الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université Chadli Bendjedid
El Tarf

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département des Sciences biologie
قسم العلوم البيولوجية

Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Agroenvironnement et bio indicateur »

THÈME

Contribution à une étude sur la valorisation des ressources forestières dans la lutte biologique

Soutenu le : 04/07/2021

Présentés Par : Dib Abir

Ghers Hend

Devant le jury composé de :

Mme Ben amara marwa	**MCA**	**Président**	**UCBET**
Mme Bouzaata chahra	**MAA**	**Examinatrice**	**UCBET**
Mme Hennouni nacera	**MCB**	**Promoteur**	**UCBET**

Année universitaire 2020 - 2021

Remerciements :

Louange à Allah, nous Le glorifions, Lui demandons aide et invoquons Son pardon contre le mal de nos péchés, celui qui fut guidé personne ne peut l'égarer et celui qui est égaré personne ne peut le guider.

Nous témoignons qu'il n'y a point de divinité digne d'adoration sauf Allah, l'Unique, qui n'a point d'associé et je témoigne aussi que Muhammed est Son Serviteur et Son Messager, que la bénédiction d'Allah soit sur Lui, sa famille, ses compagnons, et tous ceux qui le suivent sur le droit chemin jusqu'au Jour Dernier.

Nous remercions les membres de jury, chacun par son nom, d'avoir acceptées de juger notre travail en l'occurrence

Dr Ben Amara M** et **Dr Bouzaata CH

*Un Grand remerciement on notre encadreur **Dr Hennouni Nacera** pour ses efforts et pour nous avoir donnés des conseils, des orientations et des encouragements pour mener à bien ce travail*

Nos remerciements pour toute l'équipe du département des sciences biologique notamment les responsable du l'laboratoire pédagogique

Nos remerciements et reconnaissance aux différents membres de station nationale de protection des végétaux

A leurs tète Mme Benaliouche Fouzia et Mme soraya et Mme moufida sans oublier Mr Lamine pour leur accueils, et leur aides précieuses et constructives.

*Surtout la directrice **Mme Fouzia** et **Mme souraya** et **Mme mofida** et sans oublier **Mer lamine** pour leur idée constructives.*

A tous personnes qu'est aidé nous de proche ou loin.

Dédicaces

Il est agréable au moment de présenter ce travail d'adresser mes dédicaces à

*Mes très chers **parents**, que je ne pourrai remercier assez, pour leurs soutien moral et matériel, leurs compréhension, amour, tendresse, et leurs sacrifices, que dieux leurs offre la santé ;*

*Mes chères sœurs : **hana et nawell Et zina ;***

*A mon fréres : **fouad et abdalah et othman** ;*

*A mes chères cousines : **basma et rahima** ;*

*Mes chères amies et sœurs : **khouloud et hend***

A tous que j'aime et qui m'aiment et ceux qui ont veillé de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

Abir

Dédicaces

C*'est avec beaucoup de respect et tant d'amour que je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à son accomplissement.*

A *mon* ***cher père kamel,***

A qui je dois le meilleur de moi-même, pour m'avoir aidé à prendre mon chemin dans la vie. Que tu trouves ici l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce que tu as fait. Je n'oublierai jamais ton amour et tes sacrifices. J'espère être digne de ta confiance, et à la hauteur de tes espérances, que dieu vous accorde santé et logue vie.

A *ma chère mère* ***laila,***

Nulle dédicace ne pourrait exprimer ce que je vous dois pour tes sacrifices ton amour ton soutien et ta confiance depuis ma naissance. Que dieu vous accorde santé et logue vie.

À *mon* ***cher frère abdou et badis***

À ma Chère sœur zahra et wahida

A ma nièce tasnim

À *toute ma famille*

À *ma* ***binôme et soeur Abir et*** *sa famille.*

À *mes amis chaima, houda , nesrine et warda.*

À tous ceux qui me sont chers…

Hend

RESUME

Il existe suffisamment de preuves scientifiques sur l'existence d'un effet des bioproduits sur la lutte contre les champignons phytopathogènes. De ce fait, la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité, est devenue indispensable à la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles antifongiques pouvant constituer une alternative aux produits chimique. Parmi ces substances naturelles, figurent les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir d'aiguilles du sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur un champignon phytopathogène de la pomme de terre.

Deux prélèvements de feuilles à partir de deux parties de l'arbre ont fait l'objet de notre étude(partie médiane et une autre basse).

L'activité antifongique de l'huile essentielle est déterminée par trois méthodes : Méthode de diffusion par puits, par diffusion à distance et la derniere par dilution de mélange.

Les rendements moyens d'extraction des huiles essentielles d'Abies numidica sont de 0,1% pour la partie médiane et 0.2 pour la partie basse respectivement.

Les résultats des différents tests ont montré que le champignon s'est montré légèrement sensible durant les premiers jours du traitement. Le pourcentage d'inhibition de ce dernier diminue avec le temps d'incubation. Ceci traduit que l'efficacité de cette huile s'atténue avec le temps d'où la conclusion que le champignon s'est montré non sensible à cette biomolécule.

ملخص

هناك أدلة علمية كافية على وجود تأثير للمنتجات الحيوية على مكافحة الفطريات الممرضة للنبات. نتيجة لذلك ، أصبح البحث عن جزيئات جديدة ، مع مراعاة معايير أخرى غير الفعالية ، ضروريًا للمكافحة البيولوجية من خلال استخدام المواد الطبيعية المضادة للفطريات التي يمكن أن تشكل بديلاً للمواد الكيميائية. من بين هذه المواد الطبيعية الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري المستخرج من Abies) numidica) على أحد الفطريات الممرضة للنبات في البطاطس.

كانت عينتان من ورقتين من جزأين من الشجرة موضوع دراستنا (الجزء الأوسط والجزء السفلي الآخر).

يتم تحديد النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري بثلاث طرق: طريقة الانتشار عن طريق البئر ، عن طريق الانتشار عن بعد والأخيرة بتخفيف الخليط.

متوسط إنتاجية استخلاص الزيوت الأساسية Abies numidica هو 0.1٪ للجزء الأوسط و 0.2 للجزء السفلي ، على التوالي.

أظهرت نتائج الفحوصات المختلفة أن الفطريات كانت حساسة قليلاً خلال الأيام الأولى من العلاج. يتناقص تثبيط النسبة المئوية للأخير مع وقت الحضانة. هذا يدل على أن فعالية هذا الزيت تتضاءل بمرور الوقت ، ومن هنا استنتاج أن الفطر قد ثبت أنه غير حساس لهذا الجزيء الحيوي.

ABSTRACT

There is sufficient scientific evidence for the existence of an effect of bioproducts on the control of phytopathogenic fungi. As a result, the search for new molecules, taking into account criteria other than effectiveness, has become essential for biological control through the use of natural antifungal substances that can constitute an alternative to chemicals. Among these natural substances are essential oils extracted from aromatic plants

The aim of this study is to evaluate the antifungal activity of the essential oil extracted from the needles of the Numidian fir (Abies numidica) on a phytopathogenic fungus of the potato.

Two leaf samples from two parts of the tree were the subject of our study (middle part and another lower part.(

The antifungal activity of the essential oil is determined by three methods: diffusion method by well, by remote diffusion and the last by dilution of mixture.

The average extraction yields of Abies numidica essential oils are 0.1% for the middle part and 0.2 for the lower part, respectively.

The results of the various tests showed that the fungus was slightly sensitive during the first days of treatment. The percent inhibition of the latter decreases with the incubation time. This shows that the effectiveness of this oil wanes over time, hence the conclusion that the fungus has been shown to be insensitive to this biomolecule.

SOMMAIRE :

Remerciements	
Dédicaces	
RESUME	
INTRODUCTION …….	**1**
Partie I : recherche bibliographique	
I. 1- Historique …….	**3**
I. 2- Définition …….....	**3**
I. 3-Localisation des huiles essentielles …….....	**4**
I.4. Composition des huiles essentielles …….....	**4**
I.5. Propriétés physico- chimiques ……..	**5**
I.6. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité ……	**6**
I.7. Extraction des Huiles Essentielles …….	**8**
I.7.1. Hydrodistillation …….	**8**
I.7.2. L'Enfleurage ……..	**8**
I.7.3. Extraction au CO_2 supercritique …….	**8**
I.7.4. Extraction assistée par micro-onde ……	**9**
I.8. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des Huiles Essentielles……..	**9**
CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES	
II. 1-Mécanismes d'action des huiles essentielles ……	**11**
II.1-1-Activité antioxydante …….	**11**
II. 1-2-1-Activité antibactérienne …….	**12**
II. 1-2-2-Activité antifongique …….....	14
CHAPITRE III : LE SAPIN DE NUMIDIE	
III.1 -Historique ……..	16
III.2. Découverte du sapin de Numidie en Algérie……..	16

III. 3-Caractères botaniques ……	17
III.3.1. Le tronc……	17
III.3.2. Les ramifications……..	17
III.3.3. Les aiguilles……..	17
III.3.3.1. Les aiguilles des rameaux stériles…….	17
III.3.3.2. Les aiguilles des rameaux fertiles…….....	17
III.4-Aire de répartition géographique…….	18
III.4.1- Aire naturelle……	18
III.4. 2- Aire artificielle et plantation……	18
III.4. 3- Systématique du genre *Abies*……..	19
III.4. 4. Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie ……..	20
III.4. 5. Potentialités forestières du Sapin de Numidie…….	21
III.4.6. Propriétés phytothérapeutiques du sapin de Numidie……...	21
CHAPITRE IV LE PATHOGENE :LE FUSARIUM (*F.Oxysporum*)	
IV.1- Généralités……	23
IV-2- L'espèce *Fusarium oxysporum* ……...	24
V.2.1-Position taxonomique et systématique ……	24
IV.3-Description morphologique …….	24
IV.4- Fusarium oxysporum phytopathogène …….....	25
IV.4.1. Cycle biologique de la maladie……. ……	26
IV.4.2. Le fusarium de la pomme de terre…….....	27
IV.4.2.1. Symptômes…….....	27
Partie II. Matériel et méthode	
Objectif de l'étude.....	29
II.1 Matériel……..	29
II.1.1.Présentation de la zone d'étude……	29
II.1.2- Matériel biologique……	29
II.1.2.1- Matériel végétal ……	29
II.1.2.2.Matériel fongique……	30
II.1.2.3.Milieu de culture……	30
II.2. Méthodes……..	31
II.2.1.Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de sapin de Numidie……	31
II.2.1.1. Préparation de l'extrait……..	31
II.2.1.2. Conservation des huiles essentielles obtenues…….	32
II.2.1.3-Détermination de rendement……	32
II.2.2.Préparation de la moisissure…….....	32
II.2.2.1.Isolement du *Fusarium solaini*……	32
II.2.2.2 .Isolement sur le milieu sabouraud.....	33

II.2.2.3.Purification de l'agent pathogène.....	33
II .2.3.Tests de l'activité antifongique dès l'huile essentielle de sapin de numidie	33
II.2.3.1. La méthode de diffusion par puits……...	33
II.2.3.2.La méthode de diffusion par confrontation à distance……..	34
II .2.3.3.La méthode de diffusion par mélange ……..	35
II.3.Paramètres étudiés…….	36
II.3.1. Identification de la souche fongique……...	36
II .3.1.1.Caractères macroscopiques ……	36
II.3.1.2. Caractères microscopiques……..	36
II.3 .2. Evaluation de la croissance mycélienne moyenne……..	36
II.3.3.Taux d'inhibition(T %)du champignon par l'huile essentielle…….. ..	37
II.3.4.Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)……	37
II.4.Traitement statistique……	37
Partie III : Résultats et Discussion	38
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste d’abréviation

abréviation	**signification**
HE	Huile essentielle
RHE	Rendement de l’huile essentielle
TI	Taux d’inhibition
VC	Vitesse mycélienne
µl	Microlitre

Liste des figures

figure	Titre de figure	Page
01	Rachis, cône en désarticulation et Cône	18
02	Régénération du sapin de Numidie dans la plantation de Serraïdi	19
03	*Fusarium oxysporum* des racines de plante de tomate	26
04	laboratoire mycologie	29
05	les feuilles sèches du sapin de Numidie	30
06	la souche fongique (*Fusarium oxysporuim*)	30
07	hydro distillateur type Clenvenger	31
08	les feuilles sèches de sapin de Numidie	32
09	test fongique par la méthode de diffusion par puits	34
10	test fongique par la méthode de diffusion à distance	35
11	méthode diffusion par mélange	36
12	l'huile essentielle du sapin de Numidie	38
13	Rendements en huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie (partie basse et partie médiane de l'arbre).	39
14	croissance de la souche fongique de 7a8 jours	40
15	Aspect microscopique du *Fuzarium solani*	40
16	Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion par puits) (partie médiane)	41
17	Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion par puits) (partie basse)	42
18	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance moyenne du mycélienne (cm) (diffusion à distance) (partie médiane)	43
19	Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion à distance) (partie basse)	44
20	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (dilution de mélange)(partie médiane).	45
21	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (méthode de mélange)(partie basse).	46
22	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour (diffusion par puits) partie médiane	47

23	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion par puits) partie basse	48
24	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie médiane	49
25	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour (diffusion à distance) partie basse	50
26	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie médiane)	52
27	Effet de l'huile essentielle de sapin de numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie basse)	52
28	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par puits, partie médiane)%	53
29	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse)%	54
30	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie médiane)%	55
31	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse)%	56
32	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie médiane)	57
33	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par mélange, partie basse)	57

Liste Des Tableaux

N°	Titre des tableaux	pages
01	Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie (*Abies numidica*)	20
02	les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du sapin de Numidie	38
03	Rendements en huile essentielle du sapin de Numidie **(*Abies numidica*) (**partie basse et partie médiane) %	38
04	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (partie médiane).	41
05	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm)(diffusion par puits)(partie basse).	41
06	effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm)(diffusion à distance) (partie médiane).	42
07	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance) (partie basse).	43
08	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (mélange)(partie médiane).	44
09	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (mm) du *Fusarium solani* (méthode de mélange)(partie basse).	45
10	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion par puits) partie médiane	47
11	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie basse)	47
12	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie médiane	48
13	Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie basse	49
14	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours	50
15	Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour partie basse	51
16	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie médiane) %	52

17	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse) %	53
18	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie médiane)	54
19	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie basse	55
20	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie médiane)%	56
21	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie basse)%	57

INTRODUCTION :

Cultivée dans plus de 150 pays, la pomme de terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde; elle vient en quatrième position après le blé, le riz et le mais qui constituent la base de l'alimentation humaine (FAOSTAT, 2016)

En Algérie la pomme de terre représente la première culture maraîchère du point de vue superficie et production, avec une superficie plantée de 156 176 ha et une production de 46 735 155quintaux avec un taux de rendement de 199,2 qx/ha, elle tient une place importante (Internat).

Les pommes de terre sont des légumes que nous consommons régulièrement. Toutefois, ces dernières sont sensibles à de nombreux nuisibles, tels que : • des champignons causant des maladies cryptogamiques : la fusariose, le mildiou, la rouille ; • l'altise ; • la courtilière ; • le doryphore ; • le taupin (Internat).

La fusariose est aussi appelée "flétrissure fusarienne". Il s'agit d'une maladie cryptogamique causée par un champignon du genre *Fusarium.* Les feuilles de la plante jaunissent et se flétrissent. Puis la plante finit par être complètement desséchée. La maladie se manifeste également lors de la conservation. À l'endroit où les pommes de terre présentent des blessures, des taches de pourriture brun-pâle apparaissent. Les champignons responsables de la fusariose résistent au froid et donc à l'hiver. Cette maladie est surtout à craindre par temps très chaud, lorsque la température avoisine les 30°C.

Le *Fusarium solani* est un champignon ubiquiste tellurique, le plus phytopathogène, il se conserve dans le sol grâce à ses chlamydiospores et au mycélium capable de survivre sur les débris végétaux (Erskine et Bayaa, 1996).

Le coût élevé des fongicides, les exigences des marchés internationaux en termes de qualités des produits agricoles, les préoccupations environnementales et la santé des consommateurs sont autant d'éléments qui ne sont pas à encourager l'application de la lutte chimique. La stratégie est donc de développer une méthode peu onéreuse et compatible avec les préoccupations environnementales.

Par conséquent, le recours à des sources végétales devrait être beaucoup plus avantageux que l'utilisation des pesticides car elles se décomposent facilement et ne sont pas des polluants environnementaux (Sauphanor et al., 2009). La lutte biologique consiste à lutter contre les ennemis des cultures par les huiles essentielles. Ces dernières sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques qui est importante pour attirer les insectes pollinisateurs de graines. En plus, les huiles essentielles jouent un rôle défensif contre les prédateurs et les maladies (De Sousa, 2015). Ce role est lié à leur activité antibactérienne,

antifongique et antiviral assurant alors une protection des plantes (Croteau, 1992 ; bakkali *et al.*, 2008).

Cette étude a été conduite afin d'évaluer et tester le pouvoir fongicide de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur *Fusarium solani.* (*Abies numidica*).

Ainsi ce travail est scindé comme suit :

- une recherche bibliographique sur la problématique en question ;
- Une partie expérimentale étalant les différents étapes de l'expérimentation en décrivant le matériel végétale, le matériel fongique et les techniques utiliséés, pour l'extraction et l'évaluation des activités biologiques (antifongique) de l'huile essentielle extraite des feuilles sèches du sapin de Numidie.
- Une interprétation des résultats obtenus suivie d'une discussion argumentée des acquis.
- Et enfin une conclusion

CHAPITRE I : LES HUILES ESSENTIELLES

I.1. Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux plus anciennes civilisations, tout d'abord dans l'Orient et le moyen orient et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe. Il y a environ 3000 ans, les huiles essentielles étaient utilisées en Egypte. Les arabes participèrent activement aux techniques de distillation des huiles essentielles , ils inventèrent l'alambic grâce auquel, ils purent obtenir des HE très pures dont la médecine et la parfumerie ont fait grand usage (Odoul, 2003).

Au 16éme siècle, le médecin suisse Paracelse étudie l'extraction de "l'âme" des végétaux à laquelle on donnera le nom "d'esprit d'essence ", ensuite" l'huile essentielle" (Odoul, 2003).

En 1877, Léopold Ruzicka a mis en évidence les "polyterpènes", composants importants des essences (Odoul, 2003).

En 1928, le chimiste français René-Maurice. Gattefosse a utilisé le terme "aromathérapie" pour décrire les propriétés curatives des huiles essentielles lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brûlure à sa main (Garneau, 2005).

De nos jours, l'usage des huiles essentielles est très large dans les domaines de la pharmacologie, la cosmétique et l'agroalimentaire.

