République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb -Blida 1



Facultés des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie et Agro-Écologie

Mémoire de Fin d'Études

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master dans le Domaine SNV

Filière: Agronomie

Option : Phytopharmacie et Protection des Végétaux

Thème:

Évaluation du potentiel biocide de l'huile essentielle du cyprès de l'Arizona (*Cupressus arizonica* Greene.)

Présenté par : BOUKADER Abderrahmane

Devant le jury:

Nom Grade/Lieu Qualité

Dr KHEDDAR R. MCB/USDB1 Président

Dr CHAICHI W. MCA/USDB1 Examinatrice

Dr AMARA N MCA/USDB1 Promotrice

Année universitaire: 2024/2025

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu Tout-Puissant, source de toute force et sagesse, pour m'avoir permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Dr AMARA N, promotrice de ce mémoire, pour son accompagnement attentif, ses conseils précieux et son encadrement rigoureux durant toutes les étapes de ce travail.

Je remercie chaleureusement Madame OUSSAID, et je remercie monsieur CHIKHI, Madame CHAICHI, Madame ABRI, Monsieur Youssef, Monsieur MOUHOUB et Madame KHEDDAR pour leur rôle essentiel dans l'orientation, l'aide précieuse, les encouragements et le soutien qu'ils m'ont généreusement apportés. Leur disponibilité et leurs conseils ont grandement contribué à la progression de ce travail.

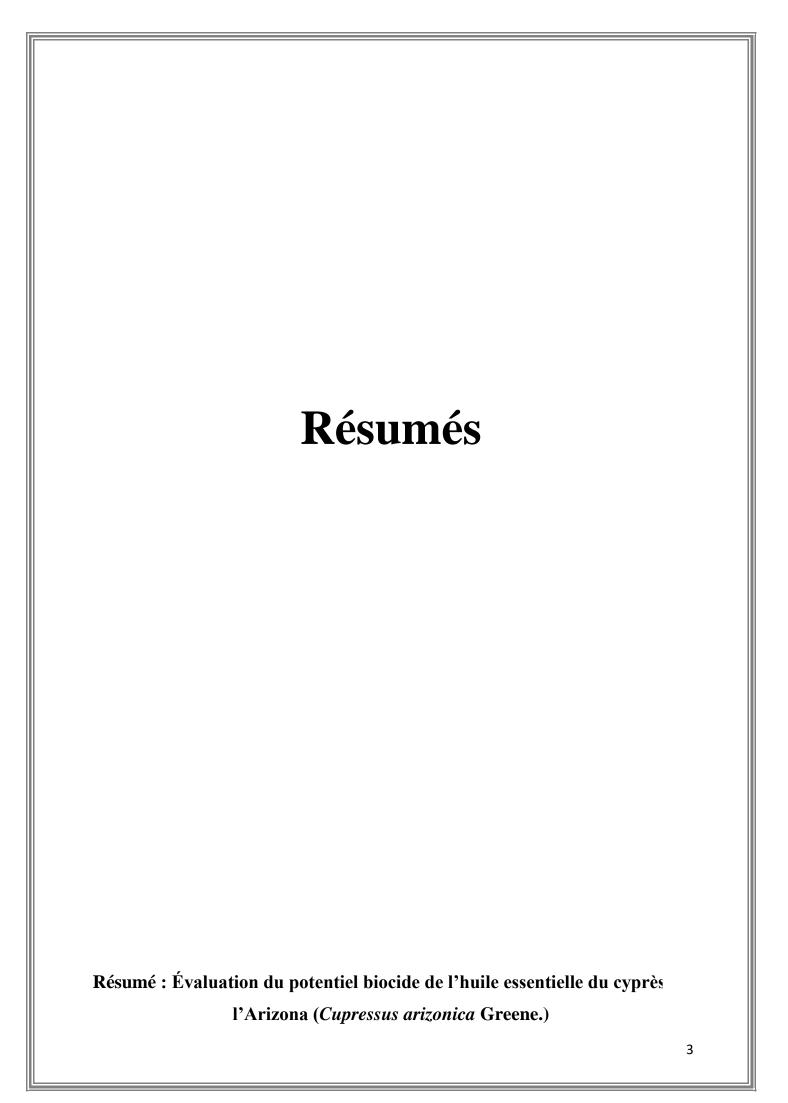
Je tiens également à remercier mes collègues et amis de promotion, pour leur soutien moral, les échanges enrichissants et les moments de partage qui ont rendu ce parcours plus agréable et motivant.

J'adresse aussi toute ma reconnaissance à l'ensemble de mes enseignants, qui m'ont transmis leurs savoirs avec professionnalisme tout au long de mon parcours universitaire.

Enfin, je tiens à remercier du fond du cœur ma mère et mon père et toute ma famille bien-aimée pour leur amour, leur patience et leur soutien constant tout au long de cette aventure académique.

Je remercie également toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail et que je n'ai pas citées nommément.

À toutes et à tous, je dis simplement : merci.



Cette étude vise à caractériser la composition chimique de l'huile essentielle (HE) de *Cupressus arizonica* récoltée au niveau du département de Biotechnologie et Agro-Ecologie Université Blida 1, afin de déterminer ses principes actifs et son chémotype et d'évaluer son activité antifongique sur deux espèces redoutable du genre *Fusarium* isolées l'une des céréales et l'autre des lentilles.

L'HE de la partie aérienne de *Cupressus arizonica*, a été extraite par la méthode d' hydrodistillation. L'analyse chimique de l'HE a été réalisée sur un Chromatographe en Phase Gazeuse couplé á un Spectromètre de Masse (CG-SM). L'activité antifongique a été évaluée *in vitro* sur milieu PDA á deux concentrations 0,25% et 0.50%.

L'HE de la partie aérienne de *C. arizonica* a fourni un rendement d'extraction de l'ordre de 0,43%. L'analyse chimique de l'HE par CG-SM a révélé la présence de 61 composés volatils dont le plus abondant est le (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene (15,95%).

Les résultats de l'activité antifongique ont montré une forte inhibition de la croissance mycélienne à 0,5%, avec un taux maximal de 87,38% pour *Fusarium sp*1 et de 83,78% pour *Fusarium sp*2. Une réduction significative de la sporulation a également été observée. Ces résultats suggèrent que l'HE de *C. arizonica* pourrait constituer une alternative naturelle prometteuse aux fongicides chimiques pour la protection des cultures.

Mots clés: Cupressus arizonica, Huile essentielle, CG-SM, Activité antifongique.

Abstract

Evaluation of the biocidal potential of Arizona cypress essential oil

(Cupressus arizonica Greene.)

This study aims to evaluate the chemical composition and antifungal activity of the essential

oil extracted from Cupressus arizonica using hydrodistillation, and to assess its in vitro effect

against two Fusarium isolates obtained from cereals and lentils. The oil was analyzed by gas

chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), revealing 61 volatile compounds,

with (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene (15.95%) being the major constituent.

The antifungal activity was tested on PDA culture medium at two concentrations (0.25%

and 0.5%). Results showed a significant inhibition of mycelial growth at 0.5%, with maximum

inhibition rates of 87.38% for Fusarium sp1 and 83.78% for Fusarium sp2. A notable reduction

in sporulation was also recorded, particularly at the higher concentration. These findings

highlight the potential use of C. arizonica essential oil as a natural alternative to synthetic

fungicides for crop protection.

Key words: Cupressus arizonica, essential oil, CG-SM, antifungal activity.

الملخص

5

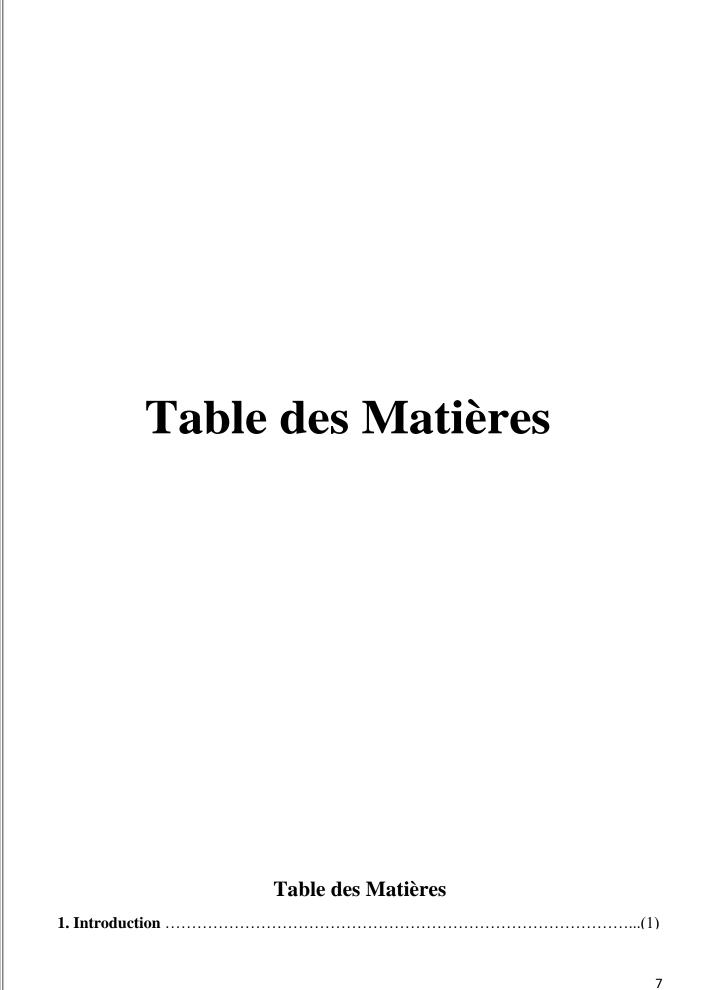
تقييم إمكانية الزيت العطري للسرو الأريزونى كمبيد عضوي

تم في هذه الدراسة استخراج الزيت العطري من الأجزاء الهوائية لنبات السرو الأزرق باستخدام طريقة التقطير بالبخار. ولتحليل مكونات هذا الزيت، تم استخدام تقنية الفصل بالغاز مع الكشف الطيفي الكتلي، وقد أظهرت النتائج وجود 61 مركبًا . %طيّارًا، وكان أكثر ها وفرة مركب كيميائي بلغت نسبته 15.95

تم تقييم فعالية هذا الزيت في مقاومة نوعين من فطريات العفن التي تم عزلها من الحبوب والعدس، وذلك باستخدام وسط غذائي يحتوي على البطاطا وسكر العنب والمادة الهلامية، مع اختبار تركيزين مختلفين من الزيت هما 0.25% و 0.5%. أظهرت النتائج أن التركيز الأعلى (0.5%) كان أكثر فعالية، حيث بلغ معدل تثبيط نمو الفطر الأول 87.38%، بينما بلغ في الفطر الثاني 83.78%. كما لوحظ انخفاض كبير في إنتاج الأبواغ، خصوصًا عند التركيز الأعلى

كلمات مفتاحية

السرو الأزرق, الزيت العطري.



