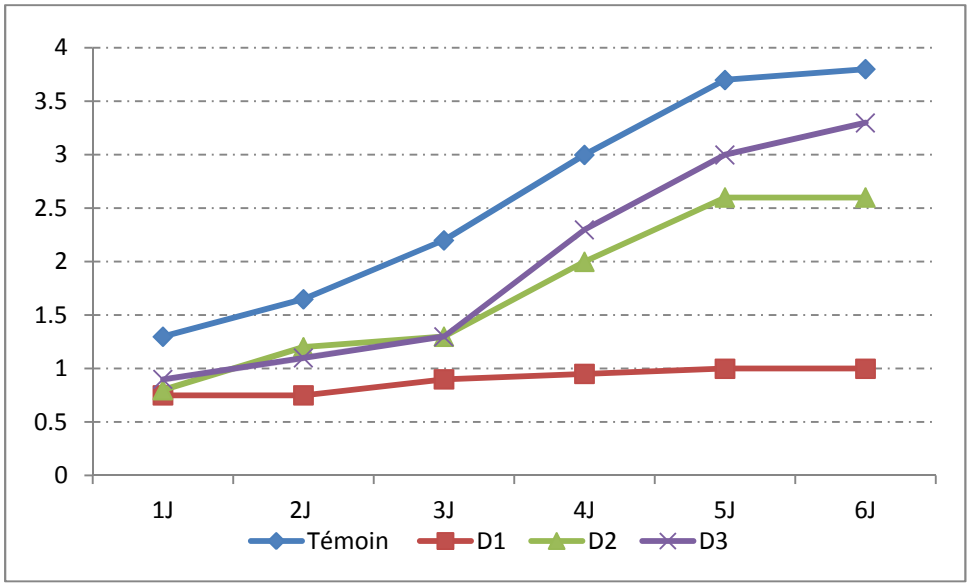


Figure 31: Evolution de la croissance radiale du *Cladosporuim cladosporoides* en présence des trois doses d'HE

Les taux d'inhibition enregistré durant toute la période d'incubation sont résumés dans le tableau n 07 .L'effet inhibiteur le plus important est observé pour la dose D1, pour la quelle le taux d'inhibition augmente en fonction de temps d'incubation pour atteindre son maximum au 6ème jour (73.7%) ; pour les deux autres doses, les taux d'inhibition de la croissance radiale sont entre 27.27 et 40.9% pour la dose D2 et entre 13.15 et 40.9% pour la dose D3. Suite a ces observations on conclue que le HE exerce un effet inhibiteur marqué contre *Cladosporuim cladosporoides*.

Tableau 07: Taux d'inhibition de *Cladosporuim cladosporoides* enregistrés avec les trois doses d'HE

Jours / Doses	1J	2J	3J	4J	5J	6J
D1	42.30%	54.54%	59.09%	68.33%	72.97%	73.68%
D2	38.46%	27.27%	40.90%	33.33%	29.72	31.57%
D3	30.76%	33.33%	40.90%	23.33%	18.91%	13.15%

4.Effet sur la croissance radiale de *Fusaruim verticilliodes*

L'évolution de la croissance radiale de *Fusarium verticilloides* en présence d'HE est illustrée dans la figure n 32. En absence de cette huile, les colonies fongiques atteignent un diamètre de 5.4 cm après six jours d'incubation sur le milieu PDA avec une vitesse de croissance moyenne de 0.85cm/jour durant les quatre premiers jours. En présence de l'HE à la dose D1, les colonies de cette espèce fongique atteignent seulement le diamètre 3.2 cm après les six jours d'incubation. La croissance radiale se trouve également retardé avec les doses D2 et D3 mais de façon un peu moins importante que dans le cas de la dose D1.

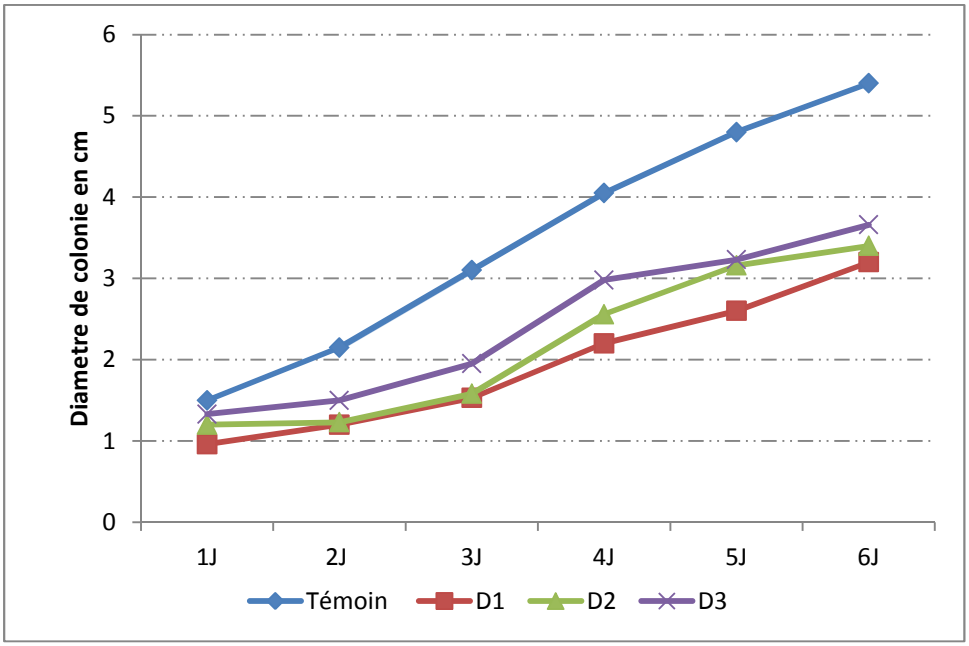


Figure 32 : Evolution de la croissance radiale du *Fusaruim verticilliodes* en présence de trois doses d'HE

Ce retard dans la croissance mycélienne traduit un taux d'inhibition entre 36 et 50.6% dans le cas de la dose D1, et entre 20 et 49% dans le cas de la dose D2. Pour la dose D3, des taux d'inhibition plus faibles sont observés (Tableau n08)

Tableau 08: Taux d'inhibition de *Fusaruim verticilliodes* enregistrés avec les trois doses d'HE.

Jours / Doses	1J	2J	3J	4J	5J	6J
D1	36.0%	44.2%	50.6%	45.7%	45.8%	40.7%
D2	20.0%	42.8%	49.0%	36.8%	34.2%	37.0%
D3	11.3%	30.2%	37.1%	26.4%	32.7%	32.2%

5. Effet sur la croissance radiale de *Fusaruim graminearum*

D'après la figure n33, la croissance radiale de *Fusaruim graminearum* en absence de l'HE atteignent son maximum au bout de 6jours (diamètre de colonie = 9cm), la vitesse de croissance est de 1.4cm/j . En présence de l'HE, la croissance est encore plus importante, ainsi le diamètre de colonies atteint son maximum en seulement quatre jour ce qui correspond à une vitesse de croissance de l'ordre de 2cm/ jour. Les trois doses exercent le même effet stimulateur sur la croissance radiale de cette espèce fongique.