I. 2- Définition :

Les huiles essentielles sont des produits odorants, volatils, issues de métabolisme secondaire d'une plante aromatique, normalement formés dans des cellules spécialisées ou groupes de cellules (Conner, 1993). Cependant il reste difficile d'attribuer une seule définition au terme" huile essentielle", car il en existe plusieurs.

L'huile essentielle est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou d'arbres aromatiques pour en extraire l'essence. L'huile essentielle est donc l'essence distillée. Toutefois dans l'usage courant le terme "essence" est souvent utilisé pour parler d'huile essentielle. Mais contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc...) (Anton et Lobstein, 2005).

L'association française de normalisation (AFNOR) définit une L'huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec.

L'huile essentielle est ensuite séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 2000). Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

I. 3-Localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (i) Fleurs : oranger, rose, lavande, bouton floral (girofle) ; (ii) Feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge ; (iii) Fruits : fenouil, anis, épicarpes des Citrus ;(iv) Tiges : citronnelles, (v) Rhyzomes et racines : gingembre, vétiver, iris ; (vi) Graines : noix de muscade, coriandre ; (vii) Bois et écorces : cannelle, santal, bois de rose (Leon, 2005 ; Teixeira *et al.,* 2013).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante (Brunechon, 1987). Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans, des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), des poils sécréteurs (Lamiaceae), des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiacieae ou Asteraceae) (Bruneton, 1999). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

I.4. Composition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont l'un des plus importants produits naturels provenant de plantes pour leurs diverses propriétés biologiques à usages médicamenteux (Elshafie *et al.,* 2015). Les industries exigent une connaissance parfaite de la composition chimique des huiles essentielles dont le but de contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et de valorisation. En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire (Joulain, 1994).

Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en oeuvre de diverses techniques (Joulain, 1994).

La composition chimique des huiles essentielles est complexe et résulte très souvent d'un mélange pouvant contenir de 10 à plus de 200 constituants possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses (Bruneton, 1999). L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Salzer, 1977).

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : (i) les terpénoïdes (les plus volatils c'est-à-dire à masse moléculaire peu élevée) spécialement les monoterpènes: (C 10) cinéol, menthol, qui constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle, et sesquiterpènes: (C 15) caryophyllène, humulène, bien que des diterpènes (C 20) peuvent aussi être présents (Dorman et Deans, 2000), dans ce groupe les hydrates de carbone, phénols, alcools, éthers, aldéhydes et cétones, responsables de l'activité antimicrobienne ainsi que de leurs parfums (Sumonrat *et al.,* 2008). (ii) le groupe des composés aromatiques représenté par les phénylpropanoïdes est beaucoup moins fréquent, comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde (Buchanan *et al.* 2000). On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles (EL kalamouni, 2010).

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs : les facteurs intrinsèques, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, …) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée. Une même plante d'origine géographique différente, ce qui conduit à une variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes (Bowes, 2003). C'est le cas par exemple, du thym vulgaire à géraniol ne produit cette dernière qu'en hiver alors que l'acétate de géranyle la remplacera en été (Viaud, 1993). Et les facteurs extrinsèques, liés à la méthode d'extraction chosit (Besombes, 2008).

I.5. Propriétés physico- chimiques :

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bernard *et al,* 1988, Bruneton, 1993). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante ;
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;
- Volatiles et très rarement colorées ;
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en mono terpènes ;
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en mono terpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu soluble dans l'eau ;
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;

I.6. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité :

Selon Capuzzo *et al.* (2013), l'huile essentielle utilisée en thérapeutique doit posséder de nombreux critères de qualité :

- L'espèce botanique
- La certification botanique doit apparaître selon la nomenclature internationale sous son nom latin précisant le genre, l'espèce et la sous-espèce. Il existe par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclarée (*Salvia sclarea*), qui peuvent être vendue toutes les deux sous l'appellation d'essence de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants.
- L'organe producteur : Selon la partie de la plante (feuilles, fleurs…) distillée (ou pressée pour les zestes de Citrus), il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes. Par exemple, pour la cannelle de Ceylan, l'huile essentielle peut être extraite de ses feuilles et de son écorce. Ainsi, l'huile essentielle provenant de l'écorce a des propriétés plus marquées que celle extraite des feuilles.
- L'origine géographique : Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de

composition chimique selon le pays d'origine. Une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes, exemple : le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyle la remplacera en été.

- Le mode de culture : Il définit si la plante est cultivée ou sauvage. Il est souvent représenté par un label si la plante provient d'une culture biologique. Les seuls labels autorisés sont ceux délivrés par le Ministère de l'Agriculture. Il en existe plusieurs :

a) le label BIO garantie une huile essentielle certifiée par l'organisme Ecocert afin de garantir l'origine biologique de l'huile essentielle. Une huile essentielle possédant un label ECOCERT est une huile essentielle soumise au contrôle régulier d'un organisme de certification agréé par les pouvoirs publics.

b) Le label H.E.B.B.D. c'est-à-dire Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie signifie que l'huile essentielle possède un bulletin d'analyse établi avec le C.N.R.S. C'est un label de qualité des huiles essentielles.

c) Le label A.B. correspondant à Agriculture Biologique, certifie que l'huile essentielle possède au minimum quatre-vingt-quinze pour cent d'ingrédients issus de l'Agriculture Biologique, c'est-à-dire cultivée sans engrais, ni pesticides, et ne contenant pas d'O.G.M.

d) Le chémotype : (4) Il définit la molécule aromatique révélatrice des principales propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle. Une plante de même variété botanique peut produire des huiles essentielles de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes. Ce qui explique la polyvalence d'action des huiles essentielles. On effectue une chromatographie en phase gazeuse liée à une spectrométrie de masse pour identifier et quantifier chacune de ces molécules et connaître ainsi la composition précise des huiles essentielles.

e) Le mode d'extraction : Il existe plusieurs modes d'extraction des huiles essentielles comme la distillation, l'hydro-distillation, la percolation, l'expression qui peuvent faire évoluer la composition de l'H.E.C.T. Deux procédés sont principalement employés et font l'objet d'une monographie à la Pharmacopée :

- L'expression à froid est utilisée pour obtenir les essences et est réservée aux Citrus (citron, mandarine, orange…). Ce procédé consiste à briser mécaniquement les zestes frais d'agrumes en soumettant la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Cette méthode est simple et limite l'oxydation à son minimum.

- La distillation par entraînement à vapeur d'eau est le procédé le plus utilisé pour obtenir les huiles essentielles. Une source de chaleur chauffe un alambic qui contient de l'eau et les végétaux disposés sur un plateau. La chaleur entraîne la formation de vapeur qui traverse les végétaux et emporte avec elle les molécules aromatiques. On récupère un liquide composé d'eau et d'huile essentielle. L'huile essentielle plus légère, se sépare de l'eau. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité des huiles essentielles obtenues en diminuant les altérations liées au procédé de distillation.

I.7. Extraction des Huiles Essentielles :

Selon Capuzzo *et al.* (2013), plusieurs méthodes sont utilisées pour l'extraction des huiles essentielles :

- Méthodes traditionnelles : sont les plus utilisées c'est le cas de : l'hydrodistillation ou l'enfleurage
- Méthodes innovatrices comme l'extraction au CO2 supercritique et l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes

I.7.1. Hydrodistillation

Cette méthode consiste à évaporer l'huile essentielle en chauffant un mélange d'eau Ou d'autres matériaux comme les solvants avec la plante, suivie par la liquéfaction des vapeurs dans un condenseur, cette dernière étape peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger. La distillation de la plante s'effectue soit avec une immersion de la plante dans l'eau ou par l'injection directe de la vapeur en plaçant la matière végétale sur une grille perforée et n'est pas en contact avec l'eau (Fabrocini, 2007).

Les principes volatils sont entrainés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation (Moro-Buronzo, 2008).

I.7.2. L'Enfleurage

C'est une méthode complexe, elle n'est plus utilisée sauf pour les fleurs. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, les fleurs sont remplacées par

d'autres fraiches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les huiles essentielles sont séparés (Moro-Buronzo, 2008).

I.7.3. Extraction au CO_2 supercritique

L'extraction de fluide supercritique (EFS) est un processus consistant à séparer une composante de l'autre en utilisant les fluides supercritiques au lieu d'un solvant d'extraction. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, dont 90 % l'extraction est exécutée avec le dioxyde de carbone (CO_2) pour plusieurs raisons pratiques. Outre une pression critique relativement faible (74 bars) une température de 32C°, le CO_2 est relativement non toxique, inflammable, non corrosif, sans danger, disponible en grande pureté à un coût relativement faible et s'élimine facilement de l'huile (Rozzi *et al.,* 2002).

Le seul inconvénient du CO_2 est son manque de polarité pour l'extraction des composés polaires (Pourmortazavi *et al.,* 2007). Il a été constaté que des extraits préparés par EFS a produit une activité antioxydante plus élevée que les extraits préparés par d'autres méthodes (Fadel *et al.,* 1999). Cette méthode d'extraction produit un meilleur rendement, un coefficient de diffusion plus élevé et une plus faible viscosité. Beaucoup d'huiles essentielles qui ne peuvent pas être extraites par distillation à la vapeur peuvent être obtenues par extraction au dioxyde de carbone.

Néanmoins, cette technique est très coûteuse en raison du prix de l'équipement. L'huile supercritique s'est avéré pour être de qualité supérieure, avec les meilleures résultats d'activités (Capuzzo *et al.,* 2013).

I.7.4. Extraction assistée par micro-onde

Cette technique est rapide, économique (pas de solvants) et elle n'est pas thermiquement dangereuse Mandal *et al.,* (2007) ; Golmakani *et al*. (2008), ont utilisé avec succès un four à micro-ondes pour l'extraction des principes actifs des plantes.

L'efficacité d'hydrodistillation assistée par micro-ondes dépend fortement de la puissance de micro-ondes utilisées). Le montage utilisé se rapproche d'un montage d'hydrodistillation classique. Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier (Brachet *et al.,* 2002 ; Lucchesi, 2006).

I.8. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des Huiles Essentielles

Les facteurs qui contrôlent la qualité des huiles essentielles peuvent avoir deux sources :

- source de technologie
- source naturelle

Des changements importants peuvent survenir dans l'huile essentielle depuis le début de la récolte des plantes jusqu'à leur extraction (Garnero, 1985).

La méthode de récolte, les conditions de transport, le stockage et le séchage peuvent générer des dégradations enzymatiques, les changements les plus importants se produisent au cours du processus d'hydrodistillation sous l'influence conditions de travail, notamment liées au milieu (pH, température) et au temps nécessaire au fonctionnement extraction

Facteurs perturbateurs tels que ceux qui peuvent être effectués avant ou pendant le processus d'hydrodistillation (comme le pression ‹ dégradation chimique ou enzymatique ‹ dilacération ‹ broyage agitation) contribuer à la différence de qualité de l'huile essentielle (Richard et Peyron 1992).

Durant distillation, le milieu aqueux résultant du trempage de la plante dans lequel le pH atteint entre 4 et 7, parfois inférieur à 4 à cause de certains fruits (koedam, 1987), les composants de ce milieu sont exposés à la chaleur et à un milieu acide, ce qui peut conduire à des changements chimiques. Les huiles essentielles extraites sont très différentes de l'essence d'originelle, surtout si le temps d'ébullition est long et le pH est bas (Morin et Richard, 1985).

La matière végétale subit diverses réactions chimiques : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations (Morin et Richard ,1985), il peut être catalysé par des minéraux présents à l'état de traces dans les plantes (koedam 1987) ,ou provenant d'équipements de collecte et d'extraction, provoquant des transformations chimiques pour les ingrédients, l'hydrolyse les esters sont prédominants, entraînant la formation de acides organiques ce qui à son tour catalyse les réactions cyclisation et déshydratation (teisseire,1987).

Pour réduire ces problèmes, Morin et richard (1985) préconisent de maintenir un pH modéré et de réduire la durée de l'hydrodistillation, bien que l'on sache que la dissolution du matériel végétal induit sur la formation d'acidité.

Le rendement et la composition des huiles essentielles différentes selon (température, salinité, précipitation…), et période de récolte (saison, stade de croissance), état de la plante (fraîche ou séchée) et technique d'extraction utilisée (hydrodistillation, entrainement à la vapeur d'eau, extraction par solvant…).

CHAPITRE II : ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

II. 1-Mécanismes d'action des huiles essentielles

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des plantes aromatiques (Bouguerra., 2012)

II.1-1-Activité antioxydante :

La formation des radicaux libres est un processus continu et évolutif. Ces molécules jouent un rôle vital dans la signalisation cellulaire, contrôle de tonalité vasculaire, défense contre les micro-organismes, la génération de cellule et la régulation de l'homéostasie (Basu, 2010). Toutefois, lorsqu'il y a un excès des radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) participent également à la pathogenèse liées à des dommages de l'ADN et aux protéines causant des modifications des gènes et des mutations protéiques, des dommages gluco-oxydatifs et une dégradation des lipides membranaires des cellules (Carocho et Ferreira, 2013).

Le mécanisme de défense de l'organisme en général diminue avec l'âge et peut être compromis par les diverses formes de stress oxydatif résultant de facteurs environnementaux causant des troubles de santé : le cancer, le diabète, l'athérosclérose. Toutes ces conditions, ainsi que le processus de vieillissement, sont associés à un stress oxydatif en raison de l'élévation des ROS ou une désintoxication insuffisante de ces espèces, favorisant ainsi le processus de vieillissement précoce ou prématurée de la peau (Igwe et Echeme, 2014).

Il a été démontré qu'in vitro les plantes possédaient une capacité antioxydante en convertissant les radicaux libres en produits stables et en inhibant l'activité dégénérative de certaines enzymes de la peau (Ndlovu *et al.,* 2013). Les substances polyphénoliques des huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques, mais la propriété la mieux décrite dans tous les groupes de composés phénoliques est leur capacité d'agir comme antioxydant. L'activité antioxydante des phénols dépend de la disposition des groupes fonctionnels autour de la structure nucléaire, la configuration, la substitution et le nombre total des groupes hydroxyles qui influencent considérablement les différents effets antioxydants des radicaux et la chélation des métaux (Kumar et Pandey, 2013).

De nombreux auteurs ont rapporté les propriétés antioxydantes et antiradicalaires des huiles essentielles (Sacchetti *et al.,* 2005). Les huiles essentielles, ont été largement évaluées concernant leurs activités antioxydantes puisqu'ils ont été utilisés dans les aliments industriels comme des antioxydants naturels (Hellali, 2016).

Ruberto et Baratta (2000), qui avaient étudié l'activité antioxydante de 98 composants pure de l'huile essentielle de *Teucrium marum,* représentant les principales classes des composés typiques des huiles essentielles, ont montré que les hydrocarbures sesquiterpèniques exerçaient un effet antioxydant faible, alors que les hydrocarbures monoterpéniques ont montré un effet antioxydant significatif, avec plusieurs variantes en raison des différents groupes fonctionnels. (Teixeira *et al.,* 2013) qui ont décrit que l'activité antioxydante élevée de l'huile essentielle du clou de girofle indienne est due à son composé majoritaire l'eugénol qui est un phénylpropanoïde, connu comme un puissant antioxydant.

L'effet antiradicalaire de l'huile essentielle pourrait être dû à la présence d'une grande proportion des composés phénoliques (Almeida *et al.,* 2011). Il est rapporté que les composés phénoliques peuvent donner un atome d'hydrogène aux radicaux libres arrêtant de ce fait la réaction en chaîne de propagation pendant le processus d'oxydation des lipides (Sánchez -Mareno *et al.,* 1998). Les composés phénoliques réagissent selon un mécanisme proposé par Sherwin ., 1976). L'antioxydant cède un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de protons, pour donner un intermédiaire radical stabilisé.

II. 1-2-Activité antimicrobienne :

II. 1-2-1-Activité antibactérienne :

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérogènes, leur toxicité aiguë et leur danger potentiel pour l'environnement en plus du problème de résistance bactérienne à cette classe thérapeutique. Plus récemment, la prévalence de la résistance aux antimicrobiens a incité les chercheurs à rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes pour inhiber les diverses bactéries pathogènes humaines (Rudramurthy *et al.,* 2016). À cet égard, l'exploitation des huiles essentielles pour contrôler l'épidémie des bactéries pathogènespeut être utile pour lutter contre diverses maladies infectieuses (Mulyaningsih *et al.,* 2010). L'impact antimicrobien des huiles essentielles et de leurs composants chimiques est démontré par plusieurs études (Duschatzky *et al.,* 2005 ; Lang and Buchbauer, 2012 ; Akhtar *et al.,* 2016).

L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant les bactéries à Gram positives et les bactéries à Gram négatives. La structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positives les rend toutefois plus sensibles à l'action des huiles essentielles (Raut et Karuppayil, 2014). La structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram négatives les rend moins sensibles à l'action des huiles essentielles. La présence d'une membrane plasmique hydrophile externe chez les Gram négatives empêche la pénétration intracellulaire des molécules hydrophobes composant la majorité des huiles essentielles. Cette caractéristique confère aux bactéries négatives une résistance à l'huile et même aux antibiotiques (Lewis et Ausubel, 2006).

La composition chimique des extraits de plantes peut être influencée par de multiples facteurs, incluant l'espèce à laquelle appartient la plante prélevée, le matériel végétal (feuilles, fleurs, rameaux, fruits) utilisé pour produire les extraits, ainsi que le procédé employé pour réaliser l'extraction. La combinaison de ces divers paramètres semble être une explication aux différences d'activité antibactérienne observées entre les huiles essentielles (Burt *et al.*, 2004).

Dans l'ensemble, le mécanisme d'action antibactérien est favorisé par une série de réactions biochimiques dans la cellule bactérienne, qui dépendent du type et des caractéristiques des constituants chimiques présents dans l'huile essentielle (Nazzaro *et al.*, 2013). Les constituants chimiques de l'huile essentielle ont une propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne (Keita, 2002). Les molécules oxygénées, qui entrent dans la composition des huiles essentielles, sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées, connues pour leurs faibles propriétés antibactériennes. L'activité antibactérienne de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Parmi les composés de l'huile essentielle les phénols, sont, du fait du caractère acide de leur substituant hydroxyle, décrits comme les composés les plus actifs. Les composés carbonylés, avec des groupements aldéhydiques ou cétoniques, et les alcools sont également reconnus pour leurs propriétés antibactériennes (Kalemba et Kunicka, 2003).

Les composants actifs de l'huile essentielle du Romarin tel que le cinéole, le camphre et l'α-pinène, agissent sur plusieurs sites de la cellule bactérienne (Rožman et Jersek, 2009). Des cellules bactériennes traitées avec la fraction oxygénée de l'huile essentielle de *Quercus infectoria* est également endommagé. Le matériel intracellulaire forme des agrégats, qui présentent un aspect vacuolaire, due à une modification de la perméabilité membranaire qui conduit à une perte des éléments cytoplasmiques (Suwalak et Voravuthikunchai, 2009).