2. Chapitre I : Synthèse bibliographique 1.1 Généralités sur *Cupressus arizonica*.....(2) 1.1.1 Origine et Historique.....(2) 1.1.2 Description Botanique.....(2) 1.1.3 Classification botanique.....(4) 1.1.4 Exigences pédoclimatiques.....(4) 1.1.5 Répartition géographique.....(5) 1.1.6 Usages et propriétés thérapeutiques.....(5) 1.2 Huiles essentielles(5) 1.2.1 Définition......(5) 1.2.2 Localisation et lieu de synthèse.....(5) 1.2.3 Méthodes d'extraction.....(6) 1.2.3.1 Hydrodistillation.....(6) 1.2.3.2 Entraînement à la vapeur.....(7) 1.2.3.3 Micro-ondes.....(8) 1.2.4 HE de *Cupressus arizonica*: Composition et utilisations.....(9) 1.3 Généralités sur Fusarium...(9) 1.3.1 Classification....(10) 1.3.2 Plantes hôtes.....(10) 1.3.3 Symptômes.....(10) 3. Chapitre II : Matériel et Méthodes 2.1 Matériel.....(12) 2.1.1 Matériel biologique.....(12) 2.1.1.1 Végétal.....(12) 2.1.1.2 Fongique.....(13) 2.1.2 Matériel non biologique.....(13) 2.2 Méthodes...... 2.2.1 Extraction.....(13)

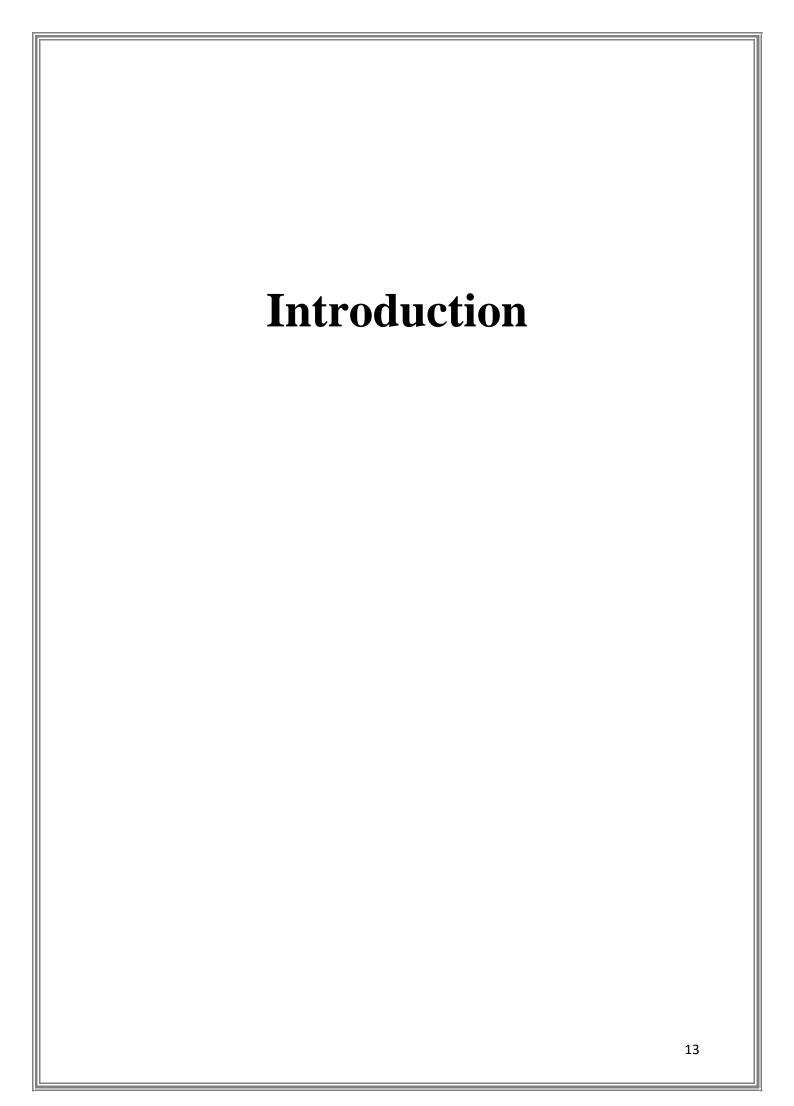
2.2.1.1 Principe.....(13)

2.2.1.2 Mode opératoire(14	1)
2.2.2 Rendement(14	4)
2.2.3 Caractéristiques organoleptiques(15	5)
2.2.4 Analyse chimique (CG-SM)(15	5)
2.2.5 Activité antifongique in vitro(17	7)
2.2.5.1 Préparation du PDA(15	5)
2.2.5.2 Technique d'incorporation de l'HE avec le milieu de culture(18	3)
2.2.5.3 Sporulation(18	3)
4. Chapitre III : Résultats et Discussion	
3.1 Résultats(19))
3.1.1 Rendement(19	9)
3.1.2 Caractéristiques organoleptiques(19	9)
3.1.3 Composition chimique(20))
3.1.4 Activité antifongique(22	2)
3.1.4.1 Evaluation de l'activité antifongique(22	2)
3.1.4.2 Sporulation(25	5)
3.2 Discussion(27	7)
Rendement(27)
Composition(27	7)
Croissance mycélienne(27	7)
Sporulation(27	7)
5. Conclusion(29	9)
6. Références bibliographiques(30))
7 Annexes	

Tinto dos Eironos	
Liste des Figures	
Figure 1 : Cupressus arizonica Greene(3)	
Figure 2 : Rameau feuillé de cyprès d'Arizona(3)	
10	

Figure 3 : Schéma de l'hydrodistillation(6)
Figure 4 : Entraînement à la vapeur(7)
Figure 5 : Extraction assistée par micro-ondes(8)
Figure 6 : Récolte du matériel végétal(13)
Figure 7 : Dispositif de distillation(14)
Figure 8: Fusarium sp1 et sp2 (cultures pures)(17)
Figure 9 : Mycélium sain vs déformé (<i>Fusarium sp1</i>)(22)
Figure 10 : Mycélium sain vs déformé (<i>Fusarium sp2</i>)(23)
Figure 11 : Croissance des colonies à J+7(24)
Figure 12 : Inhibition de la croissance mycélienne(25)
Figure 13: Inhibition de la sporulation(26)
Liste de tableaux
Tableau 1 : Classification de Cupressus arizonica(4)
Tableau 2 : Classification de Fusarium spp(10)

Tableau 3 : Résultat du rendement en HE.	(19)
Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques de l'HE	(19)
Tableau 5 : Composition chimique de l'HE de C. arizonica	(20)
Tableau 6 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%)	(24)
Tableau 7 : Taux d'inhibition de la sporulation (%)	(25)



Introduction

Cupressus arizonica, communément appelé cyprès de l'Arizona, est une espèce d'arbre appartenant à la famille des Cupressaceae. Originaire d'Amérique du Nord, il est apprécié pour sa croissance rapide, sa résistance à la sécheresse et surtout pour les propriétés biologiquement actives de son huile essentielle (Jaouadi et al., 2022). Cette dernière contient divers composés volatils, tels que les mono-terpènes, connus pour leurs effets antimicrobiens et antifongiques (Aalipour et al., 2023).

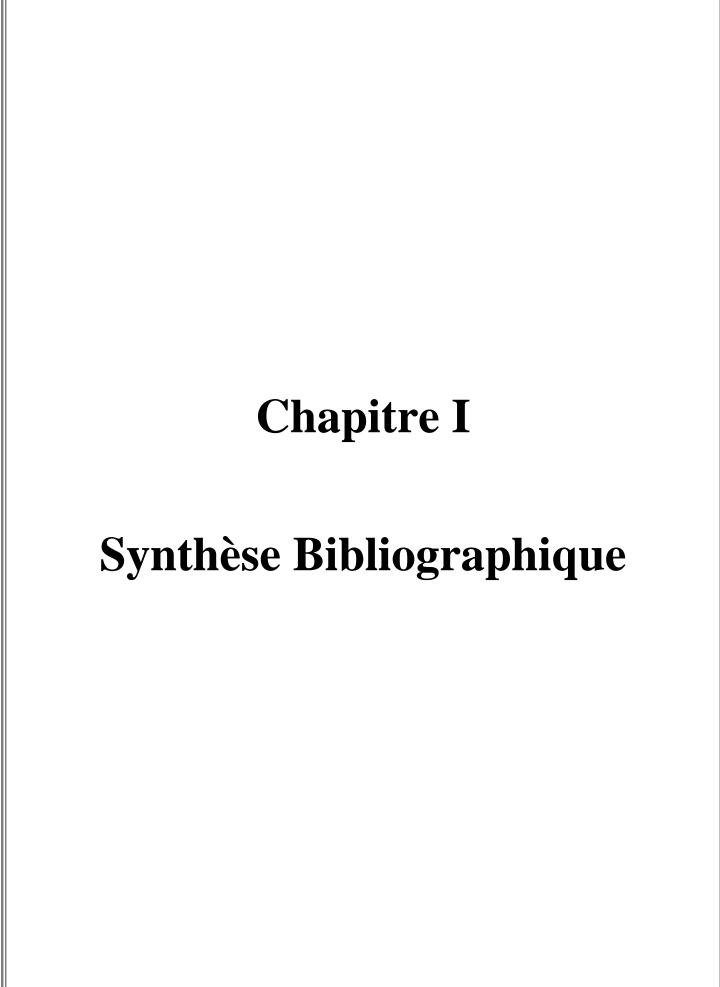
Parmi les agents phytopathogènes les plus redoutables, le genre *Fusarium* occupe une place importante. Il s'agit d'un ensemble de champignons filamenteux omniprésents dans les sols agricoles, capables d'infecter un large éventail de cultures (**Awad et al., 2018**). Ces champignons sont responsables de plusieurs maladies des plantes, telles que la fusariose vasculaire, la pourriture racinaire et la fonte des semis. Outre les pertes économiques significatives, certaines espèces de *Fusarium* produisent des mycotoxines dangereuses pour la santé humaine et animale (**Ortega-Aragon et al., 2023**).

Face à la problématique croissante de la résistance aux fongicides chimiques et aux préoccupations environnementales, les huiles essentielles (HEs) apparaissent comme une alternative prometteuse. En effet leur utilisation en tant que biocides naturels, offrent une activité antifongique efficace tout en étant biodégradables et généralement moins nocives pour l'environnement (**Grzanka et al., 2021**). Ainsi, l'évaluation de l'efficacité de l'HE de *Cupressus arizonica* contre les souches de *Fusarium* représente une voie intéressante pour le développement de solutions durables pour la protection des cultures.

Dans cette optique, nous avons caractérisé la composition chimique de l'HE de la partie aérienne de *Cupressus arizonica*, afin de connaître son principe actif et son chémotype *et* d'évaluer son activité antifongique sur deux espèces de *Fusarium*.