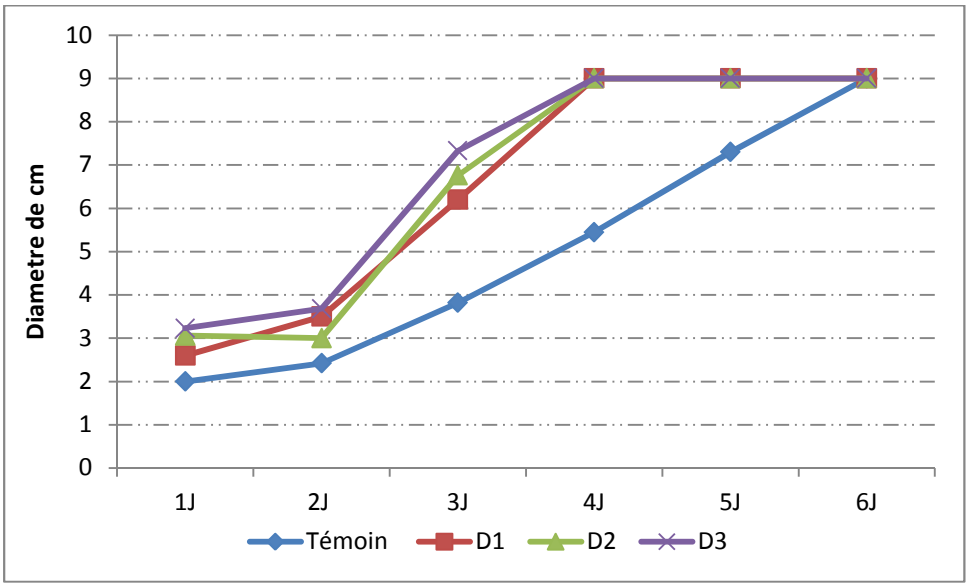


Figure 33: Evolution de la croissance radiale de *Fusaruim graminearum* en présence de trois doses d'HE

Dans cette partie du manuscrit, on a essayé d'évaluer l'activité anti fongique de l'HE de *Pistacia lentiscus* sur cinq souches fongiques (*Aspergillus flavus* et *A. niger* et *Fusaruim verticilloides*, *F. graminearum* et *Cladosporuim cladosporoides*). Pour cela, on a utilisé la méthode de micro-aromatogrammes (appelé aussi Méthode de microatmosphères) ; Le disque imprégné de l'HE n'est pas en contact avec le milieu gélosé. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance

Les résultats préliminaires ont montré un effet inhibiteur de la croissance radiale chez *Aspergillus flavus* et *A. niger*,et *Fusaruim verticilloides* et *Cladosporuim cladosporoides ;* cet effet est très grand sur cette dernière espèce. Ces mêmes résultats ont montré également un effet stimulateur de croissance sur *F. graminearum.*

D'après **Boucharouch et *al* (2010),** l'huile essentielle de *P.lentiscus* serait riche en monoterpénoïdes. Ces derniers sont connus pour leur efficacité contre les champignons **(Singh et *al.,* 2002).** Par ailleurs**,** Meghazi (2015) a enregistré de petites zones d'inhibition exercé par l'HE de *Pistacia lentiscus* sur l'espèce *Fusarium verticilliodes* et sur l'espèce *Aspergillus ochraceus.*

L'efficacité antimicrobienne d'huile essentielle de lentisque est due à un certain nombre des composants fonctionnant en synergie (**Derwich et *al.,* 2010**). L'α-pinène et le β-pinène sont bien connus comme produits chimiques ayant des potentiels antimicrobiens. Cependant, l'activité antifongique d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est due à l'α-pinène qui se présente en quantité appréciable dans cette huile. Un autre composé (le linalol) possède aussi une large gamme d'activité antibactérienne et antifongique (**Imelouane et *al.,* 2009**).

Plusieurs travaux ont étudié le mode d'action des huiles essentielles sur les champignons. Ainsi, le mode d'action de l'effet fumigant de l'huile essentielle d'*Ammoïdes pusilla* sur l'espèce *A .flavus* a été étudié par **Kedia et *al* (2015)** et montre des perturbations au niveau de la membrane plasmique des hyphes. D'après **Paul et *al* (2011),** la plupart des études sur le mécanisme de composés phénoliques se sont concentrées sur leurs effets sur les membranes cellulaires. La grande diversité des composants des huiles essentielles leur confère l'avantage d'avoir différents modes d'action sur plusieurs genres de champignons et empêche ainsi l'apparition du phénomène de résistance par le pathogène **(Cruz Cabral et *al.,* 2013).**

Des études ont prouvé que l'activité antifongique des huiles essentielles peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément. Cette dominance d'activité des

essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des huiles **(Ghanmi et *al.*, 2010).**

II.3.1.2.Evaluation de l'effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* en traitement de grain

Dans cette partie de travail, on a essayé d'évaluer l'HE à différentes concentrations en tant que traitement de semence ou de grains de blé. Et on l'a comparé avec trois matières actives fongicides synthétiques homologuées en Algérie. Les résultats de l'effet des trois fongicides et de l'HE du *Pistacia lentiscus L* sur un lot de grains de blé tendre importé sont présentés dans la figure n 34, le tableau n09 et le Tableau n 10.

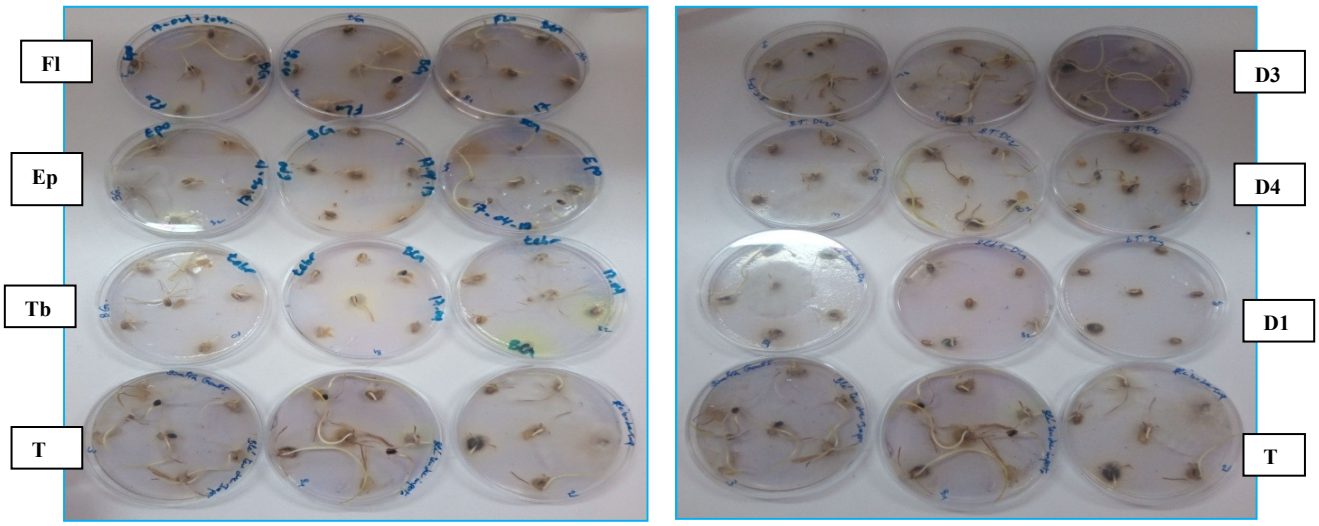


Figure 34: l'effet des fongicides (à gauche) et d'HE du *Pistacia lentiscus L* (à droite) sur les grains du blé tendre aprés 7 jours d'incubation .(Fl : Fludioxonil ; Ep : Epoxiconazole ; Tb : Tébuconazole ; T : Temoin , D1=1ml/5g de grains ; D2=400ul/5g de grains ; D3=200ul/5g de grains)

La phytotoxicité de l'HE et de fongicides est évalué à travers le calcule des taux de germination des grains de blé. D'après les résultats obtenus ; on a remarque les doses D2 et D3 causent un retard de la germination (taux =94.4% au 4eme jour, taux= 100% au 7eme jour). Pour la D1 qui correspond à 1ml/5g (=200ul/g) , l'inhibition de la germination est importante et persistante (50% après 7jours d'incubation). Cette inhibition traduit une phytotoxicté à cette dose.

Le retard de la germination des grains de blé est observé également dans le cas des trois fongicides (tableau 10). Ainsi on a constaté le taux de germination le plus faible au 4eme jour dans le cas de tebuconazole avec 83.83%, suivi de Fludoxinil (88.88%).

Tableau 09: Le taux de germination et contamination des graines traités par l'HE de *P. lentiscus* L.