II. 1-2-2-Activité antifongique :

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques, soit sous leur forme pure soit sous forme de dérivés des composés originaux pour une optimisation thérapeutique plus efficace et plus sûre (Peralta *et al.*, 2015). Les huiles essentielles ou leurs composés actifs sont également employés comme agents antifongiques dans les industries agro-alimentaires (Zambonelli *et al.*, 2004).

Selon Beatovic *et al.* (2015), l'Eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que Candida albicans (Latifah-Munirah *et al.*, 2015), et des champignons : Aspergillus ochraceus, A. versicolor, A. niger, A. fumigates, Trichoderma viride et P. funiculosum. Papajani *et al*. (2015) ont rapporté que l'activité antifongique de l'huile essentielle de romarin sur les dermatophytes tels que : Epidermophyton floccosum, Arthroderma cajetani, Microsporum gypseum, Microsporum canis, Trichophyton violaceum, Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum et Trichophyton tonsurans, et des champignons phytopathogènes tels que Botrytis cinerea et Pleomorphomonas oryzae.

Selon Pramila, *et al.* (2012), les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant alors à la perte des macromolécules conduisant à une inhibition de la croissance fongique. D'autre part, la pectine, composé essentiel des parois des cellules végétales nécessaire à l'adhésion cellulaire, est hydrolysée par les pectinases fongiques. Il semblerait que les composés phénoliques des huiles essentielles joueraient un rôle inhibiteur de celles-ci (Vermeriss et Nicholoson, 2006). L'exposition des cellules fongiques à l'huile essentielle conduit généralement, à la coagulation des composants cellulaires dus à des dommages irréversibles de la membrane cellulaire. Chez la levure, l'huile essentielle établi un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire (Aleksic et Knezevic, 2014).

Les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire des champignons et des membranes cytoplasmiques grâce à un processus de perméabilisation, ce qui conduit à la désintégration des membranes mitochondriales. Ceci est causé par des altérations dans le flux. Cela peut aussi endommager les lipides, les protéines et les acides nucléiques contenus dans les cellules infectées par les champignons pathogènes (Arnal-Schnebelen *et al.*, 2004).

Les huiles essentielles pourraient également perturber la dépolarisation de la membrane mitochondriale en agissant sur les canaux d'ions, surtout les ions du Ca^{2+}, pompes à protons et pools d'ATP qui amène vers une diminution du potentiel membranaire. Ce changement dans la fluidité des membranes peut causer une perte d'électrolytes par la perturbation des voies de cytochrome C, des métabolismes des protéines et des concentrations d'ions du calcium. Par conséquent, cette modification de la perméabilité des membranes mitochondriales internes et externes peut entraîner l'apoptose des cellules conduisant à la mort cellulaire (Yoon *et al.,* 2000).

CHAPITRE III : LE SAPIN DE NUMIDIE (*Abies numidica* De Lannoy)

III.1 -Historique

Le genre Abies est connu depuis le tertiaire, les données paléobotaniques montrent que ce genre aurait eu son origine au milieu de l'Eocène à l'aire du tertiaire. Il avait dans le passé, des conditions d'habitat semblables à celles d'aujourd'hui sauf pour les températures, qui étaient plus basses et pour la répartition géographique qui était plus large (Liu, 1979 in HACHI-ILLOUL., 2016). Miller (1754 in HACHI-ILLOUL., 2016) a employé le terme Abies pour désigner un genre. Quelques botanistes comme Loudon (1838) et Gordon (1858) employaient le terme Picea à la place d'Abies pour inclure les vrais Pins (Liu, 1971 in HACHI-ILLOUL., 2016).

Le genre Abies est considéré comme le plus complexe des autres genres de la famille des pinaceaes (Parducci et al., 2001). Il est réparti dans l'hémisphère nord en six ensembles distincts, en relation avec leurs aires de répartition géographiques et probablement leur évolution phylétique dans l'hémisphère Nord avec une importante variabilité de leurs caractères morphologiques (Flous, 1936) et (Quezel, 1998). Les botanistes connaissent bien depuis le siècle dernier les diverses espèces de sapins végétant sur le pourtour de la Méditerranée, malgré les difficultés évidentes que présentent leur détermination et l'appréciation exacte de leur valeur taxinomique. Les forestiers n'ont commencé à vraiment s'y intéresser que lorsque les grands travaux de reforestation ont été entamés à la fin du siècle dernier et étendus à la région méditerranéenne proprement dite (Quezel, 1998).

Les sapins occupent en effet une place appréciable dans la constitution des forêts naturelles sur le pourtour méditerranéen. S'ils sont surtout présents en zones montagneuses, certaines espèces sont toutefois susceptibles de végéter à des altitudes peu élevées (500-600 m), et d'entrer en contact direct avec les forêts sclérophylles, notamment en Grèce, au Maroc et en Espagne, et bien évidemment avec les forêts à chênes caducifoliées (Quezel, 1998).

III.2. Découverte du sapin de Numidie en Algérie:

Cette espèce a été découverte en 1861 sur les montagnes des Babors par le capitaine Deguilbert. Les botanistes Letourneux et Cosson considèrent ce sapin comme une variété des sapins espagnols, il a de ce fait été appelé *Abies pinsapo baborensis*. En 1861, De Lannoy décrit pour la première fois ce sapin d'où l'appellation *A. numidica* De Lannoy, mais la publication valide était par Élie Abel Carrière en 1866 (Barbey, 1934). *Abies numidica* est communément appelé : sapin de Kabylie,

sapin d'Algérie, sapin de Numidie et sapin des Babors. Les dendrologues et les botanistes ont désigné ce sapin sous diverses appellations dont *: A. numidica* De Lannoy, *A. pinsapo baborensis* Cosson, *A. numidica glauca* Hort, *Abies baborensis* Letourneux, *A. numidiensis* Alphand, *A. numidica aurea* Blaringhen, *Picea numidica* Gordon, *Pinus baborensis* Mac Nab, *Pinus pinsapo* Parlatore et *Pinus baborensis* Voss. (Barbey, 1934).

III. 3-Caractères botaniques :

Le Sapin de Numidie est un arbre à feuillage persistant et touffu, il atteint une hauteur de 25-30m, les branches sont incurvées et retombantes. La silhouette de l'arbre se modifie avec l'âge, d'abord elle est conique quand il est jeune, puis le port devient tabulaire, très caractéristique quand il est âgé (HACHI-ILLOUL M, 2016).

III.3.1. Le tronc : revêtu d'une écorce grise et lisse dans le jeune âge puis se fissure en plaques grises.

III.3.2. Les ramifications : verticillées, les rameaux d'un an sont de couleur vert olive, faiblement sillonnés presque glabres, les rameaux de deux ans sont gris brun et glabres-Les bourgeons : ovoïdes, pointus, assez gros, de couleur brun rouge, résineux à la base, à demi dégagés les aiguilles terminales, les bourgeons des inflorescences mâles et femelles sont peu résineux.

III.3.3. Les aiguilles: directement insérés sur le rameau long (auxiblastes), elles sont de deux types **:**

III.3.3.1. Les aiguilles des rameaux stériles, sont droites de 15 à 25 mm de long et de 2 -2,5 mm de largeur, épaisses avec un apex arrondi, un peu échancrées ou pointues mais non piquantes. Elles sont disposées en demi-écouvillon, laissant les parties inférieures du rameau dégagées ainsi d'un écouvillon en forme de « V »au dessus. La place supérieure est sillonnée d'un vert foncé luisant avec une bande plus ou moins continue de stomates vers l'apex. La face inférieure présente deux bandelettes blanchâtre de stomates un peu moins larges que la nervure médiane.

III.3.3.2. Les aiguilles des rameaux fertiles : sont disposées en brosse relevée, épaisses à apex aigu et corné. Les bandelettes de stomates de la face supérieure sont toujours très distinctes.

- **Le sapin de Numidie est une espèce monoïque :** les inflorescences mâles apparaissent au printemps, de Mars à Mai. Elles sont constituées de chatons mâles globuleux, de couleur rouge pourpres situés à la face inférieure des rameaux. Les inflorescences femelles apparaissent vers le mois de Janvier, de couleur verdâtre, dressées, solitaires ou groupées par

deux, quatre ou plus disposées sur le côté supérieur des branches les plus hautes au niveau de la cime de l'arbre.

- **Les cônes :** sont grands, oblongues et cylindriques, de couleur gris brunâtre à maturité. La longueur varie entre 8,2 et 18,5 cm et le diamètre varie entre 4-6 cm. Ils renferment des graines. Ils parviennent à maturité en Octobre-Novembre et finissent par se désarticuler pour libérer les graines, laissant sur l'arbre l'axe principal du cône appelé « rachis » (Figure 1). La fructification a lieu tous les ans.

Figure 1 : Rachis, cône en désarticulation et Cône (HACHI-ILLOUL ,2016)

III.4-Aire de répartition géographique

III.4.1- Aire naturelle

Le sapin de Numidie (*Abies numidica* de Lannoy) est une essence forestière algérienne, endémique des monts Babors où il couvre une superficie de 300 ha (Kolai, 1986). Aux Babors, on ne compte que quelques pieds rabougris et déformés par la neige et le vent mais d'après Barbey (1934), il aurait certainement été parsemé de sapins à une époque reculée.

III.4. 2- Aire artificielle et plantation

Abies numidica a été introduite en dehors de son aire naturelle en Algérie dans des zones telliennes, notamment dans les forêts de l'Est. Cette espèce semble donner des résultats forts intéressants en

termes de production de semences, productivité etc. Des introductions ont également été effectuées en France dans certains arboretums en 1861(Parde, 1937 et Callen, 1976). Dans l'arboretum de Djbel Ouahch dans l'aire du Chêne liège, l'accroissement moyen annuel du sapin de Numidie est de 5.28 m3/ha/an (Hadjadj, 1986). Dans la forêt de Serraïdi à Annaba, cette espèce fructifie avec une régénération naturelle qui semble s'installer Progressivement.

Figure 2 : Régénération du sapin de Numidie dans la plantation de Serraïdi (Bennadja et Ait-kaki, 2013 in Illoul-Hachi, 2016).

III.4. 3- Systématique du genre *Abies*

Le genre *Abies* appartient à :

- Embranchement : Spermaphytes
- S/Embranchement : Gymnospermes
- Ordre : Coniférales
- Famille : Pinacées
- S/Famille : Abietoïdées
- Tribu : Abiétées
- S/Tribu : Sapinae
- Genre : *Abies*

Le genre *Abies* est probablement le deuxième genre en nombre après *Pinus*, avec une grande variabilité morphologique des caractères aussi bien internes qu'externes. L'instabilité de ces

caractères morphologiques est en grande partie due à la pollinisation naturelle croisée entre les espèces, de laquelle résulte beaucoup d'hybrides dont la classification est ambiguë (Liu, 1971). Gaussen (1964) considère le genre *Abies* comme un des principaux genres des conifères par le nombre de ses espèces et sa vaste répartition.

III.4. 4. Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie (*Abies numidica*) :

Tableau 1 : Caractéristiques botaniques et géographiques du sapin de Numidie (*Abies numidica*)

Critères	Description
Synonymes	*baborensis* (Cosson)1866 *Pinsapo var. baborensis* Cosson 1866 *Pinsapo var. numidica* (De Lannoy ex Carr.) 1884 *Pinsapo ssp numidica* (De Lannoy ex Carr) 1884
Noms vernaculaires	sapin de Numidie, sapin d'Algérie, sapin de Kabylie, sapin des Babors
Distribution géographique	Monts des Babors et Tababors en Kabylie orientale (Nord algérien) à partir de 1300 à 2000 m d'altitude. Introduit en Europe en 1861.
Taille et port	Peut atteindre 25 m de hauteur, port conique large, cime arrondie au sommet et très branchu
Feuilles ou aiguilles su	sur des rameaux stériles 1à 2,5 cm, elles ont en demi écouvillon laissant un sillon en V sur le rameau. Apex arrondi et non piquant. Stomates sur les faces supérieures localisées vers l'apex. Sur les rameaux fertiles, elles sont en brosse épaisse et relevée, apex corné et aigu et stomates très nettes sur la face inférieure.
Fleurs	Mâles teintées de rouge et jaune en s'ouvrant. Femelles elles sont vertes.
fruits	Cônes de 12 à 18 cm avec un diamètre entre 3-5cm,

	cylindriques, gris brun à maturité, résineux, à bractées incluses. Ecaille cunéiforme à bord entier de 3 cm de large et pubescente sur la face dorsale. Graines de 2,2 à 1,4 cm, à aile aussi longue. Cotylédons 4-8.
Ecorce, Rameau et bourgeons	Ecorce grise et lisse, un peu rose, puis brunâtre et écailleuse avec l'âge. Rameau de 1 ans glabre vert brun et rameau de 2 ans glabre, gris brun. Bourgeons bruns rouges, résineux à la base, ovoïdes, pointus à demi dégagés des aiguilles terminales.
divers	Espèce rare et menacée de disparition classée dans la liste rouge de l'UICN.

Illoul-Hachi, 2016

III.4. 5. Potentialités forestières du Sapin de Numidie

Les caractéristiques forestières sont remarquables, en effet, Kolai (1990) rapporte que, dans son milieu naturel, la hauteur des arbres varie entre 10,60 et 15,27 m avec une moyenne de 12,12 m. La hauteur dominante peut atteindre 20 m avec une moyenne de 15,90 m. La circonférence à 1,30 m du sol varie entre 73,91 et 143 cm avec une moyenne de 112,48cm. Le volume sur pied varie entre 137,71 m3 /ha et 559,25 m3 /ha avec une moyenne de 338,06 m3 /ha. L'accroissement moyen annuel varie entre 1,05 et 3,75 m3 /ha/an avec une moyenne de 2,36 m3 /ha/an. (Illoul-Hachi, 2016).

III.4.6. Propriétés phytothérapeutiques du sapin de Numidie *(Abies numidica)*

En plus de sa valeur écologique indéniable, cette essence présente un intérêt médicinal grandissant. Elle est en effet, très efficace pour les voies respiratoires. Elle décongestionne, calme l'inflammation et désinfecte (Lamendin & Tramini, 2000 in Ait Kaki Tllili et al., 2013). Ainsi, dans

la médecine traditionnelle, la gomme de sapin constitue un des remèdes essentiels employés comme antiscorbutique, comme antiseptique dans les blessures et en cataplasme sur les brûlures. De cette gomme, diverses préparations ont été tirées, notamment une huile de térébenthine et un goudron médicinaux (Ait Kaki Tllili et al., 2013). L'huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie possède aussi, un effet antibactérien sur certaines souches bactériennes pathogènes (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniæ, Acinetobacter sp. et Staphylococcus aureus (MRSA)) (Ait Kaki & Bennadja, 2013). L'analyse de la composition chimique de cette huile essentielle, montre sa richesse en composés terpéniques et majoritairement l'acétate de bornyle, le camphène et α - pinène suivi de β-pinène (Ait Kak-Tllili et al., 2013). Ces auteurs rapportent que l α-pinène, composé dominant de ces huiles, est responsable de l'activité observée contre les microorganismes testés. En ce qui concerne le β-pinène son pouvoir bioactif a été prouvé, ce qui a conduit à son utilisation comme désinfectant et insecticide.

CHAPITRE IV LE PATHOGENE : LE FUSARIUM (*F.Oxysporum*)

IV.1- Généralités :

Le genre fusarium a été introduit par Link en 1809, ce dernier traverse son troisième siècle comme l'un des genres comprenant de nombreux champignons qui peuvent causer directement des maladies chez les plantes, chez les humains ou bien chez les animaux domestiques (Boonpasart *et al.*,2002; Goldschmied *et al*., 1993 ; Krcmery *et al.,* 1997; Martino et al., 1994; Rabodonirina *et al.*, 1994; Rabell, 1981; Vismer *et al* .,2002). Le taux de mortalité chez les humains à cause des infections systématiques à fusarium est inférieur à 70 % (krcmery *et al.*, 1997) et les patients séropositifs sont plus exposés à de telles infections

(Eljaschewitsh *et al.*,1996; Guarro *et al.*, 2000). En outre, les espèces de fusarium produisent des métabolites secondaires qui sont associés à des maladies de plantes, à des cancers et à des problèmes de croissance chez les humains et chez les animaux domestiques. certains de ces métabolites secondaires sont utilisés soit directement, soit comme produit de départ dans l'industrie chimique pour la synthèse des promoteurs de croissance chez les végétaux et chez les animaux (Hidy *et al.*, 1977; Shukla *et al.*, 2003; Tomasini *et al*.,1997).des allégations de l'utilisation des mycotoxines produites par certains de ces champignons comme armes biologiques ont été également faites (Heyndrickx *et al.*, 1989; Mirocha *et al.*,1983; Rosen *et al*.,1983).

Le genre Fusarium, décrit pour la première fois par Linke en1809, appartient a la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des hyphomycètes (champignons filamenteux). L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux deutéromycètes (champignons imparfaits) , regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées ,certaines espèces de fusarium ont une forme sexuée dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres Nectria ou Gibberella dans l'ordre de Hypocréales , au des Ascomycètes(Gams et Nirenberg,1989).

Comme pour tous les champignons, la classification originelle des fusarium est basée sur des critères culturaux et surtout morphologiques établis par des observations microscopiques. Le caractère commun aux fusarium est la production de macroconidies pluricellulaires en forme de croissant. Leur rattachement aux tuberculariacées est lié à la formation des macroconides sur des fructifications différenciées appelées sporodochies. D'autres types de spores asexuées peuvent être produites : des macroconidies unicellulaires ou bicellulaires de forme variée, ainsi que des chlamydospores, spore de résistance, les critères morphologiques utilisés pour la classification des

fusarium sont la forme et la taille des macroconidies ; la présence ou l'absence de microconidies et de chlamydospores ainsi que leur forme et enfin la strucrure des conidiophores.

IV-2- L'espèce *Fusarium oxysporum*

C'est un champignon tellurique ayant une grande diversité génétique, écologique et une pathogénicité vis-à-vis des espèces végétales cultivées à intérêt économique. En effet certaines souches pathogènes de *F.oxysporum* sont responsables de maladies telles que la flétrissure et la pourriture des racines et du collet chez des plantes hôtes.

V.2.1-Position taxonomique et systématique :

Les nombreuses controverses dans les études taxonomique du genre *Fusarium* ont peu concerné l'espèce *F.Oxysporum* .En effet (Snyder et Hansen, 1940), ont montré que les différences morphologiques décrites par (Wollenweber et Reinking 1935), pour distinguer plusieurs espèce dans la section Elegans n'étaient que des variations culturales d'une même espèce, appelée *F.oxysporum*. La plupart des systèmes taxonomiques proposés ultérieurement ont maintenu *F.oxysporum* comme espèce unique dans la section Elegans.