Hypothèses de l'étude :

- 1. L'huile essentielle de *C. arizonica* n'a pas le même effet inhibiteur à deux concentrations différentes (0.25 % et 0.5 %).
- 2. Les deux espèces de *Fusarium* présentent une sensibilité différente à l'action antifongique de l'huile essentielle.
- 3. L'huile essentielle influence différemment la sporulation selon l'espèce fongique.
- 4. L'huile essentielle de *C. arizonica* pourrait constituer une alternative naturelle aux fongicides chimiques.



1.1. Généralités sur Cupressus arizonica

1.1.1. Origine et Historique

L'espèce *Cupressus arizonica* (Greene), communément appelée cyprès de l'Arizona, a été initialement décrite par Greene en 1882. Elle est originaire des régions montagneuses du Sud-Ouest des États-Unis et du Nord du Mexique. Son aire de répartition inclut notamment l'Arizona, le Nouveau-Mexique, le Texas et la Sierra Madre au Mexique (**Little, 2006**; **Eckenwalder, 2009**).

1.1.2. Description Botanique

Le cyprès de l'Arizona est un arbre à feuillage persistant pouvant atteindre 15 à 25 mètres de hauteur. Son écorce est épaisse, fibreuse et de couleur gris-brun, se détachant souvent en plaques irrégulières (**Figure 1**). Les feuilles, de couleur vert-grisâtre, sont disposées en écailles serrées contre les rameaux. Les cônes sont petits, ovoïdes à globuleux, mesurant de 1,5 à 3 cm de diamètre (**Figure 2**). Ils sont composés de plusieurs écailles ligneuses qui protègent les graines. Les graines sont irrégulièrement ovoïdes et dotées d'un tégument résistant ((**Phillips, 1993 ; Adams, 2014**).



Figure 1 : Cupressus arizonica Green (Originale, 2025).

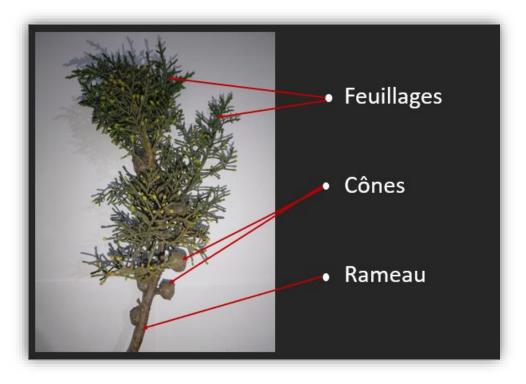


Figure 2 : Rameau feuillé de Cyprés d'Arizona (Originale, 2025).

1.1.3. Classification botanique

Le cyprés de l'Arizona (*Cupressus arizonica*) fait parties de la famille des Cupressaceae porte les noms « cyprés glabre » et de « cyprés bleu ». La classification de *Cupressus arizonina* est représentée dans le **Tableau I** (**Poncet**, et *al.*. 2021).

Tableau 1 : Classification de Cyprès de l'Arizona (**Poncet**, et *al.* 2021).

Niveau taxonomique	Classification
Régne	Plantae
Phylum (Embranchement)	Tracheophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Cupressales
Famille	Cupressaceae
Sous-famille	Cupressoideae
Genre	Cupressus
Espèce	Cupressus arizonica

Nous citons quelques noms vernaculaires de *Cupressus arizonica*: En français: Cyprès de l'Arizona, en anglais: Arizona Cypress et en Arabe: سرو أريزونا

1.1.4. Exigences Pédoclimatiques

Cupressus arizonica pousse dans des environnements variés, démontrant une adaptation aux conditions pédoclimatiques spécifiques. L'espèce est présente principalement dans les canyons et les pentes latérales des montagnes du Sud-Est de l'Arizona, du Sud-Ouest du Nouveau-Mexique et du Texas trans-Pecos, ainsi que dans la Sierra Madre du Nord du Mexique. Elle se développe sur des sols profonds, bien drainés et perméables, souvent rencontrés dans les ravins et les pentes Nord des canyons. Aux altitudes inférieures (1340-2000 m), C. arizonica préfère les habitats plus humides, comme les fonds de ravins et les pentes ombragées, où l'humidité du sol est plus élevée. En revanche, à des altitudes plus élevées (2050-2200 m), l'espèce peut occuper des crêtes exposées et des pentes sèches orientées au Sud, montrant ainsi une certaine tolérance aux conditions plus arides. Les sols varient en texture, allant du sableux á l'argilo-limoneux, avec des pH généralement neutres, bien que les substrats acides puissent limiter la croissance de l'espèce (Parker, 1980).

1.1.5. Répartition géographique

La répartition géographique du Cyprès de l'Arizona se limite principalement au Sud-Ouest des États-Unis et au Nord-Ouest du Mexique. Aux États-Unis, il est largement réparti dans les États de l'Arizona, de la Californie, du Nouveau-Mexique et du Texas (Little, 2006). Au Mexique, cette espèce est principalement présente dans les États de Sonora, Chihuahua, Durango et Basse-Californie du Sud (**Farjon, 2010**).

En Algérie, les Cupressacées revêtent un intérêt particulier. Elles se trouvent sur les deux massifs de l'Atlas algérien à des densités variables, soit en association avec d'autres végétaux, soit formant des peuplements clairsemés et isolés. Cependant, peu de données précises sont disponibles concernant la répartition et la densité spécifiques des cyprès (**Bouyahyaoui**, **2017**).

1.1.6. Usages et propriétés thérapeutiques de Cupressus arizonica

Des recherches ont révélé que différents extraits des plantes de la famille des Cupressacées possèdent diverses activités biologiques, telles que des propriétés antimicrobiennes et antitumorales (Ali et al. 1996). Des études antérieures ont également montré que, certaines variétés de *Cupressus* présentent des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales (y compris contre le virus HSV-1), antiparasitaires, insecticides, antioxydantes, cicatrisantes, anticancéreuses, ostrogéniques, anticoagulantes, ainsi que d'autres effets bénéfiques (Emami et al. 2009).

1.2. Huiles essentielles

1.2.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs), également appelées essences, sont des mélanges de composés aromatiques produits par de nombreuses plantes. Elles se trouvent sous forme de fines gouttelettes dans différentes parties du végétal, comme les feuilles, l'écorce des fruits, la résine, les tiges et le bois. Lorsqu'on écrase une fleur, une feuille ou une branche, l'odeur qui s'en dégage provient de la libération de ces HEs (**Padrini & Lucheroni, 1996; Baser & Buchbauer, 2015**).

1.2.2. Localisation et lieu de synthèse

Les HEs peuvent être stockées dans divers organes des plantes, tels que les fleurs (bergamotier), les feuilles (citronnelle et eucalyptus), l'écorce (cannelier), le bois (bois de rose), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre), les fruits (anis et badiane) et les graines

(muscade). Chez certaines espèces, comme l'oranger amer (Citrus aurantium L. subsp. aurantium).

Les HEs sont élaborées dans le cytoplasme de cellules spécifiques, où elles s'accumulent sous forme de gouttelettes avant de se regrouper en plages plus larges. Elles sont ensuite stockées sous la cuticule des poils glandulaires sécréteurs, présents principalement sur les feuilles et les tiges, depuis l'épanouissement des feuilles hors du bourgeon jusqu'à leur maturité. Chez les Ombellifères, racines, tiges et feuilles renferment des canaux sécréteurs remplis d'un mélange d'essence et de résine, contribuant à l'odeur caractéristique de ces plantes lorsqu'elles sont écrasées. Ces canaux, qui ressemblent à de longues poches sécrétrices, sont protégés par des tissus de soutien et entourés de cellules spécialisées (Perrin et Colsan, 1983; Demalsy-Feller 1990; Guignard, 1996).

1.2.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

1.2.3.1. Hydrodistillation

Cette technique consiste à immerger directement la matière végétale, qu'elle soit intacte ou préalablement broyée (turbodistillation), dans un alambic rempli d'eau distillée. L'eau est ensuite portée à ébullition, produisant des vapeurs qui entraînent les composés volatils (Figure 3). Après condensation sur une surface froide, l'HE se sépare naturellement de l'eau grâce à la différence de densité entre les deux liquides (**Bruneton**, 1999; **Ramos et al.**, 2022).

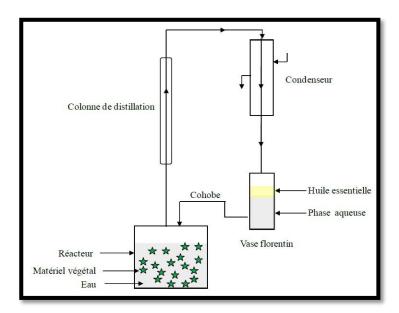


Figure 3 : Schéma présente le mécanisme d'hydrodistllation (Farhat, 2010)

1.2.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode, la matière végétale est placée sur une grille ou une plaque perforée, suspendue au-dessus du niveau de l'eau contenue dans l'alambic, évitant ainsi tout contact direct entre la plante et l'eau. La vapeur d'eau produite traverse le matériel végétal, provoquant la rupture des cellules qui renferment les huiles essentielles. Les molécules aromatiques entraînées par la vapeur se condensent ensuite dans un réfrigérant, ce qui permet de séparer l'huile essentielle de l'eau grâce à leur différence de densité (Figure 4). Le distillat recueilli, à travers un robinet, contient à la fois l'eau aromatique et l'huile essentielle pure. Par ailleurs, l'application d'une pression modérée permet de réduire la durée du traitement, de préserver les constituants de l'huile essentielle et de diminuer la consommation énergétique (**Bruneton**, 1999; **Baser & Buchbauer**, 2010).

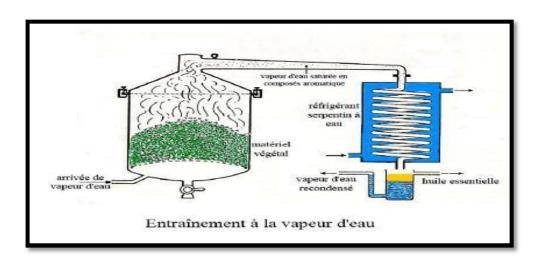


Figure 4 : Dispositif de distillation à la vapeur d'eau utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (**Lucchesie**, **2005**)

1.2.3.3. Extraction assistée par micro-ondes

Ces dernières années, de nouvelles technologies ont émergé dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles. Parmi elles, l'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide se distingue par son efficacité. Ce procédé repose sur un chauffage ciblé du matériel végétal par micro-ondes, dans un environnement à pression réduite, de manière séquentielle. L'huile essentielle est alors entraînée avec la vapeur d'eau naturellement présente dans les plantes fraîches, sans ajout d'eau (Figure 5). Cette méthode, à la fois rapide et économe en énergie, permet d'obtenir une huile essentielle de qualité souvent supérieure à celle obtenue par hydrodistillation classique. Elle réduit considérablement le temps de traitement — dans un facteur allant de 5 à 10 — tout en opérant à des températures plus basses (Bruneton, 1999; Chemat et al., 2006).