	Taux de germination		Taux de contamination	
	4j	7j	4j	7j
Témoin	100%	100%	22.22%	100%
Dose 01	38.88%	50%	22.22%	50%
Dose 02	94.44%	100%	27.77	38.88%
Dose 03	94.44%	100%	50%	55.55%

Le taux de contamination de lot temoin est de 22.22% après 4 jours d'incubation, et il est entre 22.22 et 50% en présence de l'HE ; en présence de fongicides, le taux de contamination était nul dans les 4 premiers jours d'incubation.

Après 7 jours, le taux de contamination dans le lot témoin est de 100% alors qu'il est entre 38.88 et 55.55% pour les lots traités avec l'HE. Le taux de contamination enregistré dans le cas des lots traités par les fongicides est entre 16.66% et 55.55%. Le taux de contamination le plus faible est observé dans le cas de Fludoxinil et Tebuconazole.

Tableau 10 : Le taux de germination et contamination des grains traités par les fongicides .

	Taux de germination		Taux de contamination	
	4j	7j	4j	7j
Témoin	100%	100%	22.22%	100%
Tebuconazole	83 .83%	100%	0%	16,66%
Epoxiconazole	94.44%	100%	0%	55.55%
Fludoxinil	88.88%	100%	0%	16.66%

Les contaminants fongiques qui ont résisté à l'HE et à l'epoxiconazole sont essentiellement du genre *Fusarium* (Figure n 35) ; l'identification de ces contaminants montre qu'il s'agit de *F. graminearum, , .F. avenaceum , F .solani.*

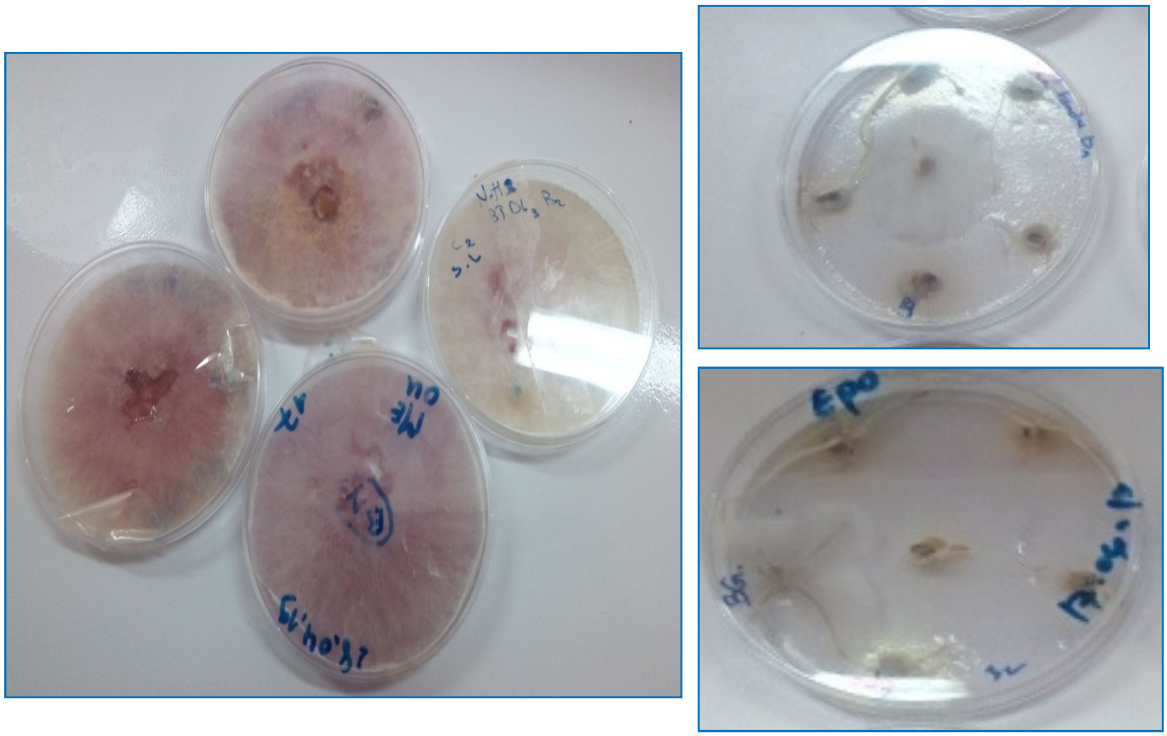


Figure 35 : Les souches de *Fusarium* détectés sur les grains de blé tendre : à droite sur le milieu DCPA (milieu d'isolement), à gauche sur le milieu PDA (milieu de purification)

L'effet phytotoxique des HE de était comparable à celui de certaines d'autres huiles essentielles testées dans des essais biologiques similaires sur boîtes de Pétri. Par exemple, **Marichali et *al* (2014)** ont indiqué que l'huile de carvi de Tunisie présentait un fort potentiel phytotoxique contre la germination des graines et l'élongation de la radicule du maïs, du lin et du blé

Sur la base de la composition chimique et des principaux composants qui jouent généralement un rôle principal dans l'activité biologique de mélanges tels que les huiles essentielles, l'efficacité d'un mélange peut, dans une certaine mesure, être prédite **(Kalemba et Kunicka, 2003; Stokłosa et *al.*, 2012).** Des recherches comparatives sur l'activité phytotoxique de 47 monoterpènes en phase vapeur (**Vokou et *al.*, 2003**) et de 27 monoterpènes dans une expérience in vitro **(De Martino et *al.*, 2010)** ont montré que les alcools et cétones monoterpéniques étaient les plus actif, suivi par les aldéhydes, les éthers, les alcools et les

phénols. Les acétates des alcools monoterpéniques et des hydrocarbures étaient les moins inhibiteurs. **Angelini et *al.*, (2003) et Azirak** ont attribué l'activité phytotoxique de différentes huiles essentielles à leurs constituants principaux appartenant aux monoterpènes oxygénés. Ces monoterpènes oxygénés principalement des alcools et des cétones, ont été classés par d'autres auteurs comme facteurs prédictifs des activités herbicides des huiles essentielles (**Lopez et *al.*, 2009; Verdeguer et *al.*,2009; Mutlu et *al.*, 2010)**. Ces auteurs ont indiqué que le monoterpène était le principal composé phytotoxique des huiles essentielles. De même, **Rolli et *al*** (2014) ont révélé que des teneurs plus élevées en alcool monoterpéniques, aldéhydes et phénylopropanoïdes dans une huile essentielle peuvent être un indicateur d'une phytotoxicité plus élevée

II .3.1.3.Evaluation de l'activité antibactérienne

La sensibilité des deux bactéries *Erwinia amylovora* (*EA*)et *Erwinia carotovora (EC*) vis-à-vis d'HE du *Pistacia lentiscus* a été mise en évidence par la technique de diffusion sur milieu gélosé (figure n36) Trois doses ont été testés : D1 (20ul), D2(10ul) et D3 (5ul).