La seule controverse qui subsiste concerne la position taxonomique de *F. redolens*, considérée comme une espèce (Wollenweber et Reiking,1935 ;Gerlach et Nirenberg,1982) ou comme une variété de *F.oxysporum* (Booth ,1971 ; Nelson *et al.*,1982). Cependant, des données récentes tendent à définir *F. redolens* comme une espèce à part entière (Waalwijk *et al.* ,1996 ; Baayen *et al.*, 1997 ; O'Donnell *et al.*,1998).

Le systéme Saccardo de classification des champignons imparfaits « fungi imperfecti » classe le fusarium comme suit :

- Embranchement des Thallophytes.
- Classe des Deutéromycètes
- Ordre des Monodiales
- Famille des tuberculariacées
- Genre *Fusarium*
- Espèce : *F. oxysorum* (Henni ,1998)

IV.3-Description morphologique :

A niveau macroscopique, l'aspect cultural de *F.oxysporum* sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) correspond a un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet. Cependant, l'aspect des souches *de F.oxysoprum* peut fréquemment varier d'une culture

à l'autre après des repiquages successifs, voire dans une même culture ou des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaitre (Burnett,1984 ;Windels,1992)

Au niveau microscopique, *F.oxysporum* se caratérise par des :

- Microconidies abondantes généralement monocellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts.
- Macroconidies fusiformes, également abondante, comportent quatre a six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied

Les chlamydospores sont présentes, solitaires ou en paires, lisses ou rugueuses, globuleuses terminales ou intercalaires de 5 a 15 micro mètre de diamètre (Komi, 1993), se sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région conidie qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée.

Les organes massifs producteurs de spores, sont de deux types : La sprodochie qui est un organe fructifère formé d'axes ramifiés porteurs à leur extrémité les monophialides, donnant naissance aux macroconidies. Les sporodochies peuvent être dispersées dans le mycélium aérien et invisible à l'œil nu dans les cultures. Lorsque les sporodochies sont rassemblées, elles apparaissent sous forme de pustules de quelques millimètres de diamètre visible à l'œil nu (Henni, 1998).

IV.4- Fusarium oxysporum phytopathogène :

Le *Fusarium oxysporum* est une espèce fréquente parmi les *Fusaruim* du sol, elle peut représenter jusqu'à 70% des isolements de *Fusarium.* Elle est couramment dénombrée à 10^3 propagules/g de sol (Messiaen et Cassini, 1981 ; Larkin *et al.,* 1993 ;Ocamb et Juzwik, 1995). C'est une espèce essentiellement saprophyte mais elle a pourtant un rôle de premier plan en pathologie végétale.

Elle comprend en effet des agents pathogènes responsables de dégâts importants dans de nombreuses cultures, telles que les cultures florales (œillet, cyclamen) et maraichères sous serres (tomate, melon, concombre), les palmeraies et bananeraies et les cultures de coton et de lin (Nelson *et al,*1981).

Certaines souches pathogènes provoquent des symptômes de pourriture racinaire. Mais la plupart des *F. oxysporum* pathogènes sont responsables de trachéomycose, maladie qui affecte le système vasculaire des plantes, on parle alors de fusariose vasculaire. Le mycélium colonise les tissus corticaux puis pénètre dans le cylindre central des racines avant d'envahir

l'ensemble des vaisseaux. L'infection entraine un jaunissement des feuilles d'abord unilatéral puis généralisé et aboutit au flétrissement, au dessèchement et enfin a la mort de la plante. (Gindrat, 1976)

Figure 03 : *Fusarium oxysporum* des racines de plante de tomate (INRA ,2017)

IV.4.1. Cycle biologique de la maladie

Le Fusarium responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, chez les légumineuses, est transmis essentiellement par les semences, mais peut aussi prévenir du sol où il se conserve sous forme de spores durables. Parasitant les caryopses, le Fusarium peut être présent à la surface, soit à l'état de spores libres, soit sous forme de petites colonies mycéliennes. Plus fréquemment, il est interne et se localise dans le péricarpe ou plus profondément dans les téguments séminaux et l'embryon. Présent autour de ce dernier sous forme de mycélium, les caryopses germent et donnent des plantules qui présentent des faciès caractéristiques durant le cycle vital de la plante hôte (Champion,1997). Les plantules détruites par le parasite, en pré-émergence comme en post-émergence, constituent une source de contamination par des plantes voisines, c'est le premier foyer infectieux.

En effet, le parasite édifié sur la plantule détruit des coussinets sporifères qui sont les spores entraînées par le vent et par la pluie. Ces spores vont infecter les autres plantes ou contaminer le sol. Au cours des périodes successives de croissance jusqu'à celles de la reproduction de la plante puis la maturité des graines, le Fusarium, d'abord localisé au niveau des parties souterraines, se développe et sporule abondamment. Il constitue ainsi un deuxième foyer d'infection qui favorise la dissémination de la maladie aux plantes voisines. La maladie se perpétue, ainsi d'une année à une autre, soit par les caryopses infectés qui hébergent le parasite, soit par les spores formées sur la plante parasitée durant tout le cycle végétatif, soit enfin par contamination du sol (Mrabet, 1998; Caron, 2000).

IV.4.2. Le fusarium de la pomme de terre:

Le flétrissement fusarium de la pomme de terre est causé par quelques espèces de *Fusarium* dont *F. avenaceum, F. oxysporum, F. sambucinum, F. solani* et *F. solani* f. sp. *eumartii*. *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* n'affecte que la pomme de terre tandis que les autres espèces attaquent de nombreuses plantes. C'est une maladie occasionnelle et mineure de la pomme de terre. Elle est moins commune que la pourriture sèche fusarium et le flétrissement verticillien. Le flétrissement fusarium se manifeste vers le milieu ou la fin de la saison de croissance. Il est plus fréquent lorsque les conditions de croissance sont chaudes et sèches, ce qui accroit les pertes de rendement et de qualité des tubercules. Le cultivar 'Yukon Gold' est très sensible au flétrissement fusarium.

IV.4.2.1. Symptômes

Ce champignon attaque tous les organes de la plante, les symptômes apparaissent comme suit :

- **Sur les tubercules**, les symptômes varient selon le cultivar et l'espèce de *Fusarium*.

- **Feuille :** jaunissement, brunissement, flétrissement puis mortalité des feuilles basales qui demeurent attachées aux plants. La progression de la maladie se fait des vieilles feuilles vers les jeunes.

- **Tige :** les entrenoeuds sont courts. Brunissement des tissus vasculaires et pourriture du cortex à la base des tiges. Flétrissement et mort prématurée des tiges, souvent une tige à la fois.

- **Tubercule :** présence d'une ou de quelques lésions (taches) brun gris près du talon. Brunissement des tissus vasculaires. Lors d'infections sévères, les tubercules sont creux au talon avec une pourriture brune sèche dans la chair. Absence d'odeur provenant de la pourriture. Dans des conditions de hautes températures et d'humidité, les tubercules infectés par les blessures ou les lenticelles montrent de petites lésions circulaires et une pourriture sèche en entrepôt.

- **Racine :** brunissement des tissus vasculaires et pourriture du cortex.

- **Plant :** flétrissement et mortalité précoce des plants. Le flétrissement est le symptôme le plus caractéristique de la maladie.

Objectif de l'étude:

L’objectif de cette étude rentre dans le cadre d'une lutte biologique, à cet effet notre travail consiste à tester l'effet fongicide de l'huile essentielle d’un conifère endémique des monts Babors en l’occurrence : le sapin de Numidie (*Abies numidica*), sur un champignon microscopique (fusarium) affectant les racines de pomme de terre.

II.1 Matériel

II.1.1.Présentation de la zone d'étude

Notre expérimentation s'est déroulée au niveau de deux(02) laboratoires:

-La première partie s’est déroulée au niveau du laboratoire pédagogique de phytochimie de la faculté SNV (université d'el tarf). Elle a concerné l'extraction des huiles essentielles,

-La seconde partie concerne l’essai de l’activité antifongique des huiles essentielles sur un champignon phytopathogène. Cette dernière a eu lieu au niveau du laboratoire de mycologie de la Station Régionale de la protection des végétaux (SRPV) cette dernière et sous la tutelle de l’Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) qui se situe à El kous, commune d'Echatt, daira de BenMhidi wilaya d'El Tarf à 25 km de l'est d'Annaba sur la route nationale N°44. Sa localisation géographique est comme suit: longitude: 7° 51° 18° 05° Est, latitude: 36° 47° 41° 98° Nord, et l'élévation:05 m. elle fait partie de la plaine irriguée par le barrage bounamousa.

Figure 04 : laboratoire mycologie (Ghers et Dib 2021)

II.1.2- Matériel biologique

I.1.2.1- Matériel végétal

Le matériel ou l'organe choisi dans la présente d'étude est représenté par la partie aérienne (aiguilles) sèches du sapin de Numidie (*Abies numidica*) (figure 05). A cet effet deux

prélèvements d'échantillons ont été réalisés : l'un au niveau de la partie basse de l'arbre et l'autre au niveau de la partie médiane de l'arbre.

Figure 05 : Les feuilles sèches du sapin de Numidie (*Abies numidica)* (Ghers et Dib ,2021)

II.1.2.2.Matériel fongique

La souche fongique est choisie dans cette étude sur la base se son implication fréquente dans la contamination des racines de la pomme de terre dans la région d'El tarf. La souche testée est: *Fusarium solani*. Elle nous a été fournie par le laboratoire de mycologie de l'INPV. Ces derniers l'ont isolée et purifiée à partir des racines de la pomme de terre (figure 06).

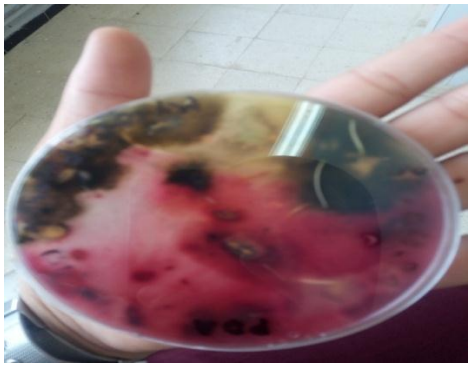

Figure 06 : La souche fongique (*Fusarium oxysporuim*) (Ghers et Dib, 2021)

II.1.2.3.Milieu de culture

Pour évaluer l'activité antifongique, nous avons utilisé le milieu de culture Sabouraud. Ce dernier nous a été fourni par Mme la responsable des laboratoires pédagogiques de la faculté SNV (annexe I représente une fiche descriptive de ce milieu).

II.2. Méthodes

II.2.1.Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de sapin de Numidie

L'extraction des huiles essentielles des feuilles séchées du sapin a été réalisée à l'aide d'un appareil appelé Clevenger décrit par la pharmacopée française en 1984. Il s'agit d'une hydro distillation des parties aériennes effectuée par entrainement à la vapeur d'eau (figure 07) .

Figure 07 : Hydro distillateur type Clenvenger (Ghers et Dib, 2021)

II.2.1.1. Préparation de l'extrait

L'extraction des huiles essentielles de sapin de Numidie est effectuée au niveau de notre laboratoire .ainsi 300g de la matière végétale (les aiguilles du sapin de Numidie) sont introduits dans un ballon rempli avec 700 g d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant, se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter. L'eau automatique et huile essentielle se séparent par différence de la densité.

L'huile est récupérée du haut de l'essencier à l'aide d'une micropipette, puis stockée à 4° C dans des tubes à appendront fermées hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température, qui sont les principaux agents de dégradation. Une huile altérée perd son activité biologique. Durant la distillation, la vapeur d'eau s'imprègne de toutes les propriétés de la plante.

Cette vapeur retourne ensuite à l'état liquide et donne l'hydrolat. Il s'agit donc d'un sous-produit de l'extraction de l'huile essentielle. Et tout comme cette dernière l'hydrolat cumule toutes les vertus de la plante dont elle est extraite.

Figure 08 : les feuilles sèches de sapin de Numidie (Ghers et Dib, 2021)

II.2.1.2. Conservation des huiles essentielles obtenues

L'huile essentielle surnageant à la surface ; a été recueillie puis conservée au réfrigérateur à 4°C dans des bouteilles sombres pour la préserver de la chaleur en attendant son utilisation.

II.2.1.3-Détermination de rendement

Selon la norme ANFOR 1986 , le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante :

$$\mathbf{RHE\ (\%) = M'/M \times 100}$$

RHE : rendement en huile essentielles

M' : masse d'huile essentielle en gramme ;

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

II.2.2.Préparation de la moisissure

I.2.2.1.Isolement du *Fusarium*

L'isolement du champignon a été réalisé par l'équipe du laboratoire de phytopathologie de l'INPV d'el kous selon la technique universelle PDA : les racines des plants sont préalablement désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2 pendant une minute suivi d'un rinçage abondant à l'eau distillée stérile (3à 5 fois) afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de sodium. Elles sont ensuite séchées à l'aide de papier filtre stérile.

I.2.2.2 .Isolement sur le milieu sabouraud

Les échantillons qui présentent les symptômes de la maladie sont découpés, ensuite désinfectés dans l'hypochlorite de soduim dilué à 2 pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage dans 3 bains successifs d'eau distillée pendant 5 minutes chacun, puis sont séchés entre deux feuilles de papier (Douakha et Hamdaoui 2017).

Les échantillons sont ensuite déposés dans les boites de pétri contenant le milieu Sabouraud à raison de 5 fragment par boite. Les boites sont incubées dans l'étuve bactériologique à une température de 22°C pendant 7 à 10 jours.

I.2.2.3.Purification de l'agent pathogène

A partir de la culture âgées de 7 jours de *Fusarium*, une suspension de spores est préparée dans les tubes contenant de l'eau distillée stérile, ensuite une goutte de chaque suspension est alors prélevée et étalée de manière uniforme sur les boites de pétri. Les boites sont ensuite incubées à la température ambiante du laboratoire.

Après 48h, un prélèvement de filament mycélien est effectué sous une loupe binoculaire, et repiqué sur les boites contenant le milieu Sabouraud. Les boites sont mises en incubation pendant 7 jours à, la température ambiante du laboratoire (22°C) sous lumière continu. Les isolats obtenus sont purifiés par un repiquage successif, qui consiste à transférer aseptiquement le microorganisme sur un milieu stérile pour l'isoler ou le maintenir en culture pure. Il convient de prélever avec une anse stérile pour quelques spores ou un un fragment mycélien et le transférer dans un milieu neuf (Botton *et al*.,1999).

II .2.3.Tests de l'activité antifongique dès l'huile essentielle de sapin de numidie

I.2.3.1. La méthode de diffusion par puits

La méthode des puits est la technique choisie pour déterminer l'activité antifongique de l'huile essentielle à tester. Cette méthode repose sue le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boite de pétri.

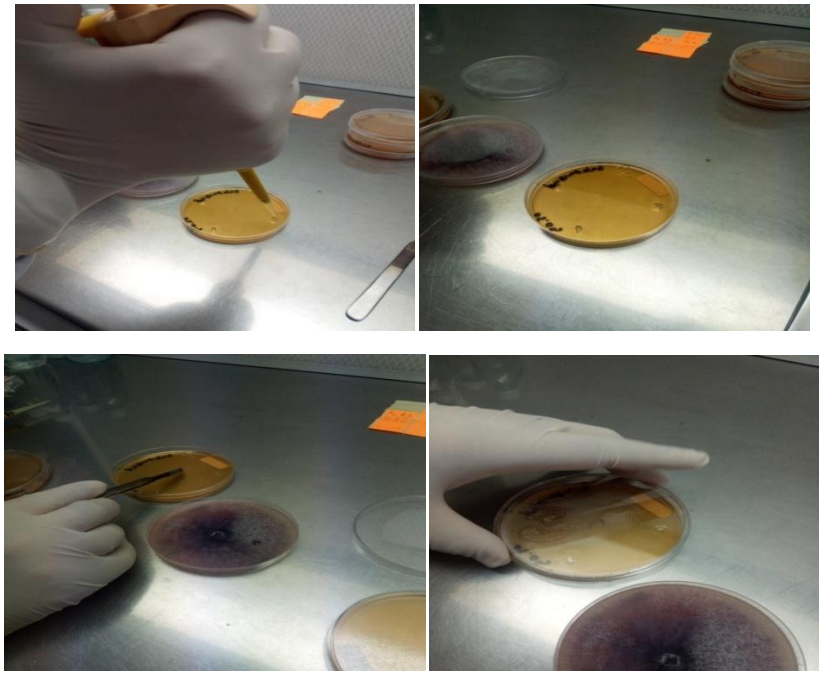

Figure 09: Test fongique par la méthode de diffusion par puits (Ghers et Dib, 2021)

Le protocole de ce test consiste d'abord à creuser 4 puits équidistants dans la gélose à une distance de 3cm du disque mycélien dép la boite. Ce disque est prélever à l'aide d'une pipette de pasteur d'une culture de champignon âgée d'un mois par la suite, 50µl d'huile essentielle est déposé au niveau de chacun des puits alors que pour la boite du témoin, le puits est rempli par l'eau distillé stérile.

Trois répétitions (trois boites de pétri) par traitement sont mises en incubation à 25°C pour une période de 9 jours. Dans les boites témoins on met de l'eau distillée dans les 4 puits équidistants à la place de l'huile essentielle. La lecture de la croissance mycélienne du fusarium solani sur boite de pétri se fait tous les 2jours.

II.2.3.2.La méthode de diffusion par confrontation à distance

La suspension sporale consiste à prélever, à l'aide d'une anse de platine stérile, des spores à partir des cultures de *Fusarium* sur milieu sabouraud des boites de pétri, en ajoutant 5ml de solution stérile d'eau physiologique dans un tube a essai. Le mélange est ensuite agité à l'aide d'un vortex afin de libérer les spores des conidiophores et l'obtention d'une suspension sporale fongique. Le teste par diffusion à distance consiste à étaler 300µl de la suspension sporales de chaque isolat du champignon dans une boite de pétri, puis à pulvériser 200µl de l'huile essentielle sur le papier filtre collé au niveau du couvercle. Trois répétitions (trois boites de pétri) par traitement sont mises en incubation à 27°C pendant 9 jours.

Dans les boites témoins on pulvérise de l'eau distillé au niveau du couvercle à la place de l'huile essentielle.