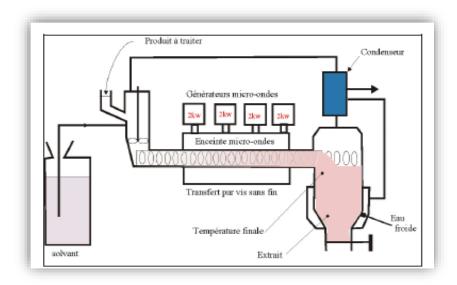


Figure 5 : Schéma présente l'extraction assistée par micro-ondes (Sutour, S. 2010).

1.2.4. Huiles essentielles de Cupressus arizonica

1.2.4.1. Composition chimique de l'huile essentielle de Cupressus arizonica

La composition chimique de l'HE de *Cupressus arizonica* par l'analyse chromatographie en phase gazeuse (GC-SM) a permis d'identifier 87 composés dans l'HE de *Cupressus arizonica* Greene cultivé en Tunisie. La composition varie selon l'organe de la plante utilisé. Les principaux constituants sont l' α -pinène (60,5 %) dans les cônes femelles, l'umbellulone (18,4 %) dans les feuilles et le δ -3-carène (15,6 % dans les branches

(Chéraif et *al.* 2007). Par ailleurs, Les composés les plus importants dans les HE des feuilles du cyprès d'Arizona sont le p-cymène, l'α-pinène, le cis-muurola-3,5-diène et le germacrène D qui représentent pour environ 40% du pétrole. Les autres composants chimiques majeurs sont le limonène et l'umbellulone (Sedaghat et *al.* 2011).

1.2.4.2. Utilisation des huiles essentielles de Cupressus arizonica

Les HEs de *Cupressus arizonica* Greene sont utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes. Des tests *in vitro* ont montré que ces HEs exercent une activité inhibitrice contre plusieurs souches bactériennes, notamment, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus pneumoniae*. Les résultats indiquent que les HEs extraites des feuilles sont plus actives que celles issues des branches ou des cônes femelles (**Chéraif et al., 2007**). En outre, l'HE des feuilles de *C. arizonica* ont montré des activités insecticides (**Mannai et al., 2021**), antifongiques (**Khouaja et al., 2015**) et larvicides (**Sedaghat et al., 2011**).

1.3. Généralités sur Fusarium

Le genre Fusarium représente un défi majeur pour la réussite de la production en pépinière, notamment les formes spécialisées de Fusarium oxysporum, adaptées à des hôtes spécifiques, responsables de flétrissements vasculaires. Ces champignons phytopathogènes sont particulièrement virulents, capables de provoquer des pertes agricoles importantes et parfois dévastatrices. Lorsqu'une plante est infectée de manière systémique par un agent pathogène du flétrissement à Fusarium, aucun traitement curatif efficace n'est disponible, et il devient impératif de l'éliminer immédiatement afin de limiter la propagation de la maladie. Certaines espèces ou souches de Fusarium, absentes de certaines zones géographiques, peuvent représenter une menace sérieuse pour la biosécurité agricole. Les maladies associées aux espèces de Fusarium incluent notamment : la fonte des semis (damping-off), la pourriture des racines (root rot), la pourriture de la tige (stem rot), la pourriture du collet (crown rot), la pourriture du corme (corm rot), la pourriture des boutures (cutting rot) et les taches foliaires (leaf spots) (Conroy & Manners, 2022 ; Dean et al., 2012).

1.3.1. Classification

La classification du Fusarium selon (Reference) est représentée dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Classification du Fusaruim (Michielse, 2009).

Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycota
Sous-embranchement	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycetes
Sous-classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	Fusarium

1.3.2. Plantes hôtes de Fusarium

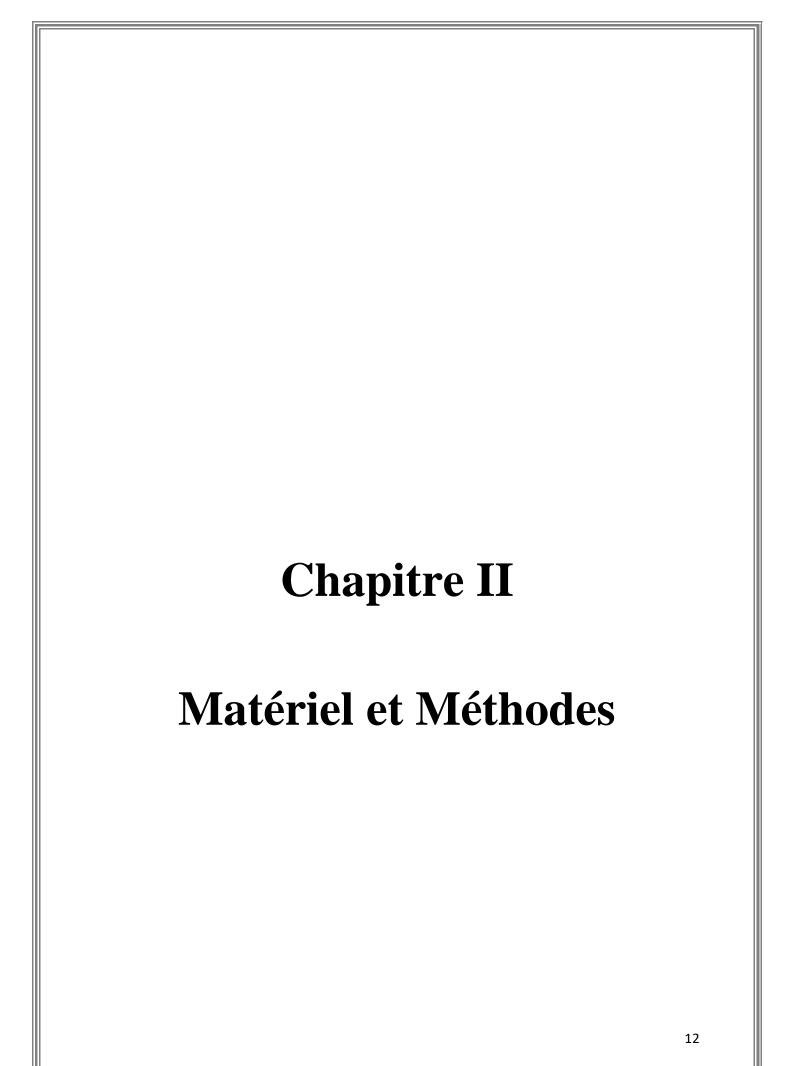
La tomate constitue la culture de la famille des Solanacées la plus fréquemment touchée par la fusariose vasculaire dans certaines régions. Néanmoins, d'autres solanacées telles que l'aubergine et le poivron peuvent également être affectées. Chez les cucurbitacées, des espèces comme le concombre, la pastèque, et parfois le melon, montrent également une sensibilité à cette maladie. En outre, plusieurs adventices communes, notamment l'amarante (Amaranthus spp.), la mauve (Malva spp.) et le digitaire (Digitaria spp.), peuvent servir d'hôtes alternatifs aux agents pathogènes responsables du flétrissement à Fusarium, contribuant ainsi à la persistance et à la dissémination de la maladie dans les cultures (Gauthier et al., 2022 ; Summerell et al., 2010).

1.3.3. Symptômes de Fusarium

Le premier signe observable de la fusariose vasculaire est un flétrissement partiel ou total de la plante, qui apparaît principalement durant les heures les plus chaudes de la journée. Bien que les plantes puissent temporairement sembler se rétablir lors de soirées fraîches ou durant des périodes pluvieuses ou tempérées, ce flétrissement devient progressivement irréversible.

Par la suite, un jaunissement du feuillage survient, apparaissant initialement sur un seul côté d'une tige ou d'une branche, avant de s'accompagner d'une nécrose progressive, notamment au niveau des extrémités des feuilles. Les symptômes débutent souvent sur les feuilles inférieures, puis progressent vers la partie supérieure de la plante, entraînant un jaunissement généralisé suivi d'une nécrose complète.

Après quelques semaines, une décoloration brunâtre du système vasculaire peut être observée en coupant longitudinalement la tige. Cette coloration s'étend généralement des racines jusqu'aux parties supérieures de la plante. Les plantes infectées présentent également un ralentissement de croissance significatif et peuvent finir par dépérir, surtout dans des conditions climatiques chaudes (Gauthier et al., 2022 ; Agrios, 2005).



2. Matériel et Méthodes

L'objectif de notre étude est de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle (HE) extraite à partir des rameaux feuillés et des cônes de *Cupressus arizonica* Greene récoltés au niveau du département de biotechnologie et agro-écologie université Blida 1, afin de connaître ses principes actifs, et son chémotype, en vue d'évaluer ses activités antifongiques sur deux espèces phytopthogènes du genre *Fusarium*. Notre travail expérimental s'est étalé sur une période de 5 mois allant de la fin janvier au 10 juin 2025. Les différentes expérimentations ont été réalisées au niveau des structures suivantes :

- Laboratoire Bioextrapamal d' Oued Alleug, Blida pour l'extraction de l'HE.
- -Centre de Recherche d'Analyse Physico-Chimique (CRAPC) de Bou'Smail (Tipaza) pour la caractérisation de la composition chimique de l'HE.
- Institut National de la Protection des Végétaux (INPV), El Harrach Alger pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de *C.arizonica*.

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel biologique

2.1.1.1. Matériel végétal

La récolte du matériel végétal a été réalisée le 29 janvier 2025, á l'aide d'un sécateur, d'une façon aléatoire, sur quatre arbres différents de *Cupressus arizonica* plantés au niveau du département de biotechnologie et agro-écologie, université Blida 1. L'identification botanique a été faite par Dr Oud Mouhoub enseignant de botanique au niveau du même département. La quantité récoltée est de 5, 778 kg (**Figure 6**).



Figure 6: la photo montre à droite le feuillage et les fragments de rameaux collectés de *Cupressus arizonica*, au centre l'outil de coupe utilisé pour le prélèvement, et à gauche les arbres de *Cupressus arizonica* servant de source végétale (Original ,2025).

2.1.1.2. Matériel fongique

Les deux isolats mis á notre disposition par le laboratoire de microbiologie au niveau de l'Institut National de la Protection des Végétaux se limite á deux isolats fongiques appartenant au genre *Fusarium sp* 1 isolé á partir de cultures céréalières et *Fusarium sp* 2 isolé á partir de lentilles.

2.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilise pour la réalisation de notre expérimentation est représenté en annexe.

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction de l'huile essentielle de Cupressus arizonica

2.2.1.1. Principe

L'HE a été extraite selon la méthode d'hydro-distillation á l'échelle semi-industrielle á l'aide d'un dispositif type « alambic » (**Figure 7**).



Figure 7 : l'appareil illustre le système de distillation à la vapeur utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de *Cupressus arizonica*. (Original ,2025).