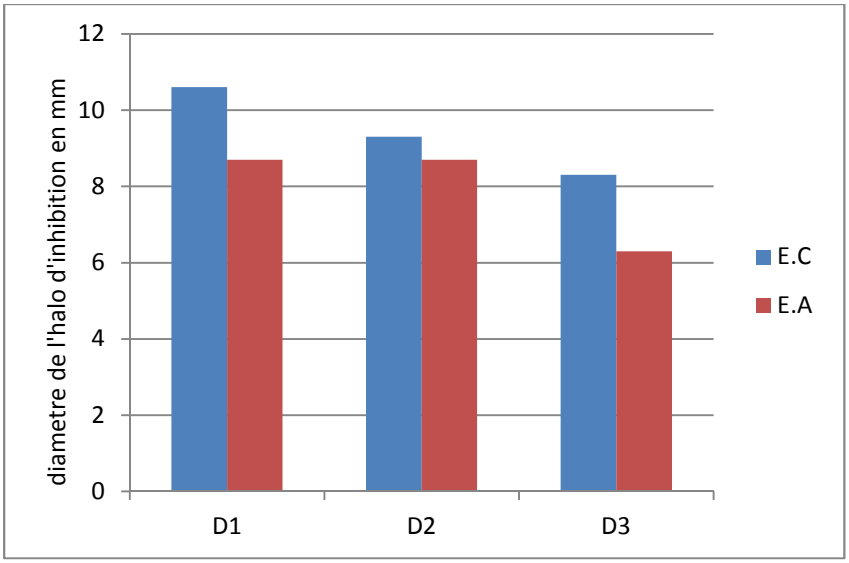


Figure 36: zone d'inhibition enregistrée pour les deux souches

Le résultat obtenus montrent que l'activité antibactérienne de l'HE est fonction de la bactérie cible et de la dose, il s'avère que les deux souches testées sont peu sensibles à sensible vis-à-vis de l'HE à la dose D1 et D2; et que *E .Carotovora* est plus sensible qu'*E. Amylovora*

La zone d'inhibition le plus importante (10.6 mm) est observé pour EC avec la dose 1 (tableau n 11) ; Et la la zone la plus faible est observé par EA avec la dose D3 (6.3 mm). donc cette souche est résistante à HE à cette concentration.

Tableau 11: Halo d'inhibition en mm provoqué par l'HE avec différentes concentrations.

Bactérie / **Dose**	***Erwinia carotovora***	***Erwinia amylovora***
Dose 01	10.6 mm Sensible	8.7mm Peu Sensible
Dose 02	9.3mm sensible	8.7mm Peu Sensible
Dose 03	8.5mm Peu Sensible	6,3mm Résistante

Beaucoup de travaux rapportent une efficacité avérée de certaines huiles essentielles pour inhiber le développement d'*Erwinia* **(Marzieh et *al.,* 2012).** L'activité biologique des huiles essentielles est probablement liée a une relation avec les groupes fonctionnels des composants, leurs proportions et l'interaction entre eux **(Dorman et Deans, 2000 ; Marino et *al.,* 2001 ; Delaquis et *al.,* 2002).** L'organisation structurale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif. Cette différence structurale la rend moins sensible à l'action des huiles essentielles et des extraits de plantes **(Kalemba et Kunicka, 2003)**.

La lutte contre *E.carotovora* repose principalement sur l'utilisation des bactéricides. Leur efficacité est variable selon le produit lui-même, son mode d'application, sa rémanence, sa fréquence d'apport et les stades de la plante durant lesquels il est apporté **(Rousselle et *al.,* 1996).**

D'une manière générale, il a été observé une multitude d'actions des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique **(Davidson, 1997)**. Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs

variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre **(Kalemba et *al.,* 2003).**

L'action des huiles essentielles est due à la composition du Terpinèn, Eugénol et 1,8-cinéole, et malgré la petite concentration dans la composition, ces composés sont déjà reconnus pour leur activité antibactérienne.

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de la recherche sur les procédés de le protection phytosanitaire basés sur l'utilisation de nouvelles formulations d'extraits naturels de plantes contre certaines maladies fongiques et bactériennes, nous nous sommes intéressés à l'étude in vitro de l'effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* sur cinq champignons et deux bactéries phytopathogènes , et nous avons étudier la possibilité d'utiliser cette huile comme traitement des grains de blé.

La méthode de microatmosphére nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus l* vis-à-vis des souches fongiques (*F. graminearum , F. verticillioides, A. niger, A. flavus*, C. *cladosporioides*). Nos résultats indiquent que l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus l* a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne de toutes les souches testées à l'exception de *Fusaruim graminarearum* (vitesse de croissance 2cm /j).

Pour l'activité antibactérienne, la méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'HE du *P. lentiscus* L de vis-à-vis de deux bactéries testés (*Erwinia amylovora* et *Erwinia carotovora*) . les résultats montrent que les deux souches sont sensibles à peu sensibles à la dose de 20ul et 10ul et que la souche de *Erwinia carotovora* est la plus sensible (diamètre d'halo d'inhibition entre 9.3 et 10.6mm).

L'utilisation de HE de *P. lentiscus* L sur les graines du blé tendre en tant que traitement de grains a montré que HE à la dose D1 de 200ul / g de grains est phytotoxique et empêche la germination des grains de blé (taux de germination entre 38.88% et 50%). Tendis que les Doses D2 et D3 ne sont pas phytotoxique (taux de germination 100%) et permettent une protection des grains contre les contaminants fongiques égale ou meilleure que dans le cas de traitement par l'Epoxiconazole (Taux de contamination de 55,55%) mais moins efficace que dans le cas de traitement des grains avec le Tebuconazole et Fludoxinil (Taux de contamination entre 0% et 16.66%).

En perspective, il serait intéressant :

- De mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus L,* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés responsables de cette activité antifongique et antibactérienne.

- D'étudier le mode d'action des huiles essentielles pour maximiser leur exploitation et leur utilisation comme moyenne du lutte contre les maladies phytopathogénes et les semences pour remplacée les produits chimiques.

Références bibliographies

1 Afnor ; 2000.Huiles essentielles .échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2).

2 AK B.E., et Parlakci H.;2009. *Pistacia lentiscus* in the mediterranean region in turkey. *Acta Hort.* (ISHS) 818 Pp77-82

3 Alcaraz B. ; 1979. Etude de la juniperaie littorale ceranaise (Ouest Algérie), volume I. Edit Ecol médit, 127 p.

4Al-Saghir M.G., D.M. Porter et E.T. Nilsen ; (2006). Leaf anatomy in *Pistacia* species (Anacardiaceae). J. Biol. Sci., 6: 242-244.

5 Ali-Shtayeh M. S. et Abu Ghdeib S. I.; 1999. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. Mycoses 42, 11/12, 665–672 *in* Dogan O, Baslar S, Aydin H, Mert HH (2003). A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta Bot. Croat.* 62 (2):73–88.

6 Ali SS, Kasoju N, Luthr A, Singh A, Sharanabasava H, Sahu A et Bora U. ;2008. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41: 1–15.

7 Amarowicz, R.; Dykes, G. A. and Pegg, R. B. (2008). Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagoypyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia*, 792: 17–219.

8 Angelini L, Carpanese G, Cioni PL, Morelli I, Macchia M, Flamini G .(2003) Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitor. J Agric Food Chem 51:6158–6164

9 Azirak S, Karaman S (2008) Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. Acta Agric Scand Sec B Soil Plant Sci 58:88–92

B

10 Baba Aissa F. ; (1999). Encyclopédie des plantes utiles (flore d'Algérie et du Maghreb), Edit Coyright librairie moderne, Algérie, 368p.

11 Bachrouch o, Mediouni-Ben Jemaa J Et Waness Wissem A; (2010). Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pisracia lentiscus* L.

12 Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.

13 Bajpai V.K. and Kang S.C., 2010. Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of Metasequoia glyptostroboides Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: pp. 327-336.

14 Balasundrum, N., Sundrum, K. et Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99 (1): 191-203.

15 Barlow SM. (1990). Toxicological aspects of antioxydant used as food addives. in : *Food Antioxydants*, Hudson BJF. (ed), Elseveir, Amsterdam, 253-307.

16 Belhadj, S., (2000). Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie, p 108.

17 Bellakhdar, J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris, P. 764.

18 Belfadel F. Z; (2009). Huile de fruits de Pistacia lentiscus Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Memoire Magister. Universite Mentouri Constantine.136p.

19 BELOT. A. ; 1978. Dictionnaire des arbres et arbustes de Jardin, Edit Bordas, Paris, 383p.

20 Benhammou N., Atik Bekkara F. Et Panovska T. K. ;(2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2, Pp22-28.

21 Benrokia H et Aouar Kh (**2015**) -etude de l'activite antibacterienne des extraits de pistacia lentiscus Mémoire MasterII .Université Djilali Bounaama Khemis Miliana83p.