Figure 10 : Test fongique par la méthode de diffusion à distance (Ghers et Dib, 2021)

II .2.3.3.La méthode de diffusion par mélange

Dans cette méthode on procède au mélange du milieu sabouraud avec l'huile de sapin selon le principe suivant :

Dans un flacon nous fondons le sabouraud (56g sabouraud poudre dans 100ml de l'eau distillé) puis le déposer dans un autoclave pour la stérilisation et après refroidissement de ce dernier, on mélange le milieu avec l'huile de sapin ensuite on verse ce mélange dans les boites de pétri. Les boites témoins ne contiennent pas d'huile essentielle, elles comportent uniquement le milieu nutritif avec de l'eau distillé (figures 11 a,b,c,d).

Figure 11 (a,b,c,d): Méthode diffusion par mélange (Ghers et Dib, 2021)

II.3.Paramètres étudiés

II.3.1. Identification de la souche fongique

II .3.1.1.Caractères macroscopiques

L'analyse des boites s'effectue à l œil nu se basant sur les caractères morphologiques des colonies, on note la couleur, la forme de la colonie (régulière, irrégulière, dentelée, filamenteuse).

II.3.1.2. Caractères microscopiques

L'analyse des boites s'effectue à l'aide de microscope. Elle consiste à observer sous microscope :

- Les organes de reproduction ;
- L'aspect et la taille ;
- Type de spore et leur disposition.

II.3 .2. Evaluation de la croissance mycélienne moyenne

Ce paramètre consiste à estimer de la croissance mycélienne du F*usarium.* La lecture se fait chaque deux jours en mesurant le diamètre dans de la colonie mycélienne du champignon. Elle est comparée avec celle du témoin, qui a démarré dans les mêmes conditions et le même jour du test. Toute pousse même légère de champignon sera considérée comme action négative c'est-à-dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique (Bessidik et Khenfer, 2015) pour les deux méthodes d'application de l'huile, 5 lectures on été réalisées au $2^{ème}$, $5^{ème}$, 7ème, $9^{ème}$ et $11^{ème}$ jour après l'application du traitement.

II.3.3.Taux d'inhibition(T %)du champignon par l'huile essentielle

Le principe de ce paramètre consiste à déterminer le taux d'inhibition de la croissance du mycélium par rapport au témoin selon la formule suivante (Doumbouya *et al*., 2012) :

$$Ti(\%)= 100\times(dC-dE)/dC$$

Ti(%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage ;

dC : diamètre de colonies dans les boites témoins ;

dE : diamètre de colonies dans les boites contenant l'huile.

II.3.4.Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

La vitesse de croissance mycélienne consiste à mesurer le diamètre de la colonie. Elle est déterminé par la formule suivant : (Chagnier et Molard,1998 ; Bennouaer **,2016)**)

$$VC=[D1/Te]+[(D2-D1)/Te2]+[(D3-D2)/Te3]+\ldots..+[(Dn-Dn-1)/Ten]$$

II.4.Traitement statistique

Les moyennes plus ou moins l'écart type des trois essais ainsi que les représentations graphiques on été réalisées par le logiciel EXCEL 2007.

III.1.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du sapin de Numidie (*Abies numidica*)

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle obtenue par hydro distillation tel que : la couleur, l'odeur et l'aspect, sont résumés dans le tableau n° 2 suivant :

Tableau 02 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du sapin de Numidie *(Abies numidica*)

Origine d'huile essentielle	couleur	odeur	aspect
Sapin de numidie	transparant	phénole	Liquide mobile limpide

Figure12 : L'huile essentielle du sapin de Numidie (Ghers et Dib, 2021)

Les résultats du tableau 2 nous montrent que cette huile a un aspect Liquide, mobile et limpide, elle possède une odeur phénolée très forte et de couleur transparente. Ces résultats confirment ceux de Bediaf et Zouini, 2021 ainsi que ceux de Ait Kaki, 2013. Son odeur forte peut être attribuée à sa richesse en polyphénoles (Naili, 2016).

III.1.2.Rendement en huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie (*Abies numidica*) partie médiane et basse de l'arbre.

Les résultats de ce paramètre figurent dans le tableau 03 et la figure 13.

Tableau 03 : Rendements en huile essentielle du sapin de Numidie **(*Abies numidica*) (**partie basse et partie médiane) %

Zone de prélèvement	Quantité de la biomasse (en g)	Quantité d'huile essentielle (en g)	Rendement (%)	sd

Partie basse de l'arbre	300	3 g	0.20	0,055
Partie médiane de l'arbre	300	3 g	0.12	0,040

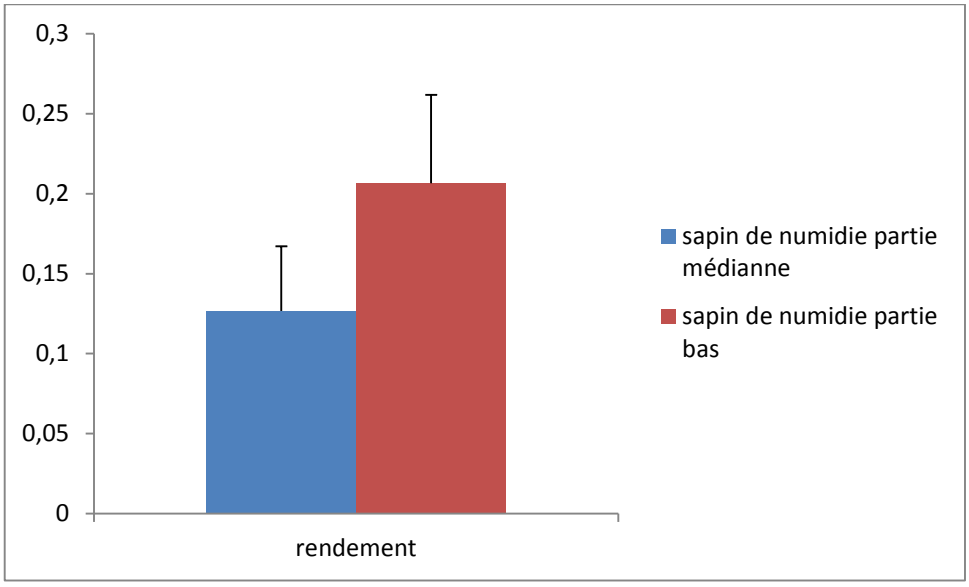

Figure 13 : Rendements en huile essentielle des aiguilles du sapin de Numidie (partie basse et partie médiane de l'arbre).

Les résultats obtenus pour ce paramètre montrent que le rendement des feuilles de la partie basse du conifère (0.2) est supérieur à celui de la partie médiane (0.12%). Ces résultats se rapprochent de ceux de Messaoudi (2012) (0.26%) mais très faible à ceux de Ait Kaki (2013) qui était de 0 .37%. Selon les mêmes auteurs, ce rendement reste faible par rapport à la littérature. Néanmoins ces derniers sont supérieurs à ceux de Bédiaf et Zouini (2021). On peut expliquer cette différence par les conditions bioclimatiques caractéristiques de la région de Séraidi (Annaba) ainsi que la période de récolte d'une part, d'autre part par les conditions d'extraction au niveau du laboratoire. La différence entre les rendements des deux parties de l'arbre peut être expliquée par le côté d'exposition des feuilles vers les conditions du milieu.

III.1.3 .Identification de l'isolat fongique

III.1.3.1. Aspects macroscopiques

La souche fongique qui a été prise au niveau du collet de blé est représentée dans la **Figure 14.**Nous avons remarqué que sur milieu sabouroud la croissance de la souche est rapide allant de 7 à 8 jours et se traduit par la production d'un mycélium dense et aérien. Selon El kharazi

(2019), l'aspect macroscopique de ce champignon se présente sous forme de colonies duveteuse ou cotonneuses blanches avec verso jaune

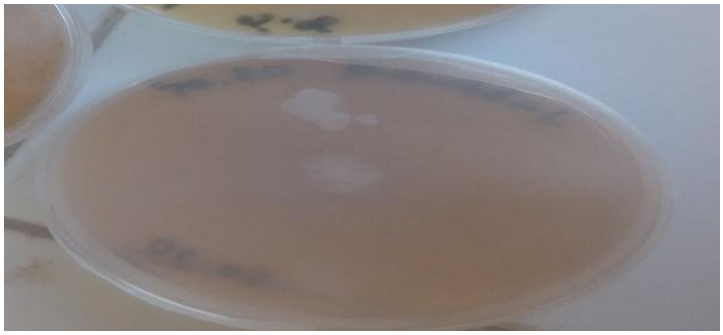

Figure 14 : Croissance de la souche fongique de 7à 8 jours (Ghers et Dib, 2021)

III.1.3.2.Aspects microscopique

Les micros conidies sont absentes dans notre cas mais selon El kharazi (2019), l'aspect microscopique avec des macroconidies est en forme de fuseau asymétrique ainsi que des chlamydospores sont présentes en abondance avec des macroconidies (photo de droite) .

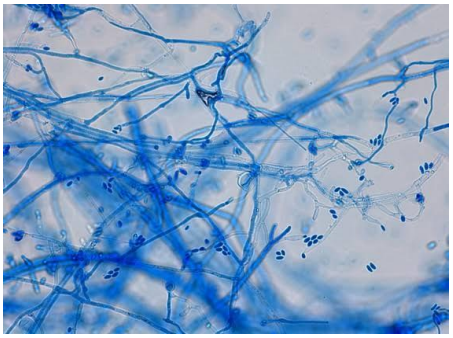

Figure15 : Aspect microscopique du *Fuzarium solani* (Ghers et Dib, 2021)

III.1 .4. Résultats de l'activité antifongique des deux huiles essentielles sur milieu gélosé

III.1.4.1. Effets des deux huiles essentielles du sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne du *Fusarium solani* (partie médiane et basse) (cm)

III.1.4.1.1. Méthode de diffusion par puits

Les résultats de ce paramètre figurent dans les tableaux 04, 05 et les figures 16 et 17

A) Partie médiane

Tableau 04 : Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (partie médiane).

	Témoins	sd	traités	sd
3ème jour	0.6	0.1	0,47	0,15
4ème jour	0.6	0.1	0,57	0,23
5ème jour	1.9	0.38	1,56	0,21
9ème jour	2.77	0.15	2,83	0,32

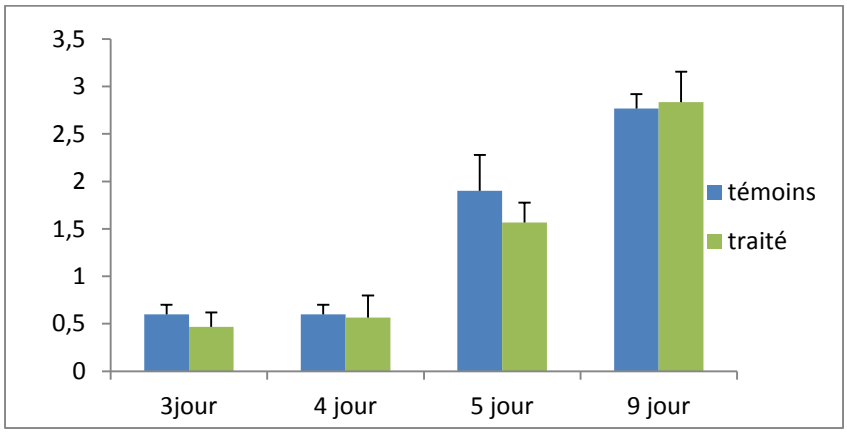

Figure 16 : Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion par puits) (partie médiane)

Pour la partie médiane de l'arbre, les résultats (tableau 04, fug 16) de cette méthode montrent une légère différence dans la croissance du mycelium entre les traités et les témoins. Jusqu'au cinquième (5ème) jour le champignon était légèrement plus développé dans les boites témoins n'ayant pas été traités avec de l'huile. Au 9ème jour nous remarquons le contraire. Le mycelium des boites témoins dépasse celui des traités. Il semble que le bioproduit n'a plus d'effet sur la croissance du Fusarium.

B) Partie basse

Tableau 05 : Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm)(diffusion par puits)(partie basse).

	Témoins	sd	Traités	sd
3ème jour	0.87	0.15	0,7	0,2

4ème jour	1.17	0.15	0,8	0,2
5ème jour	1.93	0.15	1,67	0,15
9ème jour	3	0.1	3	0,1

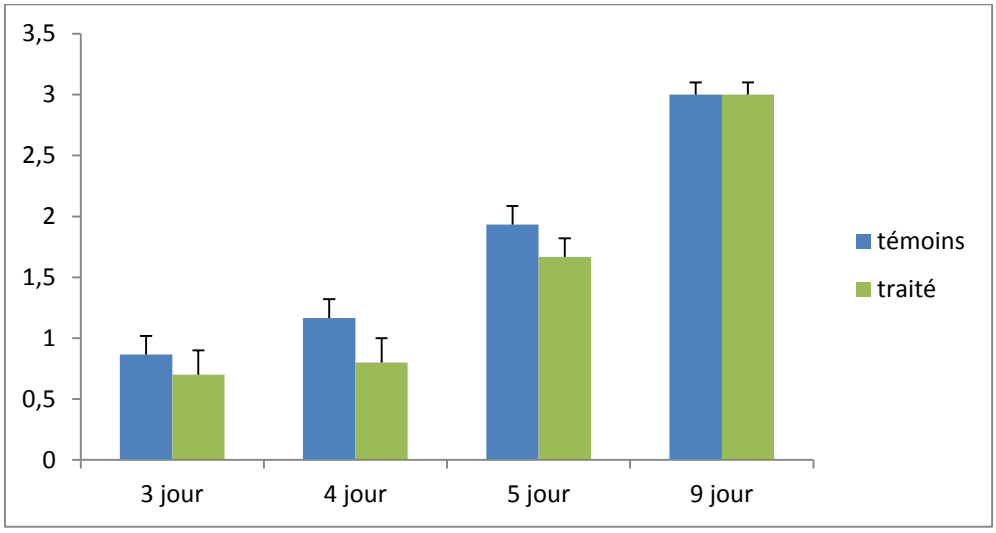

Figure 17 : Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion par puits) (partie basse)

Les résultats du tableau 05 et de la fig 17 nous montrent que pour les deux traitements, la croissance radiale du champignon évolue en fonction du temps d'incubation (nombre de jours). Il en est de même pour cette partie de l'arbre, la croissance mycélienne des boites témoins reste légèrement supérieure à celle des traités pendant les 5 premiers jours . Au 9ème jour les deux traitements présentent les mêmes valeurs de croissance.

Au vu de ces deux résultats, et pour cette méthode, on peut dire que l'huile essentielle du sapin de Numidie ne présente pas un grand effet antifongique sur le Fusarium et ce, quelque soit l'endroit de prélèvement des feuilles.

III.1.4.1. 2. Méthode par diffusion à distance

Les Tableaux 06 et 07 ainsi que les figures 18 et 19 présentent les résultats de cette méthode pour les huiles des deux prélèvements (partie médiane et partie basse.

A) Partie médiane

Tableau 06 : effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm)(diffusion à distance) (partie médiane).

	Témoins	sd	Traités	sd
3ème jour	0.3	0.1	0,03	0,058
4ème jour	0.53	0.15	0,07	0,12
5ème jour	0.8	0.1	0,2	0,34

9ème jour	3.3	0.26	2,5	0,56

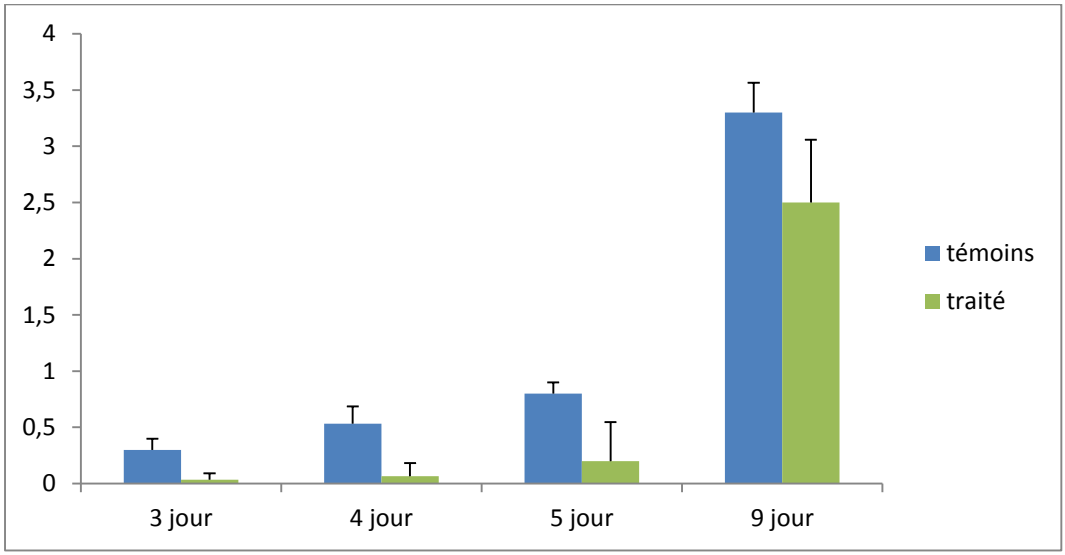

Figure 18 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance moyenne du mycélienne (cm) (diffusion à distance) (partie médiane)

Pour cette méthode, il semblerait que l'huile essentielle de la partie médiane de l'arbre ait eu un effet bénéfique sur le champignon. En effet, les différents résultats montrent que la croissance radiale de ce dernier est nettement inférieure pendant les 5 premiers jours par rapport à celle des boites témoins. Le Fusarium n'a commencé qu'après le 5ème jour. Au 9ème jour du traitement il a atteint un diamètre de 2 ,5cm contre 3,3cm de celui du témoin.

B) Partie basse

Tableau 07 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la croissance mycélienne moyenne (cm) (diffusion à distance) (partie basse).