2.2.1.2. Mode opératoire

Au début nous avons pesé la partie aérienne fraiche récoltée de *C. arizonica*. Ensuite nous avons introduit cette dernière directement dans un alambic. Une quantité de 11,6 L d'eau a été ajoutée á l'ensemble du matériel végétal. Puis nous avons chauffé le ballon. La vapeur d'eau traverse la plante et emporte les composés volatils de l'HE. Cette vapeur est ensuite refroidie et condensée dans le serpentin du condensateur formant un mélange HE-eau. La collecte de l'HE se fait dans une ampoule á décanter. La séparation de l'HE et de l'hydrolat se fait par différence de densité. L'opération a duré 3 heures. L'HE récupérée a été mis dans un flacon ambré fermé hermétiquement á 4 °C jusqu'à utilisation.

2.2.2. Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction est la quantité maximale de l'HE que donne une masse donnée du végétale. Selon la norme Afnor (2000), le rendement est le rapport entre la masse de l'HE obtenue sur la masse du matériel végétal utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

RHE (%) = (MHE / MMVF)
$$\times$$
 100

RHE (%): Rendement en HE

MHE : Masse de l'HE

MMVF : Masse du matériel végétal frais

2.2.3. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de *C. arizonica* (aspect, odeur et couleur) sont des indicateurs qui permettent d'évaluer la qualité de l'HE.

2.2.4. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par CG-SM

L'HE de *C. arizonica* Green a été analysée sur un Chromatographe : Hewlett Packard Agilent 6890 équipé d'un spectromètre de masse : Hewlett Agilent 5973. L'analyse a été réalisée dans les conditions expérimentales suivantes :

- La colonne: Type: HP-5MS, Dimensions: long 30 m * D int 0.25 mm *
 épaisseur film 0.25 μm Phase stationnaire: 5% Phenyl 95%
 dimethylpolysiloxane.
- Température du four : 60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 250°C ; isotherme 10 min.
- Durée d'analyse : 113 min Gaz vecteur : hélium pur 6.0
- Débit : 0. 6 ml/min
- Détecteur de masse : Mode d'analyse : SIM
- Délai du solvant : 3.5 min
- Température de l'interface : 270 °c
- Type d'ionisation : Impact électronique
- Intensité du filament : 70 év
- Type de l'analyseur de masse : Quadripôles
- Température de la source : 230 °c
- Injecteur: 4 µl

2.2.5. Activité antifongique de l'huile essentielle in vitro

2.2.5.1. Préparation du milieu de culture

Dans cette étude, le milieu utilisé pour toutes les manipulations est le PDA, un milieu organique simple favorable à la croissance des champignons phytopathogènes. Sa préparation a suivi des étapes rigoureuses pour éviter toute contamination. Tout d'abord, 39 g de poudre de PDA ont été pesés à l'aide d'une balance électronique de précision, Ensuite, 1 litre d'eau

distillée a été versé lentement dans une bouteille en verre brun opaque d'un litre pour protéger le milieu de la lumière. Puis le mélange a été agité manuellement pour favoriser une première dissolution. La bouteille a ensuite été placée sur un agitateur magnétique avec un barreau aimanté pendant 10 à 15 minutes pour homogénéiser le mélange. Après cela, le milieu a été stérilisé dans un autoclave à 120 °C pendant 20 minutes, en veillant à desserrer légèrement le bouchon pour éviter toute explosion. Trente boîtes de Pétri stériles ont été préparées et réparties en deux séries de 15 : l'une pour Fusarium sp1 et l'autre pour Fusarium sp2. Chaque série a été subdivisée en 5 boîtes témoins (sans huile essentielle), 5 boîtes avec 0,25 % d'HE, et 5 boîtes avec 0,50 % d'HE. Chaque boîte a été étiquetée avec le nom du traitement, la dose, le type d'isolat (C pour les céréales, L pour les lentilles) et le numéro de répétition (1 à 5). Quatre béchers stériles ont été également préparés pour l'incorporation de l'HE : deux pour Fusarium sp1 (0,25 % et 0,50 %) et deux pour Fusarium sp2 (0,25 % et 0,50 %). Une fois le PDA refroidi à environ 50 °C, température idéale pour préserver les propriétés de l'HE, la température a été vérifiée au toucher. Ensuite, 250 μl d'HE ont été ajoutés pour les béchers à 0,25 %, et 500 μl pour ceux à 0,50 %, puis chaque bécher a été complété jusqu'à 100 ml avec le PDA tiède, suivi d'une agitation douce pour assurer une homogénéisation. Enfin, les milieux ainsi préparés ont été répartis dans les boîtes de Pétri correspondantes, tandis que les boîtes témoins ont été remplies uniquement de PDA stérile. Toutes les boîtes ont ensuite été placées dans un incubateur réglé à 25 °C, en attendant l'étape d'inoculation.

La **Figure 8** représente deux colonies matures des deux espèces de *Fusaruim* étudiées (*Fusarium sp* 1 et *Fusarium sp* 2), L'âge des deux souches et de 7 jours.



Figure 8 : colonies matures des deux espèces de *Fusaruim* étudiées (*Fusarium sp* 1 et *Fusarium sp* 2),

2.2.5.2. Technique d'incorporation de l'huile essentielle avec le milieu de culture

Deux boîtes préalablement ensemencées contenant les isolats Fusarium sp1 prélevées de céréales et Fusarium sp2 prélevées de la culture des lentilles ont été utilisées pour l'inoculation, L'âge des deux souches et de 7 jours. L'opération s'est déroulée dans une hotte stérile, équipée d'un environnement de travail propre et à proximité d'un bec Bunsen, afin d'assurer des conditions aseptiques. À l'aide d'une pipette Pasteur propre, dont l'extrémité inférieure a été chauffée à la flamme pour l'ouvrir et la transformer en emporte-pièce, un disque de mycélium actif d'environ 5 mm de diamètre a été prélevé sans découpe préalable, puis déposé au centre de chaque boîte (15 boîtes pour chaque isolat). Les boîtes ont été immédiatement refermées après l'inoculation, puis soigneusement scellées avec du Para-film pour éviter toute contamination. Les boîtes ont ensuite été placées dans un incubateur réglé à 25 °C pour suivre le développement mycélien pendant 7 jours. Ce suivi a été réalisé quotidiennement à l'aide d'une méthode de mesure non destructive, consistant à mesurer le diamètre de chaque colonie à l'aide d'une règle millimétrée placée sous la boîte, sans jamais l'ouvrir. Pour assurer la reproductibilité des mesures, deux repères fixes ont été marqués à l'extérieur de chaque boîte dès la première lecture, permettant de replacer la règle dans la même position chaque jour. Les mesures ont été effectuées quotidiennement pendant 7 jours, et les résultats ont été enregistrés dans des tableaux spécifiques, en lien avec le code de la boîte, la date, la dose appliquée, le type d'isolat (*Fusarium* sp1 ou sp2), et le numéro de répétition, dans le but d'analyser la dynamique de croissance en fonction des traitements.

Aussi, l'inhibition de la croissance mycélienne exercée par les deux doses sur la croissance mycélienne de l'isolat fongique est évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante :

$$I(\%) = (1-Cn/C0) *100.$$

Où:

• Cn : diamètre moyen des colonies de *Fusarium spp* traitées par HE (cm).

• C0 : diamètre moyen des colonies témoins (cm).

2.2.5.3. Effet de l'huile essentielle de *C .arizonica* sur la sporulation

L'activité antisporulante des deux doses de l'HE a été évaluée sur des colonies fongiques de 27 jours incubées à 25 °C (des colonies des deux *Fusarium* traités et témoins). Des fragments mycéliens de culture ont été mis dans des tubes à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile. Ces suspensions de spores ont été agitées au vortex pendant 5 min afin de détacher les spores.

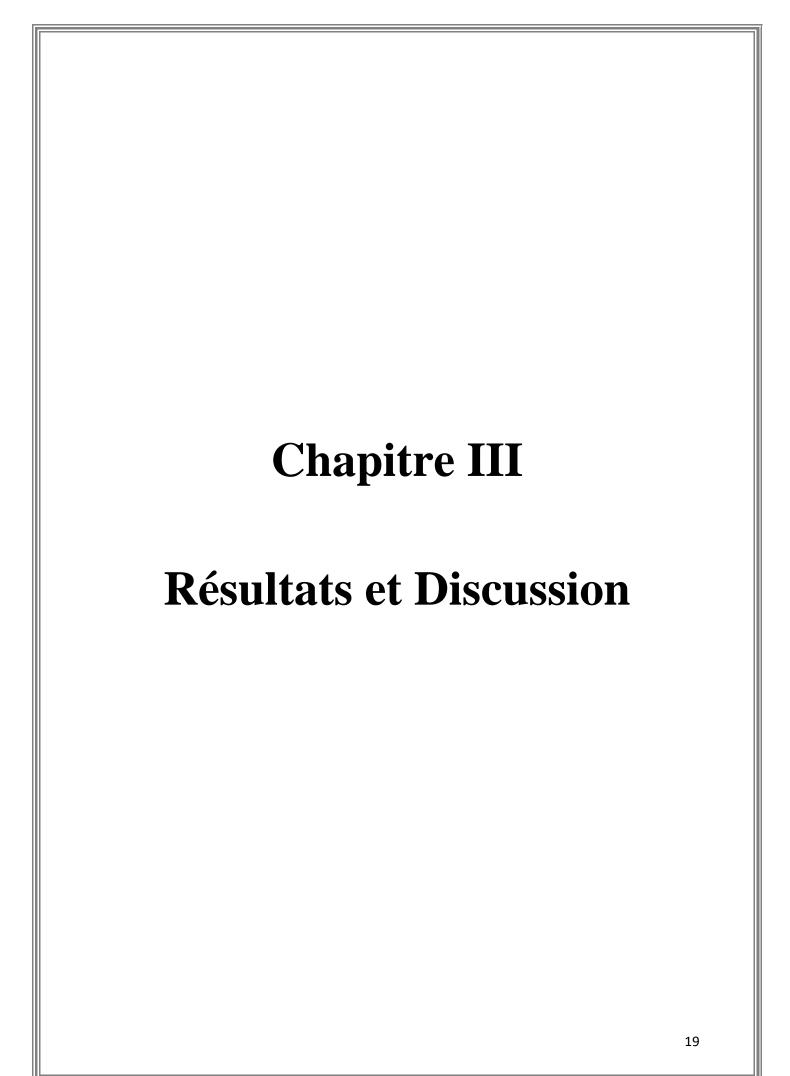
Le comptage du nombre total de spores de chaque traitement a été effectué à l'aide de la cellule de Malassez à raison de trois comptages par concentration et par HE. Les moyennes de ces mesures ont par la suite été calculées. Les valeurs ont été exprimées en nombre de spores par ml. Le pourcentage d'inhibition de la sporulation a été calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = (1 - Nc / N0) * 100$$

Avec

• N0 : nombre des spores dans le témoin.

• Nc : nombre de spores dans les colonies traitées avec de l'HE.