22 Benzie I FF et Strain JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power : the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.

23 Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., and Benboubetra, M. (2010). Kinetic Study on theInhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases. J of Medicinal.

24 Bernard HREC, Johnsen PD, Killworth et Robinson S. (1989). Estimating the size of an average personal network and of an event population. In: The *Small World*, M. Kochen, Ed., 159–175.

25 Berset C et Cervelier ME. (1996). Methods of estimating the degree of lipide oxidation and of measuring antioxidizing power. *Science des Aliments*, 16, 219-245.

26 Boar R. B., Couchman L. A., Jaques A. J. et AND Perkins m. j.; (1984). 'Isolation from Pistacia resins of a bicyclic triterpenoid representing an apparent trapped intermediate of squalene 2,3-epoxide cyclization', *Journal of the American Chemical Society* ,106,Pp 2476-

27 Bossarde R. et Cuissance P. ; 1986. Arbre et arbustes d'ornement de région méditerranée, Edit Additif, 600 p.
2477.

28 Bossé, Y.; Joanisse, D. and Boulay, M. (2003). Modulations redox de la contraction musculaire. *Science et Motricité*, 50 (3): 7-31.

29 Bouhadjra K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge p45, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. p25

30 Bouhdid S., (2009). Activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle : Application biotechnologique pour l'amélioration de la qualité des boyaux naturels. Thèse de doctorat. Université Abdelmalek. Tétouan.

31 Boukeloua A. ; (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmaco-toxicologique d'une préparation topique à base d'huil de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Mimoire de Magistéra.Univesité Mentouri-Constantine.82p.

32 Boullard B. ; (2001). Plantes médicinales du monde, croyances et réalités, édit Estame, Paris ,636 p.

33 Bousbia N., (2003) Extraction et identification de quelque huile essentielle (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de magister. I. N. A. Alger. P : 38-115.

34 Bruneton J. ; (1999). Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3eme Edition. Edition technique et documentation. Lavoisier. 1120p.

35 Bussy A. *J. Pharm.* *Chim.*, 1840, *26*, 39.

36 Cahagnier B., 1998- Céréales et produits dérivés. *In* : Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). *Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 392-414.

37 Caillet S et Lacroix M. (2007). Les huiles essentiellesleur propriéties antimicrobienne etleur applications potentielles en alimentaire.*INRS-INSTITUT ARMAND-FRAPPIER*, p,1-8.

38 Chami F., (2005). Oregano and clove essential oils induce surface alteration of saccharomyces cerevisiae. Phytother. Res.19 (5), 405-8.

39 Chaumont J.P., Mandin D., Sanda K., Koba.Et De Sousa C., (2001). Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielle de lamiacées togolaises vis- à-vis de germes représentatifs de la microflore cutanée. Acta Bol. Gall, 148 ,93-101.

40 Cheng S.S., Liu J-Y., Hsui Y-R. and Chang S-T., 2006. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource Technology* 97: pp. 306–312.

41 Chao S.C, Young D.G. &Oberg G.J., 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential oil Research*. 12, p:639-649.

42 Cortina J., Green J.J., Baddeley Et Waston C.A. ; 2008. Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* L.seediling under contrasting water supply :Atest of the pipe stem therory .*Experimentale Botany*, Vol62Pp343-350.

43 Cowan, M. (1994). Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Revieius*,12: 565-571.

44 Cowan M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiologu rev* 12(4): 564-582. les. *Thèse de Doctorat*. Lile. p. 316.

45 Crane J. C. Et B. T. Iwakiri ; 1986. Pistachio yield and quality as affected by rootstock. *HortScience* 21: 1139–1140.

46 Crete P. ; 1989. Précis Botanique, Systématique Des Angiospermes, 2ème Edit, Paris , 247 P.

47 Cyril, T. (2001).étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus* Roseusen, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.

48 Danglettere L. (2007). Apport des spectroscopies moléculaires à l'étude desmécanismes de fixation des ions métalliques polluants par les substances humiques. Complexationde Al(III), Pb(II) et Zn(II) par des systèmes modè **.**

49 De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. & Marquier P., 2002. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Revue hygiène. Vol. X - N°3, pp. 248- 254.

50 De Martino L, Mancini E, Marandino A, de Almeida LFR, De Feo V (2012) Chemistry and antigerminative activity of essential oils and monoterpenoids from Mediterranean plants. Curr Bioactive Compd 8:13–49

51 Debuigne. G., Larousse des plantes qui guérissent, Ed. Larousse. 1974.

52 Delaquis P. J., Stanich K., Girard B., Mazza G., **2002.** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and *eucalyptus essential* oils. Int. J. Food Microbiol. 74, 101–10910.

53 Derwich E., Benziane Z. & Boukir A., 2010. GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.,* 6 (3):pp. 191-198.

54 Dorman H. J. D. et Deans S. G., 2000. Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils, pp : 308-316.

55 Dorman H.J.D., (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oil. Journal of Applied Microbiology. 88-308-316.

56 Dugo G., Mondello L., Prevlti., Begum J., Yusuf M. Et Chowdhury J.U., (1998). Studies on the essential oil bearing plants of Bangladesh. Composition of the leaf oils of three cymbopogon species. Essent. Oil Res .10.301.306.

57 Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R. ;. La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222, 1997.

58 Faye O., Lo M .,Gaye O.(1997) Connaissance et circuits thérapeutique relatifs au paludisim en zone rural de sénégalaise. Médecin tropicale 57.1 6 1.164

59 Fiedler, K., Schutz, E., and Geh, S. (2001). Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. Int J Hyg.Environ Health. 204[2-3], 111-121

60Fleuriet, A. (1982). Thèse Doc. Etat, Montpellier.

61 Furusawa, M., Tanaka,T., Ito, T., Nishikawa, A., Yamazaki, N., Nakaya, K.N., Matsuura, M., Tsuchiya, H., Nagayama, M. (2005). Antioxidant activity of hydroxyflavonoids. J.Health. Sci. 51(3): 376-378, 2005.

62 Gacem M.A., Ould El Hadj Khelil A. Et Gacemi B., 2011. Etude de la qualité physico-chimique et mycologique du blé tendre local et importe stocke au niveau De L'office Algérien Interprofessionnel Des Céréales (OAIC) de La Localité De Saida (Algérie). Algerian journal of arid environment vol. 1, n° 2, Décembre 2011: 67-76.

63 Gadamer J. *Berichte Deutschen Chemischen Gesselschaft*, 1897, 2322-2327.

64 Ghedira, K. (2005). Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.

65 Ghanmi M. , Satrani B., Aafi A. , Isamili M.R. , Houti H. , El Monfalouti H., Benchakroun K.H. , Aberchane M. , Harki L. , Boukir A. , Chaouch A. et Charrouf Z., 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (Artemisia herba-alba) de la région de Guerçif (Maroc oriental). *Phytothérapie (2010) 8: 295–301.*

66 Gravesen, S., Frisvad, J. C., and Samson, RA. (1994). Microfungi. 1st edition, -168 p. Copenhagen, Munksgaard.

67 Gardeli, C.; Vassiliki, P.; Athanasios, M.; Kibouris, T. and Michael, K. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107: 1120–1130.

68 Guignard J. L. 2000. Biochimie végétale. 2ème édition. *Edition Dunod*, Paris, pp 198-207

69 Guo L, Xie MY, Yan AP, Wan YQ et Wu YM. (2006). Simultaneous determination of five synth étic antioxydants in edible vegetable oil by GC- MS analytical and bioanalytical and bioanalytical. Chemestry, 386(6), 1881-1887.

70 Gurib-Fakim A. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. **27:** 1-93.

71 Guo L, Xie MY, Yan AP, Wan YQ et Wu YM. (2006). Simultaneous determination of five synth étic antioxydants in edible vegetable oil by GC- MS analytical and bioanalytical and bioanalytical. Chemestry, 386(6), 1881-1887.

72 Halberstein, 2005 Comparaison de trois méthodes d'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : *Artemisia herba alba Asso.*
Thèse de master en sciences. Université Mentouri Constantine.