	Témoins	sd	Traités	sd
3ème jour	0.3	0.1	0	0
4ème jour	0.43	0.057	0,97	0,20
5ème jour	0.43	0.057	1,17	0,28
9ème jour	3.43	0.15	2,93	0,11

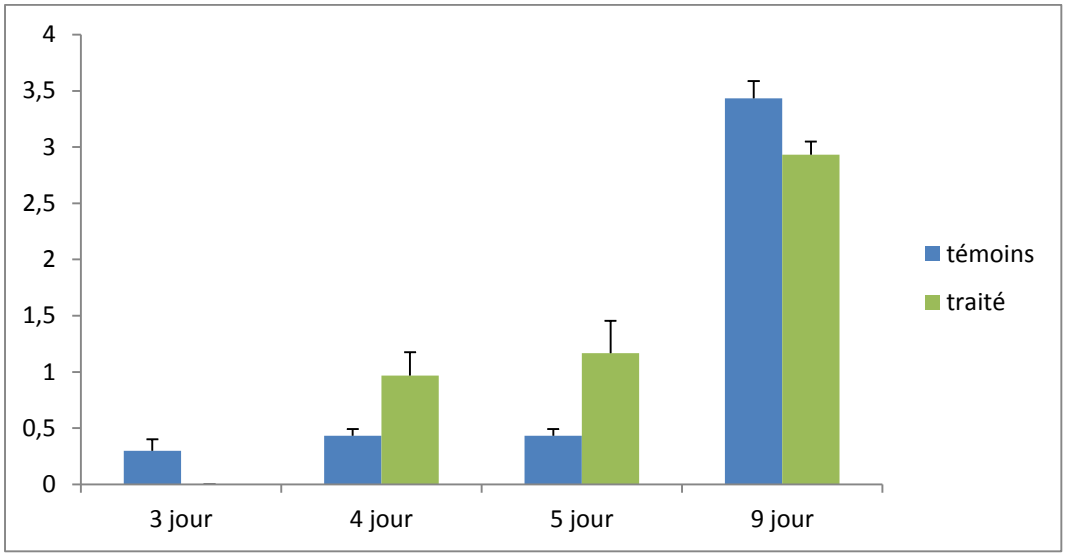

Figure 19 : Effet de l'huile essentielle de *l'Abies numidica* sur la croissance moyenne (cm) mycélienne du *Fusarium solani* (diffusion à distance) (partie basse)

Les résultats de cette méthode nous montrent qu'au 3ème jour de l'expérimentation, la croissance du mycelium est nulle chez les traités et de 0,3 cm chez les témoins. Il est à remarquer qu'au 4ème et 5ème jour du test, l'huile essentielle de cette partie basse n'a pas eu d'effet sur le champignon. Ce n'est qu'à partir du 9ème jour où la croissance radiale du mycelium des témoins a dépassé celle des traités.

III.1.4.1. 3. Méthode par dilution de mélange (pour les deux prélèvements, médiane et basse)

Les résultats de ces paramètres figurent dans les tableaux 08 et 09 et figures 20 et 21

A) Partie médiane

Tableau 08 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (mélange)(partie médiane).

	Témoins	sd	Traités	sd
6ème jour	4,5	0	2,1	0,44
7ème jours	4,5	0	2,1	0,38
8ème jour	4,5	0	2,77	0,30
10ème jour	4,5	0	3	0,4

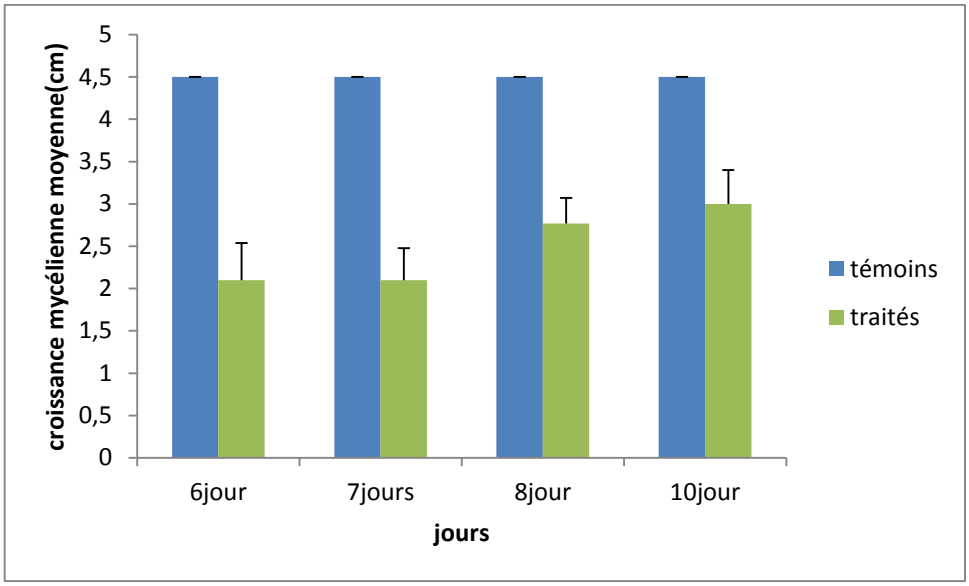

Figure 20 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (dilution de mélange)(partie médiane).

Pour cette méthode, et en raison des fêtes de l'aid el Fitre, les mesures n'ont commencé qu'à partir du 6ème jour du traitement. Les résultats de cette partie, nous montrent que la croissance du mycelium chez les témoins a atteint son maximum au 6ème jour. Pour les traités la croissance a été progressive mais lente comparativement aux témoins. Il semble que l'huile a retardé sensiblement la croissance du champignon **.**

B) Partie basse

Tableau 09 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (mm) du *Fusarium solani* (méthode de mélange)(partie basse).

	Témoins	sd	Traités	sd
6jour	4,5	0	1,83	0,15
7jour	4,5	0	2,27	0,25
8jour	4,5	0	2,5	0,3
9jour	4,5	0	2,7	0,34

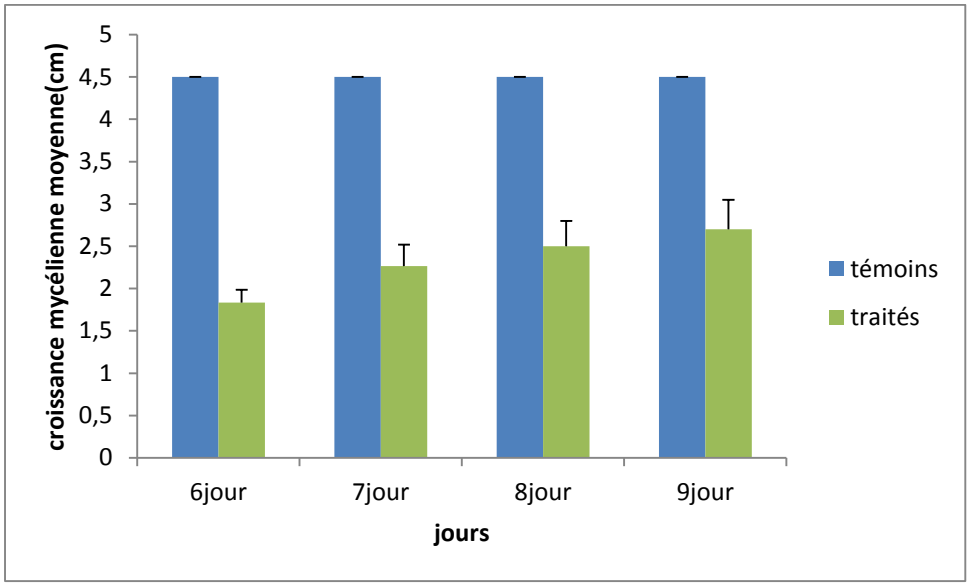

Figure 21 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la croissance mycélienne moyenne (cm) du *Fusarium solani* (méthode de mélange)(partie basse).

Les résultats de ce paramètre indiquent que le développement du champignon est plus important dans les boites des témoins par rapport aux traités. De même pour ce dernier, la croissance a été maximale dés le 6ème jour. Elle est nettement supérieure à celle des traitées.

Au vu de tous ces résultats relatifs à l'effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance du mycelium du *Fusarium solani*, nous pouvons conclure que pour toutes les méthodes appliquées, le bioproduit n'a pas eu un effet complètement dépressif sur le champignon . Néanmoins l'huile essentielle extraite à partir des aiguille de la partie basse semble légèrement efficace comparativement à celle de la partie médiane.

III.1.5- Effets des deux huiles essentielles du sapin de Numidie (*Abies numidica*) sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne du *Fusarium solani* pour les 03 méthodes et pour les 02 prélèvements (partie médiane et basse) (cm/jour)

III.1.5.1-Méthode de diffusion par puits (partie médiane et partie basse)

Les résultats de ce paramètre sont illustrés dans le tableau 10 et 11 et les figures 22 et 23

A) **Partie médiane**

Tableau 10: Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion par puits) partie médiane

	Témoins	sd	Traités	sd
Vitesse moyenne croissance mycélienne (cm/jour)	0.018	0.002	0.021	0.001

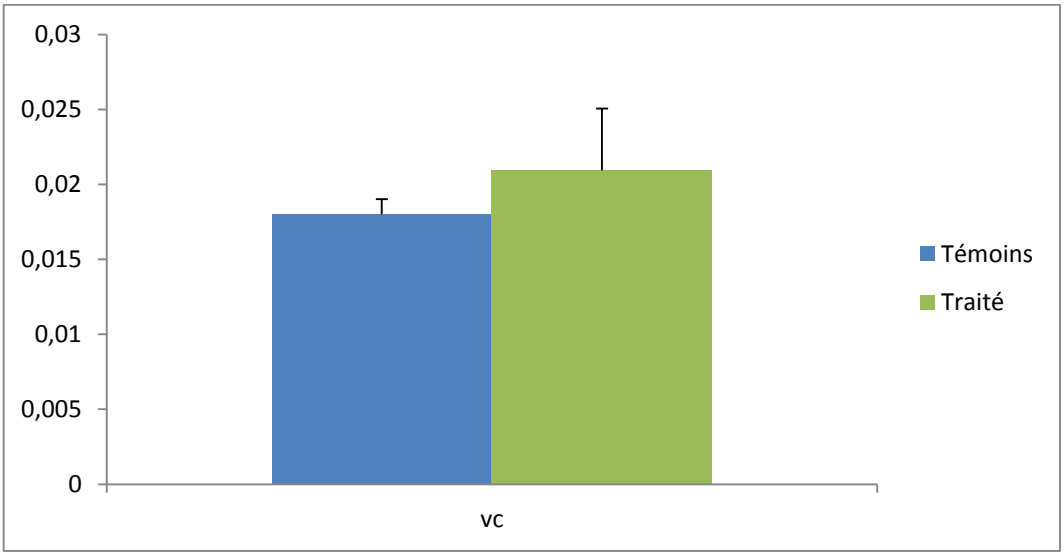

Figure 22 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour (diffusion par puits) partie médiane

Les résultats de ce paramètre nous montrent que la vitesse de croissance du champignon est très lente pour les deux traitements. Toutefois elle est légèrement plus grande chez les traités de 0.018 cm/jours chez les témoins

B) **Partie basse**:

Tableau 11 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie basse)

	Témoins	sd	Traité	sd
Vitesse moyenne croissance mycélienne (cm/jour)	0.027	0	0.023	0.004

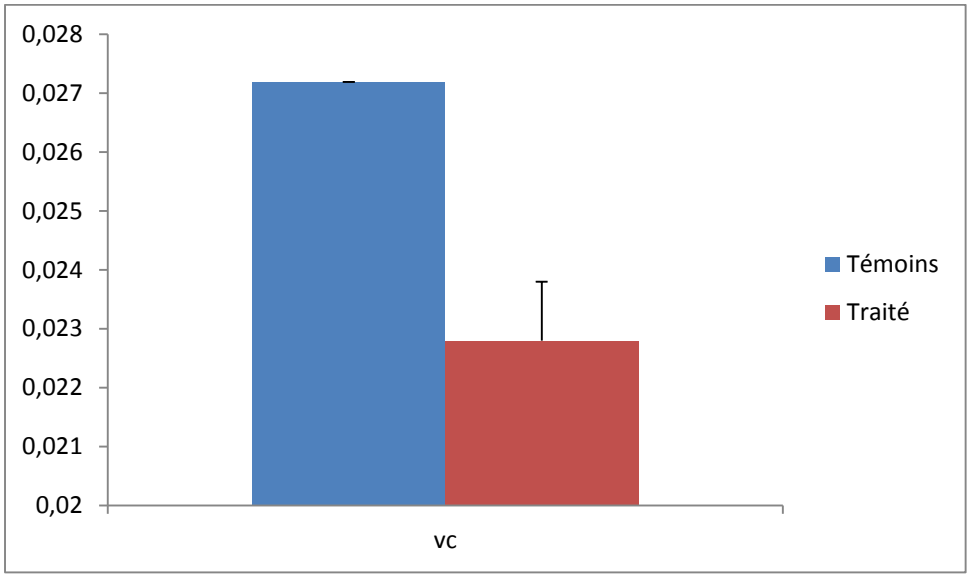

Figure 23 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion par puits) partie basse

Les résultats de ce paramètre nous montrent que la vitesse de croissance du champignon est plus importante chez les témoins que chez les traités. Elle est de 0,027cm/jours contre 0,023cm/jours chez les traités. Ces résultats confirment ceux de la croissance radiale du mycelium pour cette partie de la plante. La limitation de la vitesse de croissance s'est impliquée sur la croissance du champignon.

III.1.5.2- Méthode de confrontation à distance (médiane et basse)

Les résultats de ce paramètre figurent dans les tableaux 12 et 13 et les figures 24 et 25

A) Partie médiane

Tableau 12: Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie médiane

	Témoins	sd	Traités	sd
Vitesse moyenne croissance (cm/jour)	0.022	0.002	0.021	0.001

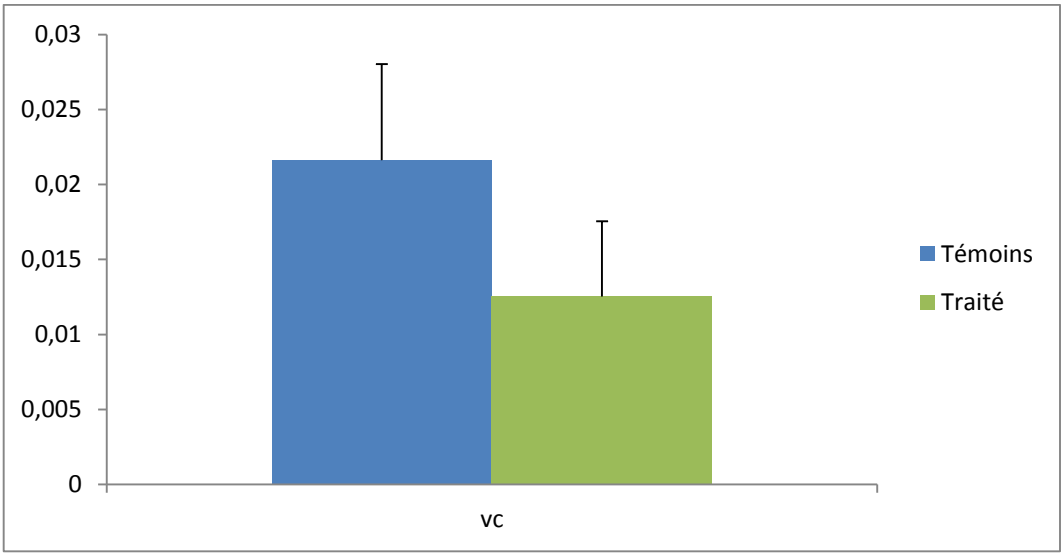

Figure 24 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie médiane

Les résultats de ce paramètre montrent que la vitesse de croissance est presque identique chez les deux traitements. Elle est un peu plus élevée chez les traités que celle des témoins. Ceci explique relativement leur croissance supérieure au 9ème jour d'incubation.

B) Partie basse

Tableau 13 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (diffusion à distance) partie basse

	Témoins	sd	Traité	sd
Vitesse moyenne croissance (cm/jour)	0.024	0.003	0.23	0.002

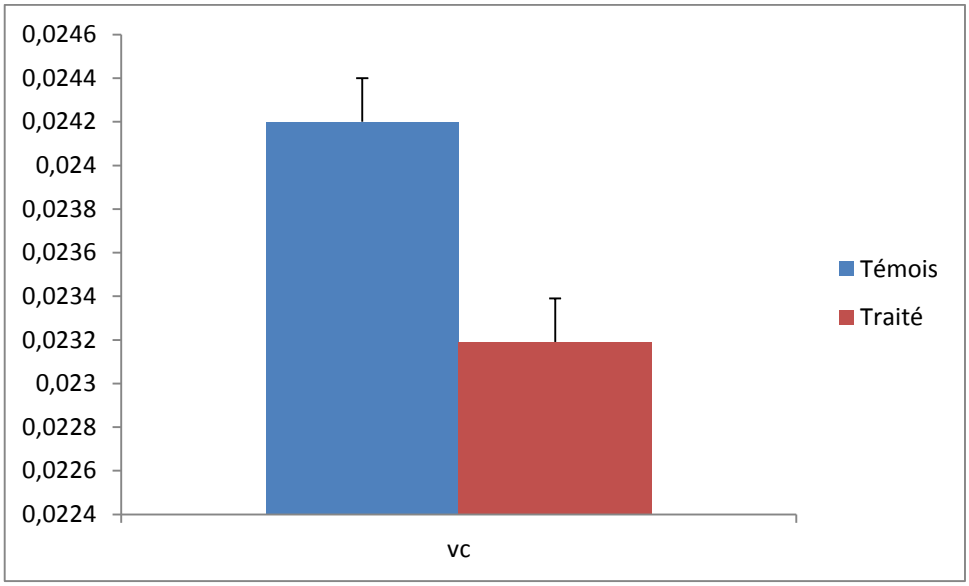

Figure25 : Effet de l'huile essentielle de sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour (diffusion à distance) partie basse

Il en est de même pour ce paramètre, les résultats que la vitesse du témoin est légèrement supérieure à celle des traités. Elle est de 0,024cm/jour pour le témoin et de 0,023cm/jour pour les traités.

II.1.5.3- Méthode de dilution par mélange (partie médiane et basse)

Les résultats de cette méthode sont représentés par les tableaux 14 et 15 et les figures 26 et 27

A) Partie médiane

Tableau 14: Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours

	Témoins	sd	Traités	sd
Vitesse moyenne croissance (cm/jour)	0.031	0.002	0.018	0.004

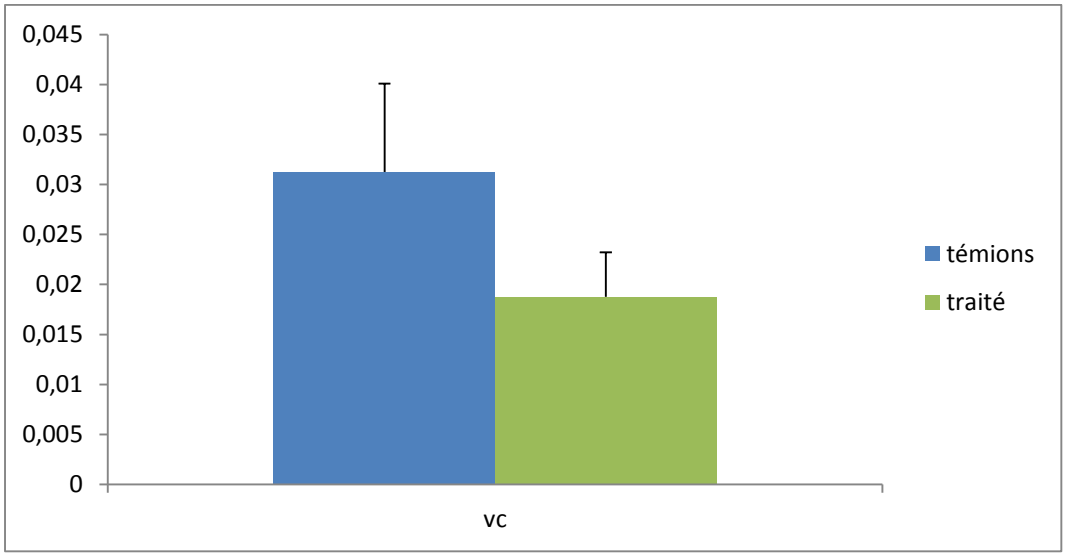

Figure 26: Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie médiane)

D'après les résultats de ce paramètre, la vitesse de croissance du mycelium des témoins est nettement supérieure à celle des traités. Il en ressort que le bioproduit a affecté négativement le champignon par conséquent sa vitesse de croissance a été ralentie.