3.1. Résultats

3.1.1. Calcul du rendement

Pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de *Cupressus arizonica* nous avons procédé à l'extraction d'une quantité suffisante de l'HE de cette plante. Les résultats de rendement de l'HE de *Cupressus arizonica* après extraction par hydrodistillation sont exprimés en pourcentage et sont transcrit dans le **Tableau 3**:

Tableau 3 : Résultats du rendement de l'huile essentielle de *Cupressus arizonica* (**Original**, **2025**)

Espèce	La durée de Matière		H2O distillé	Rendement
	distillation (h)	fraiche (g)	utilisée (ml)	%
Cupressus arizonica	3h et plus	≈ 5800g	≈ 11600ml	0,43%
Greene				

^{*}Condition de conservation : conservé dans un endroit relativement frais et sombre.

3.1.2. Caractéristiques organoleptiques

Après avoir recueilli l'HE, nous avons procédé à une analyse sensorielle appelée encore caractéristiques organoleptiques. Ces dernières nous renseignent sur la qualité de l'HE étudiée. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Cupressus arizonica* (**Original**, **2025**)

Caractère	Couleur	Aspect et	Odeur	Photo de l'HE de <i>C</i> .
		solubilité		<i>arizonica</i> étudiée
Cupressus arizonica greene	Jaune doré avec une légère nuance verdâtre	Liquide fluide clair liposoluble	Forte et aromatique, caractéristique du cyprès d'Arizona	

3.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse de l'HE de la partie aérienne (rameaux feuillés et cônes) de *C. arizonica* Greene a révélé la présence de 61 composés volatils représentants 89,38% de la composition totale. (+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene a été détecté comme composé majoritaire (15,95%) suivi d'Alpha Pinéne (12,28%) et d'Isoledene (6,40%). Les autres composés sont présents avec un taux inférieur á 5%. Les résultats de la composition chimique de l'HE sont représentés sont le **Tableau 5**.

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Cupressus arizonica* Gréene par CG-SM

Composés	%	Temps de Rétention (min)
Tricycléne	0,09	14,454
Alpha Thujene	0,32	14, 984
Alpha Pinéne	12,28	15,562
Alpha fenchene	0,56	16,338
Bêta-Thujene	0,56	16,878
β-Pinène	1,01	19,987
Alpha-Phellandrene	0,17	20,767
betaPhellandrene	1,98	20,886
3-Carene	1,24	21,206
(+)-4-Carene	1,17	21,731
m-Cymene	0,80	22,372
GammaTerpinene	3,77	22,719
Alpha-Ociméne	0,45	24,382
Sabinéne hydrate	0,14	29,712
Campholenal	0,22	30,059
Neryl propionate	0,08	30,623
(+)-cis-Verbenol	0,16	30,922
Camphor	0,38	31,269
2,3-Epoxycarane, (E)-	0,23	31,520
Pinocarvone	0,20	32,676
Umbellulone	4,97	33,785
(+)-4-terpinéol	1,57	34,026
Thujone	0,95	34,378
Terpinéol	0,58	34,903
Dihydrocarveol	0,29	35,226
. (1S)-(-)-verbenone	0,30	36,079
Citronellol	0,12	37,775
Méthylthymol	0,42	38,103
(+)-piperitone	0,16	39,255
Thymol	0,31	42,238
Oleic acid, 3-hydroxypropyl	0,05	47,964
alpha-cis-Bergamotene	0,10	48,479
Copaene	0,14	48,740

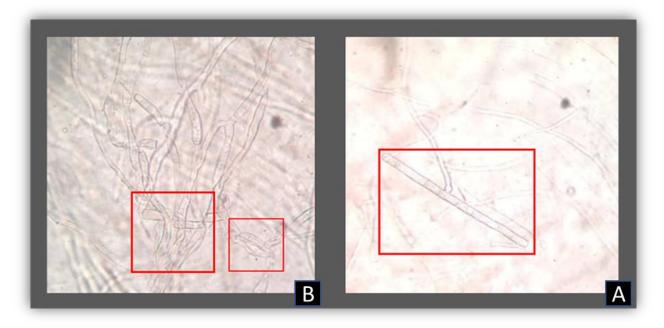
Alphacedrene	1,92	49,646
(+)-β-cedrene	0,78	50,147
Thujopsène	0,20	50,817
Valencène	0,14	51,236
Isoledene	6,40	52,036
alphaCaryophyllene	0,45	52,330
(+)-Epi-	15,95	53.198
bicyclosesquiphellandrene		
alpha-Elemene.	0,49	53,843
Alpha-Curcumene	0,52	54,219
Epizonarene	0,20	54,668
(+)-Cyclosativene	0,26	54,756
AlphaCubebene	0,34	54,913
(E)-α-Élémène	3,65	55,222
Cuparene	0,30	55,506
3-Methylcinnamic acid	0,22	56,292
Calamenene, Trans-(±)	3,95	56,591
Cadala-1(10), 3,8-triene	1,02	57,699
alphaCalacorene	0,89	58,861
beta-Patchoulene	0,39	59,234
Alpha Cadinéne	1,59	59,345
alpha-Himachalene	4,84	59,514
Cadaléne	0,94	59,556
Alpha Guerjunene	0,31	59,578
4,6-di-tert-Butyl-m-cresol	3,71	59,597
(-)-Spathulenol	0,52	59,699
Cedrol	3,00	61.049
Hinesol	0,40	67,936
Longifolenaldehyde.	0,15	69,401
Total	89,38%	
Momoterpénes	24,40%	
hydrocarbonés		
Monoterpénes oxygénés	11,08%	
Sesquiterpénes	45,99%	
hydrocarbonés		
Sésquiterpénes oxygénés	7,78%	
Autres	0,13%	

Le **Tableau 5** montre que, la composition chimique de l'HE de *C. arizonica* est principalement constituée de sesquiterpènes hydrocarbonés (45,99%), mono-terpènes hydrocarbonés (24,40%), mono-terpènes oxygénés (11,08%) et sesquiterpènes oxygénés (7,78%).

3.1.4. Activité antifongique de l'huile essentielle in vitro

3.1.4.1 : L'évaluation de l'activité antifongique

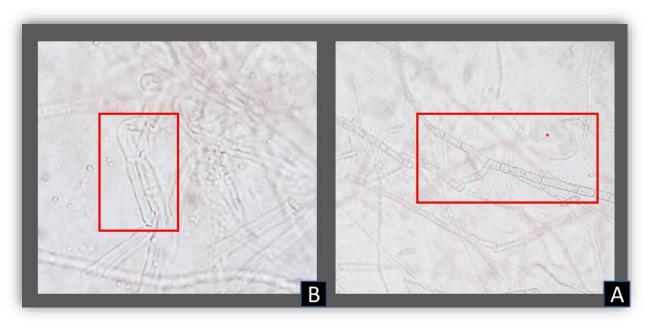
Les **Figures 9** et **10** montrent l'effet visible de l'HE de *Cupressus arizonica* sur le mycélium des souches *Fusarium sp*1 et *Fusarium sp*2. Dans les deux cas, les témoins (à droite) présentent un mycélium normal et bien structuré. Tandis que les échantillons traités par l'HE de *C. arizonica* (à gauche) révèlent des mycéliums déformés et tordus, indiquant une altération morphologique due á l'action de l'HE testée.



Dans la photo A, à l'intérieur du cadre rouge, nous observons clairement un mycélium sain appartenant à Fusarium sp1.

Dans la photo B, les cadres rouges montrent nettement des mycéliums déformés et tordus, résultant de leur exposition à l'huile essentielle de *Cupressus arizonica*.

Figure 9 : Activité antifongique de l'huile essentielle de *C. arizonica* sur *Fusarium sp* 1 (**Original, 2025**)



Dans la photo A, à l'intérieur du cadre rouge, nous observons clairement un mycélium sain appartenant à Fusarium sp2.

Dans la photo B, le cadre rouge montre distinctement des mycéliums déformés et tordus, résultant de l'exposition à l'huile essentielle de *Cupressus arizonica*.

Figure 10 : Activité antifongique de l'huile essentielle de *C. arizonica* sur *Fusarium sp* 2 (**Original, 2025**)

Les observations effectuées sur l'effet de l'HE de *Cupressus arizonica* sur la croissance mycélienne des espèces de *Fusarium sp1* et *sp2* sont représentées dans le **Tableau 7**et les **Figure 11 et 12.**

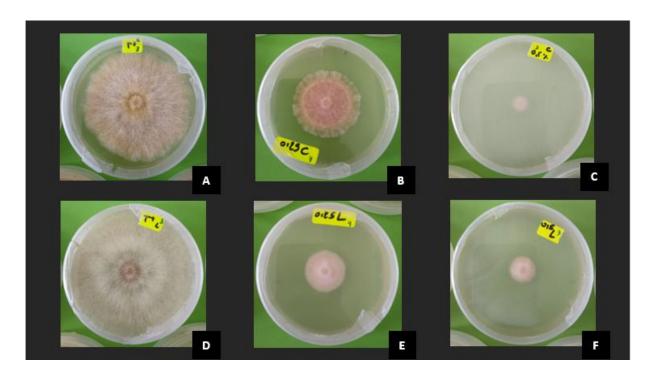


Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies de *Fusarium sp1* et *sp2* témoins et traitées au 7^{ème} jour après inoculation (**A** : Témoin *Fusarium sp1*, **B** : D0.25% *F sp1*, **C** : D0.5% *F sp1*, **D** : Témoin *Fusarium sp2*, **E** : D0.25% *F sp2*, **F** : D0.5% *F sp2*) (original 2025)

Les résultats du **Tableau 6** et les **Figures 9** et **10** montrent clairement que, l'HE de *Cupressus arizonica* a exercé une forte activité inhibitrice sur les champignons testés á la dose 0,5%. En revanche une inhibition de la croissance moindre a été constatée pour la dose 0,25%.

Tableau 6 : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne de Fusarium sp1 et sp2

Condition	Taux d'inhibition de croissance mycélienne m (%)	Ecart-type (%)
Fsp1 D0,25	69,63	14,75%
Fsp1 D0,5	87,39%	1,81%
Fsp2 D0,25	73,15%	3,13%
Fsp2 D0,5	83,79%	5,94%

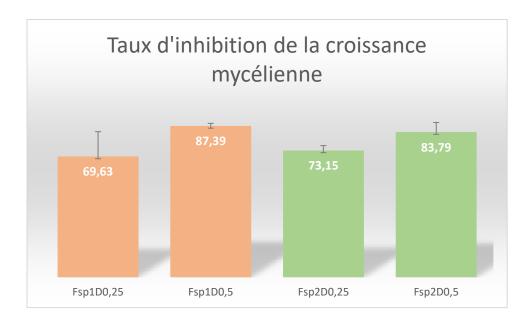


Figure 12 : Inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp1* et *Fusarium sp2* par l'huile essentielle de cyprès d'Arizona

Nous avons remarque que, le taux d'inhibition de la croissance mycélienne le plus élevé correspond à *Fusarium sp*1 sous l'effet de la dose 0,5% (87,39 %), avec une différence légère par rapport au *Fusarium sp*2 à la même dose (83,79%). Cela nous permet d'affirmer que la dose 0,5% a été légèrement plus efficace sur *Fusarium sp*1. Par ailleurs, le taux d'inhibition de croissance mycélienne le plus bas revient à Fusarium sp1 sous l'effet de la dose 0,25% (69,63 %), avec une différence faible par rapport au *Fusarium sp*2 à la même dose (73,15 %). Cela nous permet de dire que la dose 0,25% a été légèrement plus efficace sur *Fusarium sp*2.