73 Halkier B.A., Du L.C., *Trends Plant. Sci.*, 1997, *2*, 425-431. 18 Rausch T., Butcher D.N., Hilgenberg W. *Physiol. Plant*., 1983, *58*, 93-100.

74 Hamdani, D. (2012). Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques de la bruche de Haricot *acanthoscelides obtecus* say. Coleoptera Bruchidae. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Mémoire en vue de l'obtention de magister en sciences biologiques. 97p.)

75 Hammer K ,1999- PAST :Palaeontological Statistic software package for education and data analysis. http://folk.uio.no/ohammer/past, Palaeontologica Electronica 4(1):9 p.

76 Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. (1993). The correlation between active Oxygens

scavenging and antioxidative effects of flavonoids. Free Radic. Biol. Med. 16: 845-850.

77 Iauk L., Ragusa S., Rapisarda A., Franco S. Et Nicolosi V. M.; 1996. In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. extracts: Preliminary report. J. *Chemotherapy* 8,Pp 207–209.

78 Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M., Benzeid H Et Khedid K.; 2009. Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentate.* International *Journal of Agriculture & Biology*. 11,Pp 113-118.

79 Ingri A. ET Shconfelder. P. ; 1988. Guide de la flore méditerranéenne, édit S. A Fribourg, Suisse, 314 p.

80 **Inouye S., (2001).** Screening of the antibacterial effect of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method .J.Ifect.Chemother.7 (4): 251**.**

81 Iori R., Leoni O., Fontana F., Lazzeri L., Palmieri S., Attene G., Ciriciofolo E., Leto C., Mosca G. *Riv. di Agron*., 1990, *2/3*, 243-249.

82 Iserine ; 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soin.2ième édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296.-4.

83 Isfendyaroglu M ; 2007. Hermaphrodilism in *Pistacia atlanticas* Desf :Anew report froum Ismir / Turkey.*Eg Univ.Ziraat Fak Derg* .Vol44(3).Pp242-244.

84 Isman M. 1999. Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook*, Pp 68-72.

85 Isman M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management.CropProtection., N° 19. pp 603-608.

86 Isman M B., Machial C M. 2006. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: Rai, M., Carpinella, M.C. (Eds.),

87 Kalemba D, Kunicka A (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr Med Chem 10:813–829

88 Karamać M., Pegg R.B. (2009). Limitations of the tetramethylmurexide assay for investigating the Fe (II) chelation activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**(14): 6425-6431.

89 Kedia A., Prakash B., Mishra P.K., Dwivedy A.K., & Dubey N.K. 2015-*Trachyspermum ammi* L. Essential oil as plant based preservative in food systm, Industrial Crops and Products, 69 :104-109

90 Khenaka, K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine. p19, 24.

91 Kim KS., Chung BJ., Kim HK. 2000. DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, Pests and Diseases, (1): 41-46.

92 Klaric M.S., Kosalec I., Mastelic J., Pieckova E. & Pepeljnak S., 2006. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris L.*) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, 44 (1): pp. 36-42.

93 Kliebenstein D.J., Kroymann J., Mitchell-Olds T. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, *8*, 264-271.

94 Kothe H ., 2007, 1000 plantes aromatiques et médicinales . ed : terre edition . P 7 -13

95 Koumagalou B.(1992).Le stockage des produits agricoles et tropicaux. 4 emeED.Fondation A gromisa, Wageningen. PP 8-18.

96 Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

96 **Lahlou M. 2004**. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils.Phytoth. Res.18 :435-448.

97 Lamiri A., Lhaloui S., Benjilali B., Et Berrada M. ; 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crop Research*, Vol 71, Pp 9-15.

98 Lauzon M. (2007). Fusariose de l'épi chez le blé et l'orge.cérom.CanadaNo2.01.p5.

99 Leliott R.A. & Dichey R.S.,(1984). *Erwinia. In :* krieg and Holt, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1, 469-476.

100 Leslie J.F., Summerell B.A., 2006. The *Fusarium* laboratory Manual. Blackwell publishing, Ames, USA.388 p.

101 **Li C, Oldham CD et May SWN. (1994).** N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine asanalternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono-oxygenase catalysis. *Biochem. J*, 300: 31-36.

102 Lis-Balchin M.,2002.Lavender: the genus *Lavandula.* Taylor and Francis, London.p: 37, 40,50, 155-200.

12-Ghedira, K. (2005). Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.

103 Long L., Scadino A., Vasapollo G. ; 2007. Identification and quantification of anthocyamine in the benies of *Pistacia lentiscus* L. *Pillyrea latifolia* L.and *Rubia peregrina* L.Innovative *Food Science & Emerging Technologies* .Vol8(3),Pp360-364.

104 Lopez ML, Bonzani NE, Zygadlo JA (2009) Allelopathic potential of Tagetes minuta terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. Biochem Syst Ecol 36:882–890.

105 Madhavi Vet Lele SS. (2009). Laccose : Properties and application, Bioresource 4(4) ,1694-1717.

106 Magan N. & Olsen M., **2004**-Mycotoxines in food: Detection and control, Woodhead Publishing in Food Science and Technology.P:190-203.

107 Magiatis P., Melliou E., Skaltsounis A. L., Chinou I. B. Et Mitaku S. ;1999. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Pistacia le lentiscus var. chia. *Planta Medica*, vol 65,Pp 749–752.

108 Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols:

food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.

109 Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p

110 Mardarowicz M., Wiwart M., Poblocka L Et Dynowska L. ; 2002. Antifungal Activity of the Essential Oils from Some Species of the Genus *Pinus*. Naturforsch. 57,Pp 478-482ntiscus var. chia. *Planta Medica*, vol 65,Pp 749–752.

111 Marfak, A. Radiolyse gamma des flavonoides : étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. ***77,***thèse de *doctorat*, soutenue devant l'université de Limoges. Faculté de Pharmacie. 2003.

112 Marichali A, Hosni K, Dallali S, Ouerghemmi S, Hadjltaief HB, Benzarti S, Kerkeni A, Sebei H (2014) Allelopathic effects of Carum carvi L. essential oil on germination of wheat, maize, flax and canary grass. Allelopathy J 34:81–94

113 Marino G, Di Marco P, Mandich A, Cataudella S., **2001.** Change in plasma cortisol, metabolites, osmotic pressure and electrolytes in response to different blood sampling procedures in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). J Appl Ichthyol 17 : 115-120.

114 Marner F.J., Freyer A. Et Lex J. ; 1991. Triterpenoids from gum mastic, the resin of *Pistacia Lentiscus*. *Phytochemistry* 30, Pp3709-3712.

115 **Mathur S. B. et Kongsdal O., 2003.** Common laboratory seed health testing methods for

detection fungi. First edition, Kandrups Bogtrykkeri edition. 436p.

116 Mauro, N. M. (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.

117 Mediouni-Ben Jemaa, O. Bachrouch, B. Marzouk Et M. Abderrabba ; 2010. Fumigant toxicity of essential oil from *pistacia lentiscus* L. (anacardiacea) against stored-product insects ishs. *Acta horticulturae* . vol 30 , n° 853, Pp. 397-402.

118 Merghem R. (2009) Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions***:** 95-121)

Medic-Šarié, M., Jasprica, I., Smolĕié-Bubalo, A., Mornar, A. (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layar chromatography of flavonoids and phenolic acids. Croatica Chemica ACTA, CCACAA. 77 (1-2):361-366**.**

119 Merrien A., Merle C., Quinsac A., Ribaillier D., *CR. 8th Intern. Rapeseed Conf. Saskatoon* (Canada), 9-11/07/1991,1720.

120 Messiaen C. M., Belliard-Alonzo L., Barrière Y. de la Tullaye B., 1976. Etude qualitative des Fusarium roseum dans des sols des environs de Versailles, sous diverses rotations ou associations végétales. Ann. Phytopathol., 8, 269-281.