B) Partie basse

Tableau 15 : Effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jour partie basse

	Témoins	sd	Traités	sd
Vitesse moyenne croissance (cm/jour)	0.031	0.021	0.017	0.011

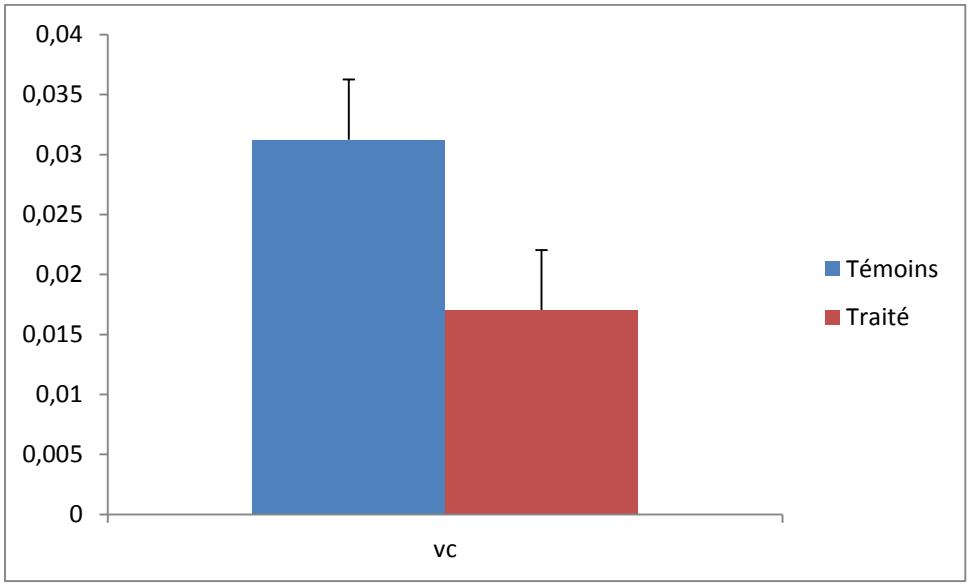

Figure27 : Effet de l'huile essentielle de sapin de numidie sur la vitesse moyenne de croissance mycélienne cm/jours (partie basse)

Il est à signaler que pour ce paramètre, les résultats que la vitesse du témoin est plus importante chez les traités, Elle est de 0,03cm/jours contre 0,02cm/jours chez les traités.

III.1.6-Effet de l'huile essentielle sur le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium pour les deux huiles et pour les trois méthodes (%)

Les résultats de ce paramètre sont consignés dans les tableaux16 et 17 et les figures 28 et 29

III.1.6.1-Méthode de diffusion par puits

A) Partie médiane

Tableau16 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie médiane) %

	jour 3	jour 4	jour 5	jour 9
Inhibition de la croissance mycélienne (%)	33	16	21	3

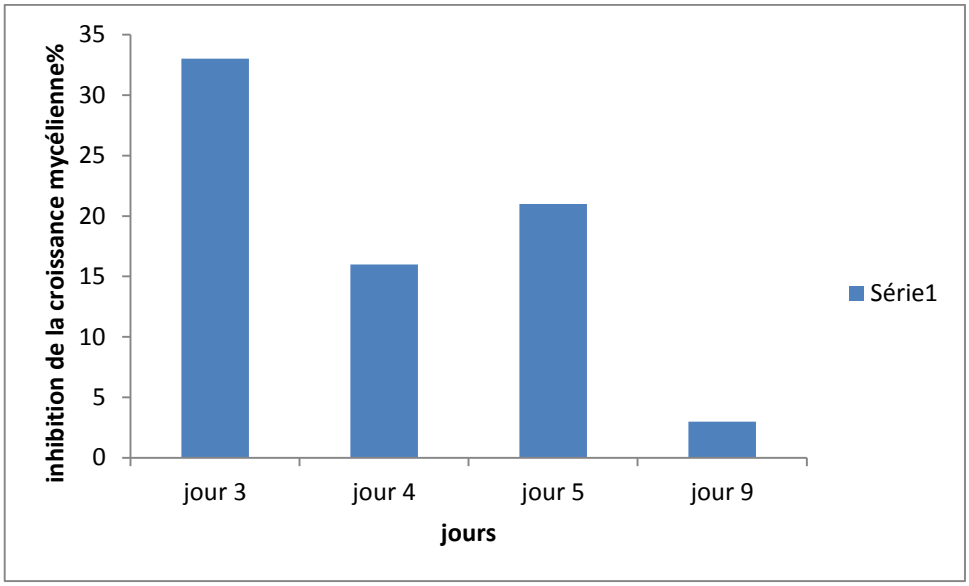

Figure28 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par puits, partie médiane)%

Pour ce paramètre nous remarquons que l'huile essentielle du sapin de Numidie présente un effet inhibiteur de 33% durant les trois (03) premiers jours du traitement et de 16% le quatrième (04ème) jour puis remonte à 21% le 5ème jour puis redescend à 3% durant la période restante du traitement (9ème jour et plus..).

A travers ces résultats nous remarquons que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de la partie médiane est très faible durant toute la période de l'expérimentation. Ces résultats expliquent ceux de la croissance où le mycelium des traités a légèrement dépassé celui des témoins. Ceci nous permet de conclure que le champignon est non sensible à cette huile essentielle.

B) Partie basse

Tableau17 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse) %

	3ème jour	4ème jour	5ème jour	9ème jour
Inhibition de la croissance mycélienne (%)	30	38	27	3,2

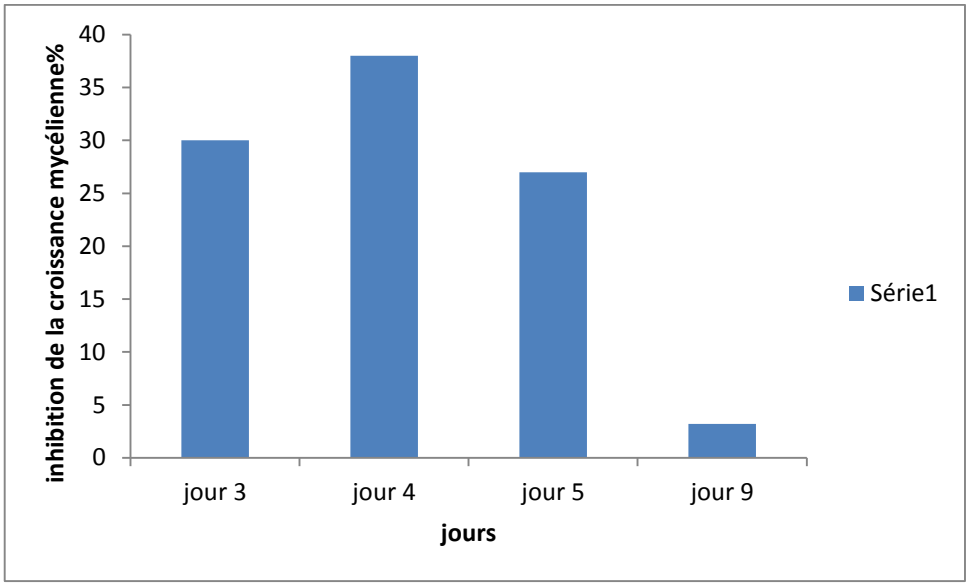

Figure29 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse)%

Pour ce paramètre nous remarquons que l'huile essentielle du sapin de Numidie issue de la partie médiane, présente un effet inhibiteur de 33% durant le 4ème jour du traitement , de 38% au 4ème jour, puis de 27% à 3.2% consécutivement le 5ème et le 9ème jour. Ces résultats confirment eux aussi ceux de la croissance et la vitesse de croissance. Il est à remarquer que le bioproduit a inhibé la croissance du champignon pendant les premiers jours puis son efficacité a diminué avec le temps.

III.1.6.2-Méthode de confrontation par diffusion à distance

Les résultats de ce paramètre sont consignés dans les tableaux18 et 19 et les figures 30 et 31

A) Partie médiane

Tableau18 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie médiane)

	jour 3	jour 4	jour 5	jour 9
Inhibition de la croissance mycélienne (%)	90	88	77	28

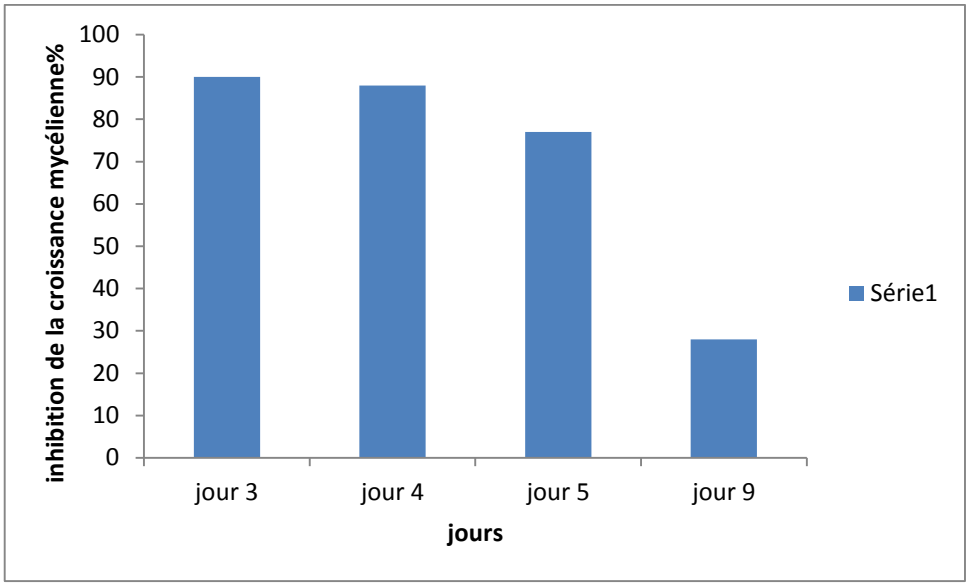

Figure30 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie médiane)%

Pour cette méthode, les résultats montrent, que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle du sapin de Numidie, diminue en fonction du temps. Jusqu'au 4ème jour d'incubation, cet effet se situe entre 90% et 88% puis diminue à partir du 5ème jour à 77% pour redescendre fortement à 28% au 9ème jour. Cette méthode de diffusion s'est avérée plus efficace que la précédente. Les résultats présents expliquent relativement ceux de la croissance du mycelium .

B) Partie basse

Tableau19 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion à distance, partie basse

	3ème jour	4ème jour	5ème jour	9ème jour
Inhibition de la croissance mycélienne (%)	100	0	0	0

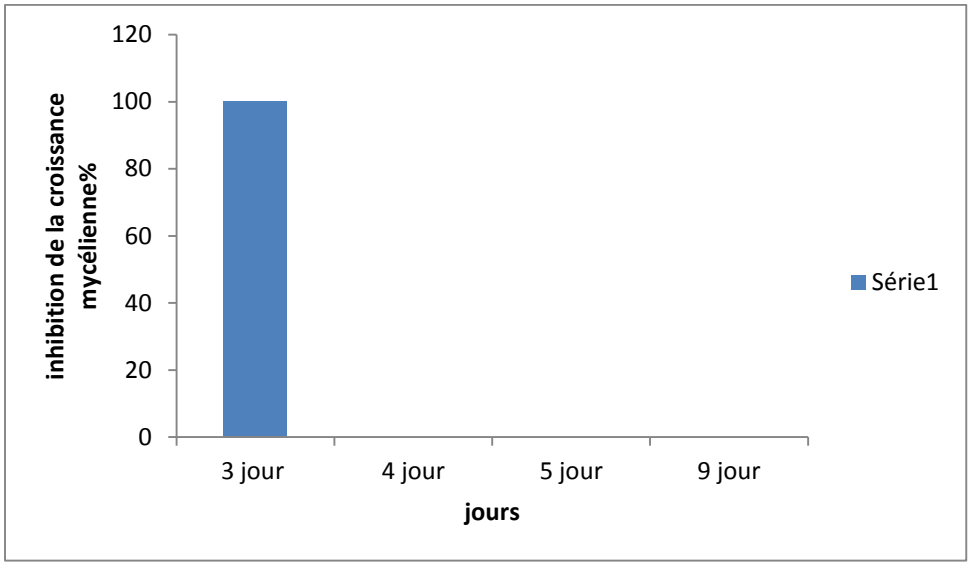

Figure31 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par puits, partie basse)%

Les résultats relatifs à l'huile essentielle extraite à partir de cette partie de l'arbre, présentent un effet inhibiteur de 100% dés le 3ème jour du traitement . Il semble que cette dernière ait un effet très efficace sur le champignon.

III.1.6.3-Méthode de dilution du mélange

Les résultats de cette méthode sont présentés dans les tableaux 20 et 21 et les figures 32 et 33

A) Partie médiane

Tableau20 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie médiane)%

	6ème jour	7ème jour	8 ème jour	10ème jour
Inhibition de la croissance mycélienne (%)	53	46	40	35

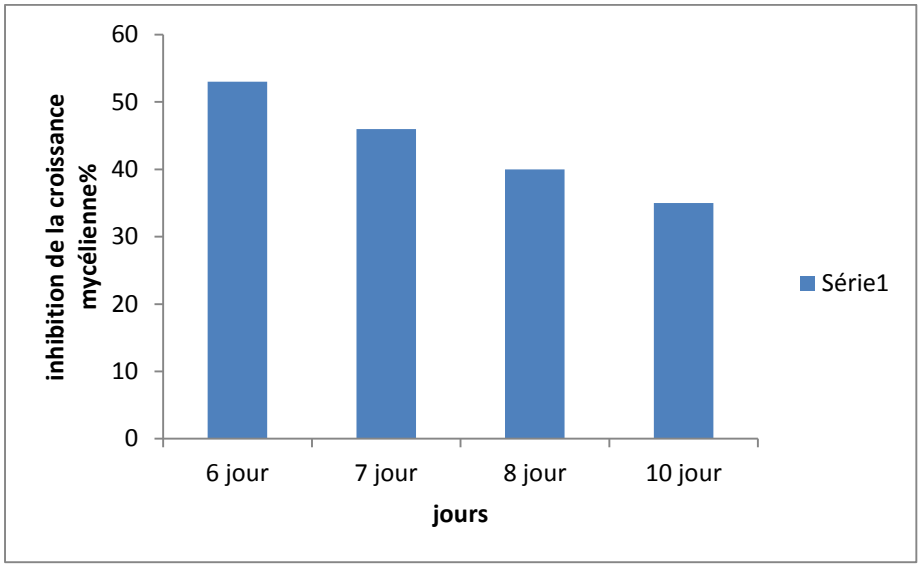

Figure32 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie médiane)

Concernant cette méthode, nous constatons que l'effet inhibiteur est décroissant avec le temps d'incubation. Il régresse continuellement au fur et à mesure. Au 6ème jour d'incubation ce dernier est de 53% puis redescend jusqu'à 40% au 10ème jour. Ces résultats expliquent également la non sensibilité du champignon envers cette huile.

B) Partie basse

Tableau21 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du Fusarium (diffusion par mélange, partie basse)%

	6ème jour	7ème jour	8ème jour	10ème jour
Inhibition de la ceoissance mysélienne (%)	60	51	44	40

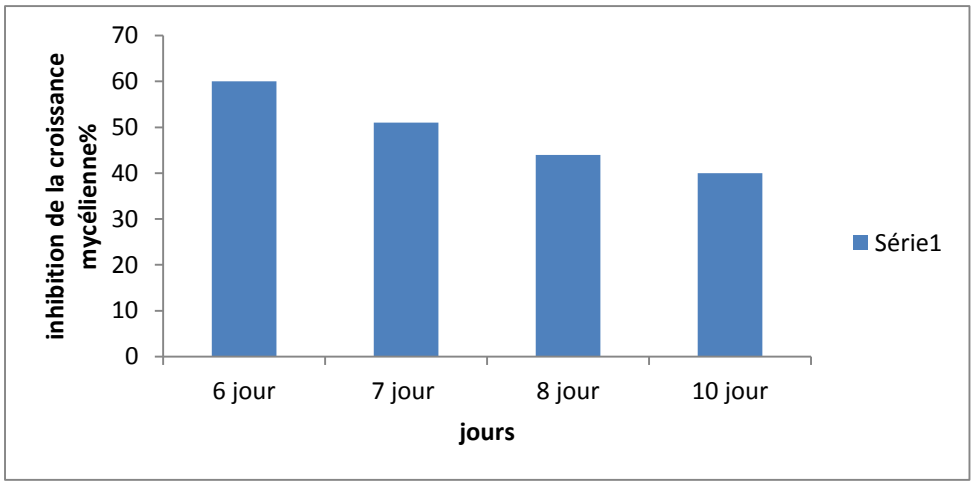

Figure33 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du fusarium (diffusion par mélange, partie basse)

Il en est de même pour ce paramètre, l'effet inhibiteur diminue avec le temps d'incubation. Pour ce prélèvement, le taux d'inhibition est plus important que le précedent, il est de 60% au 6ème jour d'incubation puis diminue sensiblement durant les jours qui suivent pour atteindre les 40% au 10ème jour du traitement. Néanmoins, les résultats montrent que l'effet inhibiteur de l'huile essentielle extraite de la partie basse de l'arbre s'est montré plus efficace. Ces derniers confirment les résultats de la croissance mycélienne pour toutes les méthodes précédentes.

Il est à signaler que notre travail est original. Hormis les travaux de Messaoudi (2012 et Ait-Kaki 2013) sur la même thématique , nous n'avons pu trouver de travaux similaires pour une éventuelle discussion et comparaisons. Néanmoins nous allons essayer de discuter nos résultats en nous référant à d'autres résultats de chercheurs dans le domaine de la lutte biologique des cultures à partir de biomolécules extraites de plantes médicinales ou autres.