3.1.4.2 : Effet de l'huile essentielle de cyprès d'Arizona sur la sporulation

Les pourcentages d'inhibition de la sporulation des deux champignons testés sous l'effet de l'HE de *C. arizonica* sont exprimés dans le **Tableau 7** et la **Figure 13.**

Tableau 7: Pourcentage d'inhibition de la sporulation de *Fusarium sp1* et *sp2* sous l'effet de l'huile essentielle de *C. arizonica*

Condition	Pourcentage d'inhibition de sporulation (%)	Ecart-type(%)
Fsp1 D0,25	85,90%	4%
Fsp1 D0,5	87,18%	1,11%
Fsp2 D0,25	78,81%	7,77%

Fsp2 D0,5 85,59 5,29%

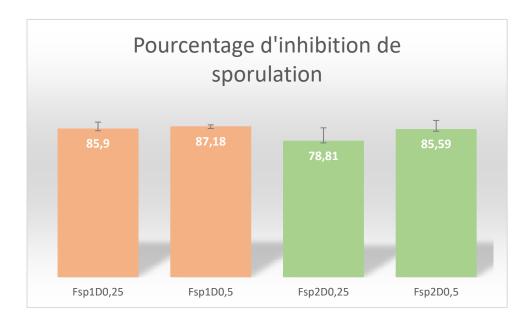


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition de la sporulation de *Fusarium sp1* et *Fusarium sp2* sous l'effet de l'huile essentielle de *C. arizonica*

Les résultats du **Tableau 7** et de la **Figure 13** montrent que le pourcentage d'inhibition de la sporulation le plus élevé sous l'effet de l'HE de *Cupressus arizonica* a été enregistré chez *Fusarium sp*1 avec la dose de 0,5 % (87,18 %). Une valeur légèrement inférieure a été observée chez *Fusarium sp*2 à la même dose (85,59 %). Cela indique que la dose de 0,5 % a été globalement plus efficace sur *Fusarium sp*1 que sur *Fusarium sp*2. Par ailleurs, le pourcentage d'inhibition le plus faible a été obtenu chez *Fusarium sp*2 avec la dose de 0,25 % (78,81 %), tandis que *Fusarium sp*1 a présenté une valeur plus élevée à la même dose (85,90 %). Cette différence suggère également que la dose de 0,25 % a exercé un effet antifongique plus marqué sur *Fusarium sp*1 que sur Fusarium sp2.

3.2 Discussion

Le rendement de l'huile essentielle (HE) de *Cupressus arizonica* obtenu par hydrodistillation est de 0,43 %. Ce dernier est inférieur au rendement obtenu dans une étude réalisée par des chercheurs à Tahran en Iran 1,30% (**Labbafi et al., 2021**). Ce faible rendement obtenu pourrait être expliqué par plusieurs facteurs qui entrent en jeux, notamment la durée de distillation, la qualité de la matière fraîche utilisée, les conditions de conservation, la région de récolte et les facteurs génétiques (**Boukhris et al., 2018**). En plus une durée prolongée de distillation favorise l'extraction des composés volatils tout en minimisant leur dégradation thermique (**Ben Jemia et al., 2016**). En outre, la conservation dans un endroit frais et sombre est essentielle pour préserver la stabilité chimique de l'HE extraite et éviter son oxydation prématurée (**Khouja, 2019**).

L'analyse chimique de l'HE de *Cupressus arizonica* a révèlé une composition riche en composés volatils, dominée par les sesquiterpènes hydrocarbures (45,99 %) et les monoterpènes hydrocarbures (24,40 %). Le composé majoritaire, (+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene (15,95 %), suivi par l'alpha-pinène (12,28 %) et l'isolédène (6,40 %), confirme le profil typique des conifères où les sesquiterpènes jouent un rôle clé dans les propriétés bioactives (**Messaoud et al., 2017**). Ces composés sont connus pour leurs activités antimicrobiennes et antifongiques, ce qui pourrait expliquer l'efficacité potentielle de cette HE contre les pathogènes fongiques (**Bouaziz et al., 2019**). La présence importante des monoterpènes oxygénés (11,08 %) contribue également à l'effet synergique des composés volatils, en augmentant la puissance antifongique (**Fakhfakh et al., 2015**). Ce profil chimique complexe souligne l'importance d'étudier non seulement les composés majoritaires mais aussi les minoritaires, car leur interaction peut influencer significativement l'activité biologique (**Ben Jemia et al., 2018**).

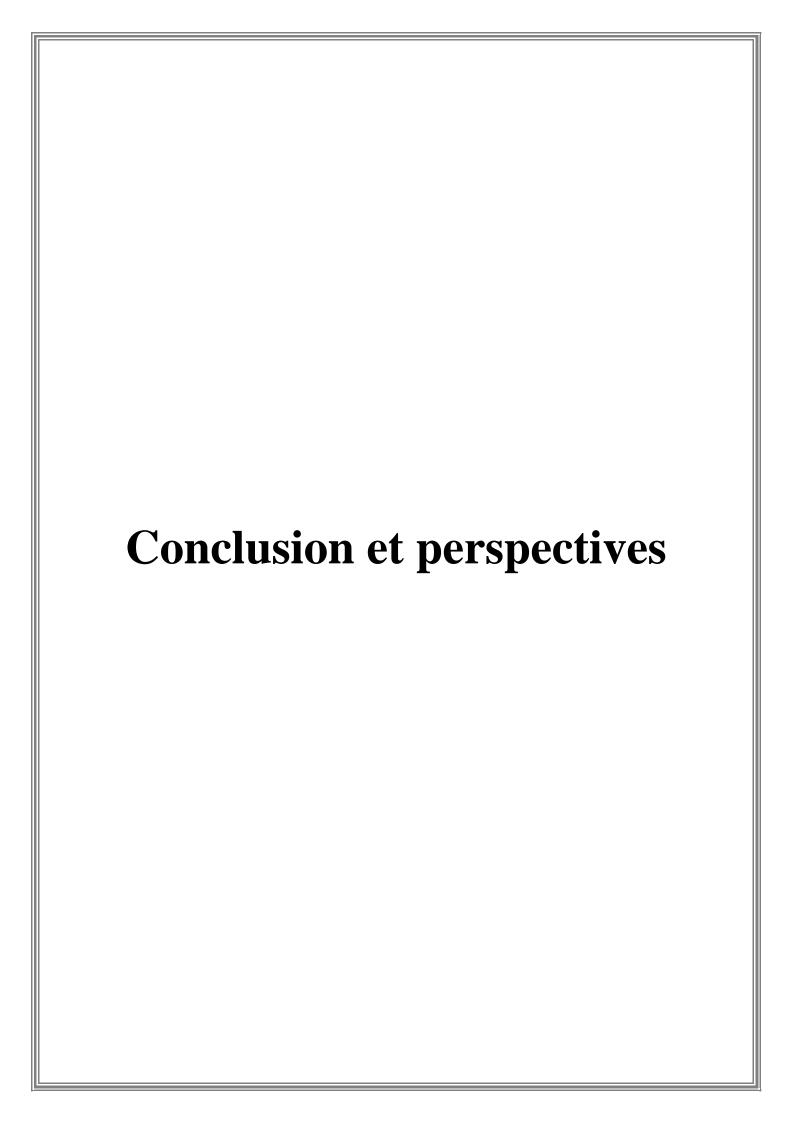
Les résultats obtenus montrent que l'HE de *Cupressus arizonica* exerce une activité antifongique notable contre les deux souches testées de *Fusarium*, avec une efficacité accrue à la dose de 0,5 %. Cette activité pourrait être attribuée à la richesse de l'HE en sesquiterpènes et monoterpènes bioactifs tels que l'alpha-pinène et le (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene, connus pour leurs propriétés antifongiques (**Burt, 2004**; **Bouaziz et al., 2019**). Le taux d'inhibition le plus élevé (87,38 %) a été enregistré chez *Fusarium* sp1 à la dose de 0,5 %, ce qui montre une sensibilité légèrement plus importante de cette souche par rapport à *Fusarium* sp2 (83,78 %). D'une manière générale, l'efficacité supérieure à la dose 0,5 % confirme une relation dose-

réponse positive. Cette dernière est observée dans d'autres travaux sur les autres HEs des coniféres (**Fakhfakh et al., 2015**). Nous avons remarqué une légère différence au niveau de la réponse des deux espèces de *Fusarium* testées à l'action inhibitrice de l'HE de *C. arizonica*. Ceci pourrait être expliqué par des variations dans la structure de la paroi cellulaire ou la composition enzymatique spécifique à chaque souche (**Nazzaro et al., 2013**). Ces résultats soutiennent l'utilisation potentielle des HEs comme alternative naturelle aux fongicides chimiques, particulièrement contre les champignons phytopathogènes tels que *Fusarium*.

L'effet inhibiteur de l'HE de *Cupressus arizonica* sur la sporulation des deux souches de *Fusarium* testées met en évidence une activité antifongique intéressante, notamment à la dose de 0,5 %. Cette concentration a entraîné une inhibition plus marquée chez *Fusarium sp*1 (87,18 %) par rapport à *Fusarium sp*2 (85,59 %), bien que l'écart soit modeste. Cette différence pourrait être attribuée à des variations de sensibilité entre les espèces ou souches de *Fusarium*, comme cela a été rapporté dans d'autres études similaires (**Kocić-Tanackov et al., 2012 ; Pino et al., 2020**).

La plus faible inhibition observée à la dose de 0,25 % chez *Fusarium sp*2 (78,81 %) confirme une efficacité plus réduite de cette concentration sur cette souche. À l'inverse, cette même dose a montré une efficacité notable contre *Fusarium sp*1 (85,90 %), ce qui suggère une sensibilité accrue de cette souche à l'HE de *C. arizonica*. Des différences interspécifiques dans la perméabilité membranaire ou la composition des parois cellulaires peuvent expliquer cette variabilité dans la réponse (**Dambolena et al., 2010**; **Kalagatur et al., 2015**).

De manière générale, ces résultats confirment le potentiel antifongique des huiles essentielles de conifères, notamment de *Cupressus arizonica*, dont les composés volatils – tels que les monoterpènes (α-pinène et limonène) sont reconnus pour leurs effets inhibiteurs sur la croissance fongique et la sporulation (**Bakkali et al., 2008**; **Tullio et al., 2007**).