121 Meterc, D.; Petermann, M. and Weidner, E. (2008). Drying of aqueous green tea extracts
using a supercritical fluid spray process. *Journal of Supercritical Fluids*, 45: 253–259.

122 Metro. P. Sauvage ; 1955. flores des végétaux ligneux de la mamora, Rabat, Maroc, 468p.

123 Mohammedi Z. & Fouzia A. 2007. Pouvoir fongistatique de l'huile essentielle d'une plante aromatique sur la croissance des champignons. Université Abou Bakr Belkaïd – Tlemcen, Algérie. 3p.

124 Mohammedi Z., Bachik S. & Belkaroube N., 2010. Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. *LesTechnologies De Laboratoire*.Vol. 5, N°19, pp.10-15.

125 MonteiroM, FarahA, PerroneD, TrugoLC, DonangeloC. (2007). Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized inhumans. *Journal of Nutrition.***137**: 2196-2201.

126 Monties B., Marine-Font A., Douillard, R. (1969). Propriétés spectroscopiques des polyphéenols. *Ann Physiol Vég*. **11**(4): 313-339.

127 Mulas M., Abeltino P. Et Brigaglia N. ; 1998. Evaluation of *Pistacia lentiscus* L. genetic resources to select ecotypes having high efficiency in the colonisation of marginal lan

128 Mutlu S, Atici O , Esim N (2010) Bioherbicidal effects of essential oils of Nepeta meyeri Benth. on weed spp. Allelopathy J 26:291–300 ds. *Acta Horticulturae*, Vol 457, Pp 279-286.

129 Nesco I. Et Sauvage C. ; 1966. Fichiers des espèces climat,*edit recherch agron Maroc*, 332 p.

130 Odile C and Daniel R. (2007) Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3eme Edition, *Wolters Kluwer France*: 141.

131Onawunmi G.O., (1984). Antibacterial constituents in the essential oil of Cymbopogon citrate. Ethnopharmacol. 12(3): P: 279-86.

132 **Ouelmouhoub S. ; 2005.** Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie). *In* BELFADEL F.Z. ; 2009-Huile de fruits de Pistacia lentiscus Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Memoire Magister. Université Mentouri Constantine.136p.

133 Papageorgiou V.P., Bakola-Christianopoulou M.N.B., Apazidou K.K. Et Psarros E.E.; 1997. Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *Journal of chromatography*, 769 (2),Pp263-273.

134 Patterson,T. F., Mcginnis, M. R., And Ed. (2009). The fungi :description. Site Doctor Fungus . Mycoses Study Group.

135 Paul S., Dubey R.C., Maheswari D.K., Kang S.C., 2011- *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. Vol 22 : 725_731.

136 Pelleti A . ; 1987. Fleurs et plantes médicinales, Tome I, édit, Delechauxest Niestlé S.A Suisse, 191 p.

137 Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxydants. *Journal of Natural Products*, 63(7): 1035- 1042.84

138 Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*.36, pp.679-684.

139 Quezel P. Et Santa S. ; 1962. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I. Ed CNRS, Paris, p 611.

140 Ramakrishna A and Ravishankar G A. (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. **6(11),** 1-12.)

141 Rakotonanahary, M. (2012). thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.

142 Rayour L., (2003). Mechanism of bactericidal action of clove oils and of their phenolic major components in Escherichia coli and bacillus subtilis. The journal of essential oil research.

143 Re R, Pellegrini N, Protrggente A, Pannala A, Yang M Et Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26, 1231-1237.

144 Reig-Arminana J., Calatayud V., Cervero´ J., Garcia-Breijo F.J., Ibars A. Et Sanz M.J. ; 2004. Effects of ozone on the foliar histology of the mastic plant (Pistacia lentiscus L.). *Environmental Pollution*, 132 :Pp 321-331

145 Remmal A., Bouchkhi T., Rhayouk., Ettaybi M Et Tantouielraki., (1993). Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium.J.ESS.Oil Res.5 (2). 179-184.

146 Rivera, (2006) Evaluation de l'activite antiox jize, *huiles essentielles d'ammoides verticillata « noukha »* de la region de tlemcen memoire de fin d'etude en vue de l'obtention du diplôme de master ABBES Amal.P16

146 Robiquet P.J., Boutron F. *J. Pharm. Chim.*, 1831, *17*, 279-282.

147 Rokia, S. ; Drissa, D.; Seydou, D.; Colette, E. and Flabou, B. (2006). Activité antibactérienne et antalgique de deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Médical*, 1: 18-24.

148 Romani A., Pinelli P., Galardi C. Et Mulinacci N. ; 2002. Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of Pistacia lentiscus L. *Phytochemical Analysis* 13,Pp 79-86.

149 Rolli E, Marieschi M, Maietti S, Sacchetti G, Bruni R (2014) Comparative phytotoxicity of 25 essential oils on pre-and postemergence development of Solanum lycopersicum L.: a multivariate approach. Ind Crops Prod 60:280–290.

150 Rousselle P., Robert Y., Crosnier J C., 1996. La pomme de terre-Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. 1 éd. Paris : INRA Editions, 278 P.

151 Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci Food. Agric*, 76: 270–276.

152 Sant'anna-Santos, M. Thadeo, R. M. S. A. Meira et L. Ascensão; 2006. Anatomia e histoquímica das estruturas secretoras do caule de *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae)Anatomy and histochemistry of stem secretory structures of *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae).*Rev. Árvore* vol.30 no.Pp3481-489.

153 Sawidis T., Dafnis S. et Weryzko-Chmielewska E.; 2000. Distribution, development and structure of resin ducts in *Pistacia lentiscus* var. chia. *Flora: Morphologie, Geobotanik, Oekophysiologie*, 195 (1)Pp 83-94.

154 Schnug E. *Proc. NIAB meetings*, 1987, 25-30.

155 Schnug E. *in Proc. Int. Rapessed Congr. 7th*, Poznan, Poland, 1987, *3*, 682-686.

156 Scherer, R et Godoy H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, v.112, p.654-658, 2009.

157 Seigue A. ; 1985. La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes Ed. Maisonneuve and Larose Paris, 502 p.

158 Shaaya E., Kostjukovski, M., Eilberg J., Sukprakan C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. Journal

159 Sherwin HW. (1976). Differences in rehydration of three desiccation-tolerant angiosperm species. Annals of Botany 78: 703–710

160 Singh G., Singh O P., Reo G P., Sharma S. R., 2002- The vapour action of essential oils and monoterpendenoid against pathogenic fungi. Vol 4 (1&2) : 69-79.

161 Sofowora, A.PLANTE MEDICINALE ET MEDCIN TRADITIONNELLE D'AFRIQUE ACADIMIE SUISSE DES SCIENCE NATURELLE : KARTHALA,2010)

161 Stokłosa A, Matraszek R, Isman M, Upadhyaya MK (2012) Phytotoxic activity of clove oil, its constituents, and its modification by light intensity in broccoli and common lambsquarters (Chenopodium album). Weed Sci 60:607–611

162 Tabuc C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat : Institut National Polytechnique de Toulouse et de l'universite de bucarest. 190p.

163 Tapondjou L A., Aler C., Bouda H., Fontem D A.2002.Efficacy power and essential oil from chenopodiumambrosiodes leaves as post-harvest grain protectants against six-storect product beetls. Journal of stored products research 38, pp 395-402

164 Tassou C. C. Et Nychas G. J. E. ; 1995. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mastic Gum (Pistacia Zentiscus var. Chia) on Gram Positive and Gram Negative Bacteria in Broth and in Model Food System. *International Biodeterioration & Biodegradation* ,Pp 41I-420.

165 Toth, I.K., Kenneth S. Bell, Maria C. Holeva and Paul R. J. Birch., 2003. Soft rots *Erwiniae* : from genes to genomes. Mol. Plant. Pathol, 4 (1) : 17-30.