Les résultats de ce travail préliminaire nous ont permis de mettre en évidence l'activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des aiguilles du sapin de Numidie (Abies numidica) dans deux (02) parties différentes de l'arbre , à savoir, la partie médiane et la partie basse sur une moisissure de la pomme de terre *: Fusarium solani.*

1) En comparant les rendements moyens des deux huiles essentielles provenant de deux zones de l'arbre à savoir la partie médiane et la partie basse, on peut constater que le rendement des feuilles de la partie basse du conifère (0.2) est supérieur à celui de la partie médiane (0.12%). Ces résultats se rapprochent de ceux de Messaoudi (2012) (0.26%) mais très faible à ceux d'Ait Kaki (2013) qui était de 0 .37%. Selon les mêmes auteurs, ce rendement reste faible par rapport à la littérature. Néanmoins ces derniers sont supérieurs à ceux de Bédiaf et Zouini (2021). On peut expliquer cette différence par les conditions bioclimatiques caractéristiques de la région de Séraidi (Annaba) ainsi que la période de récolte d'une part, d'autre part par aux conditions d'extraction au niveau du laboratoire. La différence entre les rendements des deux parties de l'arbre peut être expliquée également par le côté d'exposition des feuilles vers les conditions du milieu. Nos résultats restent en deçà de plusieurs travaux similaires sur d'autres conifères. En travaillant sur le cèdre (conifère) Meghazi (2015), rapporte que l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation des feuilles du cèdre récolté à Chreaa (Blida) est de 1.62%, et se rapproche de ceux énoncés par Boudaren et al. (2004), qui notent que les feuilles du cèdre récoltées à Tala Guilef dans la région de Dujrdjura, donnent un rendement de 1.7% alors que dans la région des Aurès, 1.2%. En outre, Derwish et al. (2010), rapportent que les feuilles de Cedrus atlantica récoltées dans la région de Boulman au Maroc, enregistrent un rendement moyen de 1.82%. En revanche, ce rendement est faible par rapport à celui des huiles essentielles extraites des graines de la même plante au Maroc et qui, selon Ghafouri *et al.* ,2014 in Meghazi, 2015).) atteint 3.6% .

2) Concernant l'effet de l'huile essentielle du sapin de Numidie sur la croissance radiale du champignon , nous remarquons que pour la première méthode (diffusion par puits), les résultats ne présente pas un grand effet antifongique sur le Fusarium et ce, quelque soit l'endroit de prélèvement des feuilles. La croissance du champignon augment avec le temps d'incubation. On peut conclure que pour cette méthode , cette huile présente une faible activité antifongique. Ceci confirme les travaux de Meghazi (2015) sur le cèdre

Pour la seconde méthode (diffusion à distance), L'examen des résultats de cette méthode nous montrent que l'huile issue de la partie médiane s'est montrée plus ou moins efficace pendant les premiers jours de l'incubation. Alors qu'avec celle issue du bas , l'effet a été spectaculaire au 3ème jour de l'incubation. En effet, la croissance du mycelium était nulle chez les traités puis elle a perdu de son efficacité à partir du 4ème et 5ème jour pour reprendre au 9ème jour où la croissance radiale du mycelium des témoins a dépassé celle des traités.

Quant à la 3ème méthode de traitement et qui consistait à mélanger l'huile essentielle du sapin de Numidie avec le milieu de culture Sabouraud, la croissance radiale du mycelium dans les boites traités a été progressive mais lente comparativement aux témoins qui ont atteind la valeur maximale dés le 6ème jour de l'incubation. Il semble que pour cette méthode , l'huile a retardé sensiblement la croissance du champignon **.**

A ce stade, et vu le comportement différent du champignon sous l'effet des deux huiles, nous ne pouvons affirmer l'efficacité à 100% de cette dernière. Néanmoins et au vu des résultats obtenus , on peut conclure que la 3ème méthode reste la plus appropriée.

3) Pour ce qui est du pourcentage d'inhibition, l'examen des résultats nous montre que pour les trois méthodes et pour les deux prélèvements, ce dernier décroit avec le temps d'incubation. Ceci traduit que l'efficacité de cette huile diminue avec le temps.

Les travaux de Meghazi (2015) montrent que l'huile essentielle du *Cedrus atlantica* n'a montré aucun effet inhibiteur sur les moisissures testées. Selon (Djeddi et al. 2007), Les espèces dont les diamètres d'inhibition sont inférieurs ou égales à 9 mm, comme dans notre cas, ne sont pas pris en considération et l'espèce est qualifiée comme étant non sensible ou résistante à l'huile essentielle (Djeddi et al. 2007).

Les fongicides chimiques ont certes permis l'amélioration des rendements en agriculture et la protection des denrées stockées. Cependant leur utilisation abusive a engendré à long terme l'apparition de phénomène de résistance, en plus de la pollution de l'environnement. De ce fait, la recherche continue de nouveaux produits antifongiques reste donc une nécessité à laquelle il faut répondre et la stratégie de développer de nouvelles molécules à partir de substances végétales peut ainsi être intéressante (Amri *et al.,* 2013 in Meghazi, 2015).

Au terme de cette étude, on remarque que l'isolement des moisissures à partir de la culture de la pomme de terre sur le milieu de culture Sabouraud nous a permis d'isoler et d'identifier la souche phytopathogène : Le *Fusarium solani* sur lequel nous avons testé l'application d'une huile essentielle extraite des aiguilles du sapin de Numidie comme biofongicide dans le cadre d'une lutte biologique.

Les résultats des différents prélèvement et pour toutes les méthodes ont montré que le champignon s'est montré légèrement sensible durant les premiers jours du traitement. Sa croissance radiale à repris avec le temps d'incubation. Le pourcentage d'inhibition de ce dernier diminue avec le temps d'incubation. Ceci traduit que l'efficacité de cette huile diminue avec le temps. On peut conclure qu'à travers tous ces résultats , le champignon s'est montré non sensible à cette biomolécule.

En perspective, et afin d'élucider certains points qui sont restés partiels, il serait intéressant : De mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle du sapin de numidie afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés responsables de cette activité antifongique. D'étudier le mode d'action des huiles essentielles pour maximiser leur exploitation et leur utilisation comme fumigants dans la protection des denrées stockées.

Référence bibliographique :

A

Afnor, 2000. Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed.Afnor, paris.

Akhtar S., Degaga B. and Azam T. 2016. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: a review. **Biological Sciences and Pharmaceutical Research**. (2)1:1–7.

Aleksic V. and Knezevic P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis L.* **Microbiological Research**. (169)4:240-254.

Almeida M.M.B., Sousa P.H.M., Arriaga A.M.C., et al. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh fruits from Northeastern Brazil. **Food Research International**. 44:2155-2159.

Arnal-Schnebelen B., Hadji-Minaglou F., Peroteau J.F., Ribeyre F., De Billerbeck V.G. 2004. Essential oils in infectious gynaecological disease: a statistical study of 658 cases. **International Journal of Aromatherapy**.14(4):192–197.

Anton R., Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, lavoisier, 522. P. (technique et Documentation)

B

Banks E. (Ed) (2004). Fusarium Wilt, Fusarium Stem End Rot (*Fusarium* spp.). Dans *Potato Field Guide - Insects, Diseases and Defects*. Publication 823. Ministry of Agriculture and Food, Ontario. p. 61-63.

Barbey A., 1934 : Une relique de la sapinière méditerranéenne : Les monts Babors. Librairie Agricole de la maison rustique. Paris. (1-11).

Basu S. 2010. Fatty acid oxidation and isoprostanes: Oxidative strain and oxidative stress. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.** 82:219-225.

Beatovic D., Krstic-Miloˇsevic D., Trifunovic S., et al., 2015. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. **Records of Natural Products**. 9(1):62–75.

Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M., Gaset A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie.

Bennadja, S. and Tlili Ait Kaki, Y. 2013: The Fir of Numidia: a Threatened Species. – Kastamonu. Univ., J. Forest. Fac., Special Issue**:** 283-286.

Besombes C. 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle. 41-45.

Bouguerra, A., 2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires Option : biotechnologies alimentaire. Université Mentouri Constantine Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires (I.N.A.T.A.A.) : 129 p.

Brachet A., Christen P. and Veuthey J.L. 2002. Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves. **Phytochemical Analysis**. 13:162-169.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosy, phytochimie, plantes médicinale. Paris, lavoisier, 623p. (Technique et documentation)

Bruneton J., 1999. Pharmacognosy, phytochimie, plantes médicinale. Paris, lavoisier, 585p. (Technique et documentation)

C

Callen G., 1976 : Les conifères cultivés en Europe. Ed.J.B. Bailliere. 55P.

Capuzzo A., Maffei M.E., Occhipinti A. 2013. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. **Molecules**.18:7194-7238.

Carocho M., and Ferreira I. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**. 51:15-25.

Conner D.E ., 1993. Naturally occurring compound : Antinicrobials in foods. New York, Davidson In. P.& Branen A.L., 468p.

D

Duschatzky C.B., Possetto M.L., alaricoet L.B.T., et al. 2005.Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils fromSouth American plants. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**.16(4):247-251.

E

El Kalamouni C. 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.

Elshafie H.S., Mancini E., Sakr S., et al. 2015. Antifungal Activity of Some Constituents of *Origanum vulgare* L. Essential Oil against Postharvest Disease of Peach Fruit. **Journal of Medicinal Food**.18(8):929-934.

F

Fabrocini V.C. 2007. Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. de vecchi.4-17.

Fadel H., Marx F., El-Sawy A., El-Gorab A. 1999. Effect of extraction techniques on the chemical composition and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* var. *brevirostris* leaf oils. 208:212-216.

Flous, 1936 : La classification naturelle des Pinacées.

G

Garneau F-X., 2005. Le materiel vegetal et les huiles essentielles. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. Manuel pratique : Ed .corporation la seve. Universite de chicoutimi, Québec.

Gaussen H., 1964 : Les gymnospermes actuelles et fossiles. Trav. Lab. For. Univ. Toulouse, (7), (321-480).

Golmakani M.T. and Rezaei K. 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. **Food Chemistry**.109:925-930.

H

HACHI-ILLOUL, M., 2016. Variabilité morpho-anatomique, diversité génétique, potentiel de régénération et efficacité de la production grainière du sapin de Numidie (Abies numidica De Lannoy) en plantation (cas de Serraïdi (Annaba)) : THESE DE DOCTORAT en Sciences Agronomiques Option : Foresterie. Université Mouloud Maameri. Tizi-Ouzou. 163 p.

Hellali N., Mahammed M.H., Ramdane F., Talli A. 2016. Antimicrobial and antioxidant activities of *Cybopogon schoenanthus* (L.) spreng essential oil, growing in Illizi – Algeria. **Journal of medicinal plant research.**10:188-194.

J

Joulain D.1994. Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture : use and abuse. **Perfumer & Flavorist.** 19:5-17.

K

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

Keita R.M. 2002. Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des I.S.T. Thèse de pharmacie, Bamako.130.

Kolai L., 1986 : La sapinière d'*Abies numidica* dans les monts Babors. Ann.Rech.For, INRF Bainem (Algérie) : 85-97.

Kumar S. and Pandey A.K. 2013. Chemistry and biological activities of Flavonoids: An overview. **The Scientific World Journal**.1-16.

L

Lang G. and Buchbauer G. 2012. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. Areview. **Flavour and Fragrance Journal**.27(1):13–39.

Latifah-Munirah B., Himratul-Aznita W.H., Mohd Zain N. 2015. Eugenol, an essential oil of clove, causes disruption to the cell wall of *Candida albicans* (ATCC 14053). **Frontiers in Life Science**.8(3):231-240.

Leon R. H. O. 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.

Lewis K., Ausubel F.M. 2006. Prospects for plant derived antibacterials. **National Biotechnology**. 24:1504-1507.

Liu T.S., 1979 : A monograph of the genus *Abies*. Dep. of For. Colleg of National Taiwan Univ.508P.

Lucchesi M.E. 2006. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat. 16-59.

M

Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S. 2007. Microwave-assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews.** 1(1):7-18.

Moro - Buronzo A. 2008. Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, Hachette pratique. 14.

Mulyaningsih S., Sporer F., Zimmermann S., Reichling J., Wink M. 2010. Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. **Phytomedicine**.17(13):1061-1066.

N

Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R., De Feo V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals, vol. 6, no. 12, p 1451–1474.

O

Odule M., 2003. Les huiles essentielles. La lettre de l'institut français de shiatsu, n.2, p.p.1-12.

P

Papajani V., Haloci E., Goci E.,S hkreli R., Manfredini S. 2015. Evaluation of antifungal activity of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* essential oil before and after inclusion in β-cyclodextrine. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 7(5):270-273.

Parde L., 1937 : Les conifères. La maison Rustique (64-93)

Parducci L., Szmidt A.E., Madaghiele A., Anzidei M., and Vendramin A., 2001 : Genetic variation at chloroplast microsatellites (cpSSRs) in *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei and three neighboring *Abies* species. Theor Appl Genet (2001) 102 : 733-740.

Peralta M.A., Silva Da., Ortega M.G., Cabrera J.L., Paraje M.G. 2015.Antifungal activity of a prenylated flavonoid from Dalea elegans against *Candida albicans* biofilms. Phytomedicine. 22(11):975-980.

Pourmortazavi S.M. and Hajimirsadeghi S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal of Chromatography A**. 1163:2-24.

Pramila R, Padmavathy K, Ramesh KV, Mahalakshmi K. 2012. *Brevibacillus parabrevis*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas citronellolis*-Potential candidates for biodegradation of low density polyethylene (LDPE). **African Journal of. Bacteriology Research. Abbreviation**. 4(1):9-14.

Q

Quezel P. ,1998 : Diversité et répartition des sapins sur le pourtour méditerranéen. Forêt méditerranéenne 19 (2) : 93-104.

R

Raut J. S. and Karuppayil S. M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**. 62:250-264.

Richard C. & Boivin G. (1994). Fusariose vasculaire de la pomme de terre. Dans *Maladies et Ravageurs des Cultures Légumières au Canada*. La Société Canadienne de Phytopathologie et la Société d'Entomologie du Canada, Canada. p. 256. (http://phytopath.ca/wp-content/uploads/2014/10/MRCLC/ch16-pomme-de-terre.pdf)

Rožman T. and Jeršek B. 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria.* **Acta agriculturae Slovenica**. 93:51-58.

Rozzi N.L., Phippen W., Simon J.E., Singh R.K. 2002. Supercritical fluid extraction of essential oil components from lemon-scented botanicals. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**.35:319-324.

Ruberto G., Baratta M.T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**. 69:167-174.

Rudramurthy G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. 2016. Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. **Molecules**.21:7-8.

S

Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. 2005. Comparative evaluation of essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**. 91:621-632.

Sherwin E.R. 1976. Antioxidants for vegetable oils. **Journal of American Oil Chemical Society**. 53:430-436.

Salzer U.J. 1977. The analysis of essential oils and extracts (*Oleoresins*) from seasonings a critical review. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 9:345-373.

Sánchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F. 1998. A procedure to measure the antioradical afficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.76:270-276.

Stevenson W. R., Loria R., Franc G. D. & Weingartner D. P. (Eds) (2001). Fusarium Dry Rot and Fusarium Wilt. Dans *Compendium of Potato Diseases*. 2e éd. APS Press. The American Phytopathological Society Press, St-Paul, Minnesota. p. 23-25.

Suwalak S. and Voravuthikunchai S.P. 2009. Morphological and ultrastructural changes in the cell structure of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 following treatment with Quercus infectoria nut galls. **Journal of Electron Microscopy**. 58: 315-320.

T

Teixeira B., Marques A., Ramos C. 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**. 43: 587-595.

Tlili-Ait Kaki Y., S. Bennadja et Chefrour A., 2013 : Revalorisation d'une essence endémique : le sapin de Numidie (*Abies numidica*).Fl. Medit. 23 : 123-129.

V

Vermeriss W., Nicholson R. 2006. Phenolic Compound Biochemistry. Springer, New York, NY, p 273–274.

Viaud H. 1993. Les huiles essentielles et leur distillation. Thérapeutique naturelle.924.

Y

Yoon H.S., Moon S.C., Kim N.D., Park B.S., Jeong M.H., and Yoo Y.H. 2000. Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. Biochemical and Biophysical Research Communications. 276(1):151-156.

Z

Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. 2004. Chemical composition and fungicidal activity of comercial oils of *thymus vulgaris* L. **Journal Essential Oil Research**. 16(1):69-74.

http://plantdepommedeterre.org/index/fusariose
http://ipm.ucanr.edu/PMG/r607102311.html
http://www2.gnb.ca/content/gnb/en/departments/10/agriculture/content/crops/potatoes/diseases/fusarium_wilt.html
http://ipm.uconn.edu/documents/raw2/Vascular%20Wilts%20of%20Potato/Vascular%20Wilts%20of%20Potato.php?aid=49
http:// www.researchgate.net

Annexe :

Figure 34 : techniques de préparation de milieu sabouraud

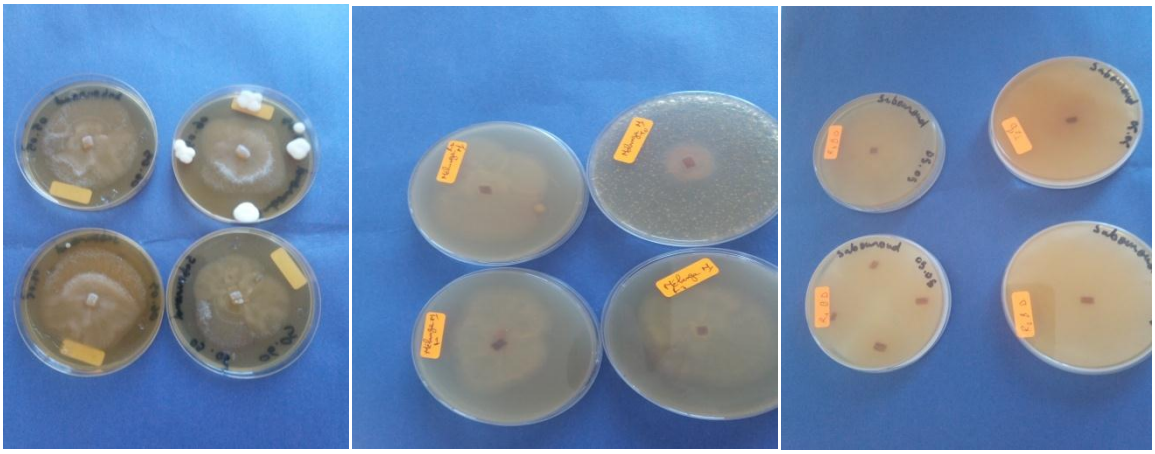

Figure35 : résultats des trois méthode (a,b,c) par les deux partie (médiane et basse)