166 Traboulsi A. F., Taoubi K., El-Haj S., Bessiere J. M., Rammal S. ; 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci. Vol* 58, Pp 491–495

167 Van De Berg K.J., Van De Horst J., Boon J.J. Et Sudmeijer O.O. ; 1998. Cis-1,4-poly-β-myrcene; the structure of the polymeric fraction of nastic resin (*Pistacia lentiscus* L.) elucidated. *Tetrahenfron Letters*, 39Pp 2645-2648.

168 Vokou D, Douvli P, Blionis GJ, Halley JM (2003) Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. J Chem Ecol 29:2281–2301

169 Wilkinson J.M., 2006. Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapiter VIII.pp.157-165. *In* Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : TurningMedicinal Plants into Drugs. Ed. *WILEY-VCH* Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim,405p

170 Williams DG. (1993). The chemistry of essentiel oils.Micelle Press. England.

171 Xiang Q, Gao Y et Xu YH. (2007). Capillary electrophorsis – amperometric determination of anatioxydant propyl gallate and butylate hydroxanisole in *foods. Analytical science*, 23(6), 713.

172 Zeghad N.(2009) Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d'intérêt économique *Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. *Thèse de magister.* Université Mentouri Constantine.P18

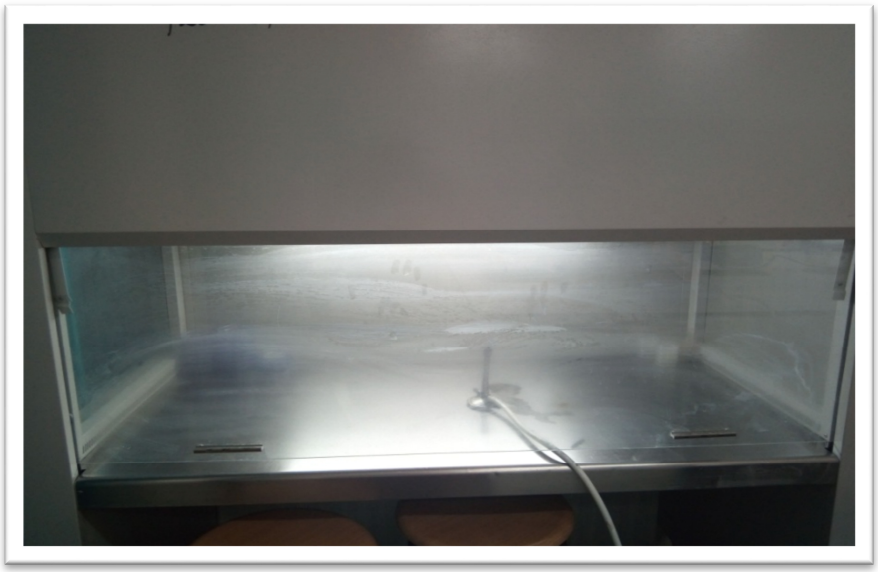
173 Zarrin M., Amirrajab N. and Nejad B.S., 2010. *In vitro* antifungal activity of satureja khuzestanica jamzad against *Cryptococcus neoformans*. *Pak. J. Med. Sci.*; 26 (4): pp.880-882.

Annexe

Annexe 01 : le matériel utilisé lors de l'expérimentation

Les réactifs utilisés	Appareillage	Verrerie
-Peptone bactériologique. - K_2HPO_4. - $MgSO_4$, $7H_2O$. - Crystal violet. -Agar bactériologique. - H_2O. -Glucose - Agar nutritive - Saccharose	-Etuve -Hotte –Plaque chauffante. – Balance électrique. –Centrifugeuse – Agitateur	-Pipette pasteur. –Papier aluminium. –Disque en papier. –Flacon. –Béchers. –Pince de laboratoire. –Fiole. –Portoir pour tubes. – Fiole. – Gaz. – Boites de pétri. –Spatule. –Erlenmeyer. –Etiquettes. –Bec bunsen -Micropipette (20ul, 200 ul, 400ul, 1000ul) -Eprouvette (500ml, 10ml) - Dessiccateur

Annexe 02 : les appareils utilisés.



La hoote

Etuve

Milieu des cultures utilisées

Milieu PDA

- 200 Pomme de terre
- 20 g glucose
- 20g Agar
- 1l d'eau distillée

Milieu DCPA

- 15 g peptone bactériologique
- 1g k2HPO4
- 0.5 Mg SO4 7H2O
- 1 ml Crystal violet
- 15 g Agar bactériologique
- 1L de l'eau distille

Milieu Levane

- 25 g d'agar nutritive
- 2.5 g du glucose
- 50 g saccharose
- 1 L d'eau distillé

Résumé

Les substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte pour la protection des cultures. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* vis-à-vis de cinq champignons (*Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Fusarium vertcillioides, Fusarium graminearum, Cladosporium cladosporoides)* et deux bactéries phytopathogénes (*Erwinia amylovora* et *Erwinia carotovora*) et ensuite de faire des essais de traitement de grains de blé. La méthode de micro-atmosphére ; nous a permis de mettre en évidence des taux d'inhibition éleves contre quatre champignons seulement, il s'agit de *A. niger*, *A. flavus* et *F. verticillioides* et *C. cladosporoides.* La méthode de l'aromatogramme nous a permis d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile essentielle, les résultats ont montré la sensibilité de *E carotovora* à la dose de 20 et 10 ul. L'utilisation des HE sur les grains du blé tendre à des doses de 80ul à 40 ul/g de grains entraine une diminution de taux e contamination sans risque de phytotoxicité

Mots clés : *Pistacia lentiscus* , huile essentielle, Activite antimicrobienne, blé, champignons phytopathogénes, Bactéries

ABSTRAT

Natural substances and more particularly essential oils currently represent an alternative solution for the fight against crop protection. The objective of our study is to evaluate the antimicrobial effect of the essential oil of Pistacia lentiscus L on five fungi (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium vertcillioides*, *Fusarium graminearum*, *Cladosporium cladosporoides*) and two phytopathogenics bacteria (*Erwinia amylovora* and *Erwinia carotovora*) and then to test wheat grains. The micro-atmospheric method; showed high inhibition rates against only four fungi, *A. niger*, *A. flavus* and *F. verticillioides* and C. *cladosporoides*. The aromatogram method allowed us to study the antibacterial activity of the essential oil, the results showed the sensitivity of *E carotovora* at the dose of 20 and 10 ul. The use of EO on soft wheat grains at doses of 80ul to 40 µl / g of grain leads to a reduction in the rate of contamination without risk of phytotoxicity.

Key words: *Pistacia lentiscus,* essential oil, Antimicrobial activity, wheat, bacteria, phytopathogenic fungi,

الملخص :

تمثل المواد الطبيعية والزيوت الأساسية بشكل خاص حلاً بديلاً لحماية المحاصيل. الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية لنبات L *Pistacia lentiscus* على خمسة فطريات *niger* (*Aspergillus* و *Aspergillus flavus* و *Fusarium vertcillioides*و *Fusarium graminearum* و *Fusarium graminearum* و *Cladosporium cladosporoides*)وبكتيريا جراثيم الات *Erwinia amylovora* و *Erwinia carotovora* ثم لاختبار حبوب القمح. طريقة الغلاف الجوي الجزئي ؛ أظهرت معدلات تثبيط عالية ضد أربعة الفطريات فقط ، *A. niger*، *A. flavus*و *F. verticillioides* و *C. cladosporoides*. سمحت لنا طريقة aromatogram بدراسة النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية ، وأظهرت النتائج حساسية E carotovora بجرعة 20 و 10 ul. استخدام EO على حبوب القمح اللين بجرعات من 80 ulإلى 40 ميكرولتر / غرام من الحبوب يؤدي إلى انخفاض في معدل التلوث دون التعرض لخطر السمية النباتية

الكلمات المفتاحية: *Pistacia lentiscus* ، الزيت الأساسي ، النشاط المضاد للميكروبات ، القمح ، الفطريات المسببة للأمراض النباتية ، البكتيريا.