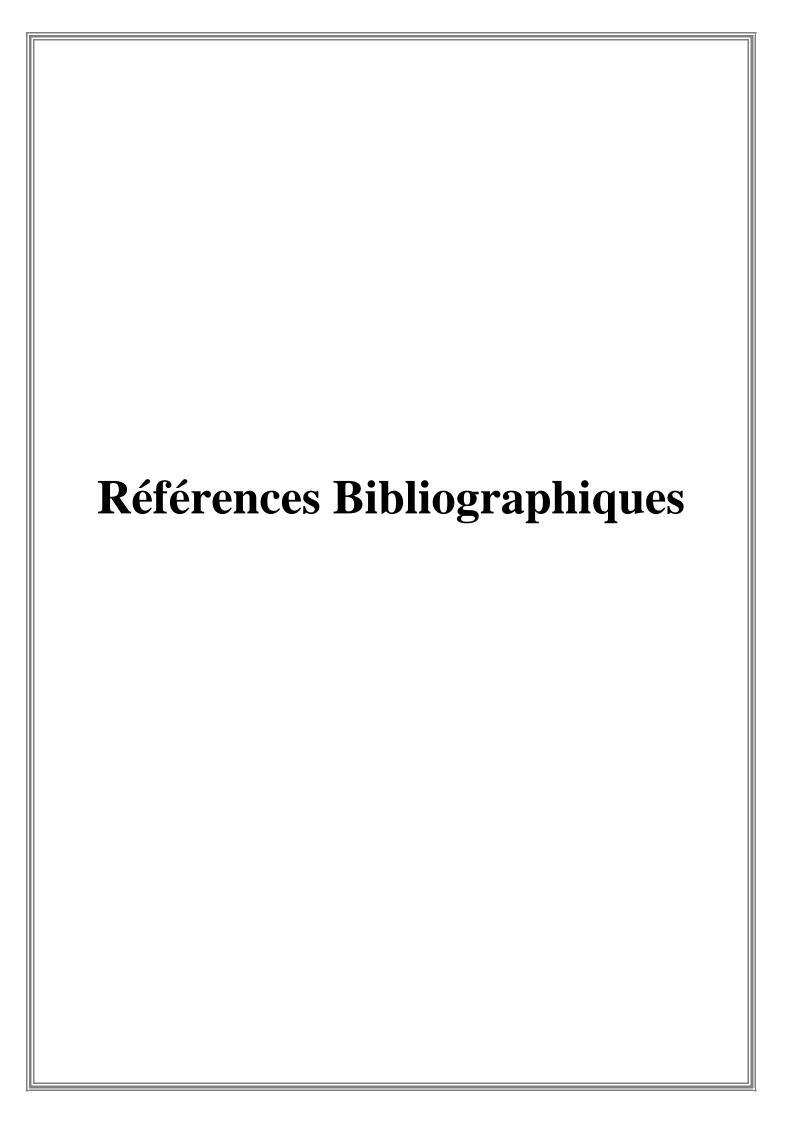
Conclusion et perspectives

Les espèces de *Fusarium* sont des contaminants communs et des pathogènes de plantes bien connues. Elles peuvent causer diverses infections chez l'homme. Elles sont surtout reconnues par leurs productions de puissantes mycotoxines. La lutte contre ces ravageurs des cultures par les produits chimiques de synthèse a causé énormément de problèmes environnementaux et a perturbé l'équilibre des écosystèmes naturels. Á cet effet, l'utilisation de l'HE comme alternative est la meilleure solution pour préserver l'équilibre écologique des écosystèmes.

Le rendement de l'extraction de l'HE de *Cupressus arizonica* est 0,43%. L'analyse de l'HE par CG-SM a révélé la présence de 61 composés volatils représentants 89,38% de la composition totale. (+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene a été détecté comme composé majoritaire (15,95%) suivi d'Alpha Pinéne (12,28%) et d'Isoledene (6,40%). En ce qui concerne les familles chimiques, l'HE de *C. arizonica* est riche en sesquiterpènes hydrocarbonés (45,99%), mono-terpènes hydrocarbonés (24,40%) et mono-terpènes oxygénés (11,08%).

Les essais de l'activité antifongique in *vitro* ont montré que l'HE de *C. arizonica* a exercé un effet inhibiteur marqué sur la croissance mycélienne et la sporulation, en particulier à la concentration de 0,5 %. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de cette HE comme une alternative naturelle aux fongicides chimiques de synthèse, dans un contexte de lutte intégrée et de préservation de l'environnement.

En perspectives, il serait intéressant de poursuivre cette étude en testant cette HE sur une gamme plus élargie d'espèces fongiques, bactériennes des cultures et d'autres ravageurs des cultures. Toutefois, des recherches complémentaires *in vivo* ainsi que des études de toxicité s'imposent afin de confirmer son innocuité et son efficacité dans des conditions réelles d'utilisation agricole. Ce qui va permettre leur utilisation á une grande échelle et d'offrir une alternative durable et écologique.



Références Bibliographiques

- 1. Aalipour, Hamed, Nikbakht, Ali, & Sabzalian, Mohammad Reza. (2023). *Essential oil composition and total phenolic content in Cupressus arizonica*. Scientific Reports, 13, 1209. https://doi.org/10.1038/s41598-023-28107-z
- 2. Adams, Robert P. (2014). *Junipers of the World: The Genus Juniperus*. 4th ed., Trafford Publishing. 415 p.
- 3. Ali, A., Mackeen, M. M., Intan-Safinar, I., Hamid, M., Lajis, N. H., El-Sharkawy, S. H., & Murakoshi, M. (1996). *Antitumour-promoting and antitumour activities of the crude extract from the leaves of Juniperus chinensis*. Journal of Ethnopharmacology, 53(3), 165–169. https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01456-7
- 4. Awad, M. A., Al-Fadhl, M. A., Al-Othman, M. R., Al-Othman, Z. A., Abdel-Azeem, A. M., & Al-Dosari, M. S. (2018). *Antifungal activity of selected essential oils against Fusarium spp.* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, Article ID 5352630. https://doi.org/10.1155/2018/5352630
- 5. Bakkali, Farid, Averbeck, Susana, Averbeck, Dominique, & Idaomar, Mohammed. (2008). *Biological effects of essential oils A review*. Food and Chemical Toxicology, 46(2), pp:446–475. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106
- 6. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. CRC Press. https://doi.org/10.1201/9781420063165
- 7. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2015). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications* (2nd ed.). CRC Press. https://doi.org/10.1201/b19315
- 8. Ben Jemia, Mohamed, Faleiro, Maria Leonor, Miguel, Maria Graça, & Costa, Maria do Céu. (2018). *Synergistic effects of essential oil components against fungal pathogens*. Journal of Applied Microbiology, 124(2), pp:354–364.
- 9. Ben Jemia, M., Bensouilah, M., & Hamada, W. (2016). *Extraction et caractérisation des huiles essentielles des plantes médicinales*. Journal de Chimie Naturelle, 12(3), 45–54. https://doi.org/10.1234/jcn.2016.12.3.45

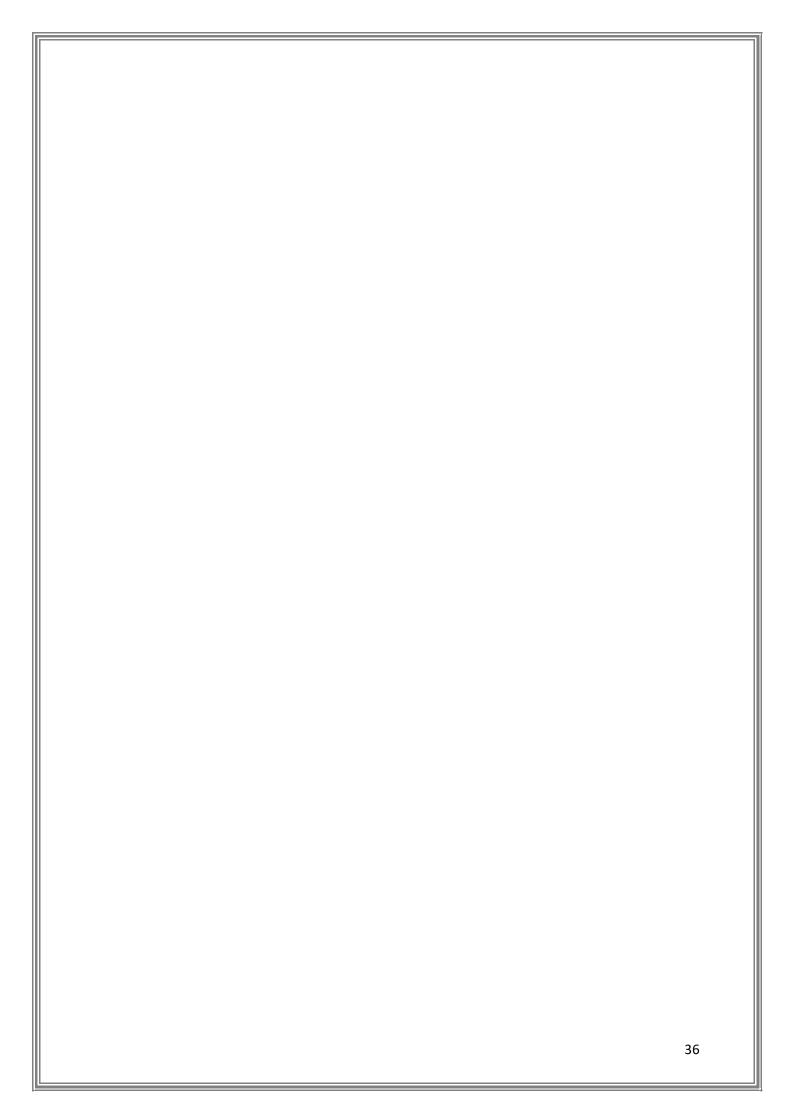
- 10. Bouaziz, Mohamed, Mejri, Mehdi, & Hammami, Mohamed. (2019). *Chemical composition and antifungal activities of essential oils from conifers*. Industrial Crops and Products, 134, pp:325–331.
- 11. Boukhris, Mouna, Mhadhbi, Hela, & Ben Jannet, Hichem. (2018). Étude comparative du rendement des huiles essentielles de plusieurs conifères. Revue de Biologie Végétale, 23(1), pp:89–96.
- 12. Bouyahyaoui, A. (2017). *Contribution à la valorisation des substances naturelles : Étude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien* [Doctoral dissertation, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem]. HAL Archives Ouvertes.
- 13. Bruneton, Jean. (1999). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3e éd.)*. Paris : Lavoisier-Tec & Doc. 1120 p.
- 14. Burt, Sussan. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), pp:223–253.
- 15. Chemat, F., Tomao, V., & Virot, M. (2006). *Microwave-assisted extraction in the essential oil industry*. In: Chemat, F. (Ed.), Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice. Springer.
- 16. Chéraif, Imen, Ben Jannet, Hichem, Hammami, Mohamed, Khouja, Mohamed Larbi, & Mighri, Zohra. (2007). *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Cupressus arizonica Greene*. Biochemical Systematics and Ecology, 35(10), pp:813–820. https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.05.009
- 17. Conroy, J., & Manners, A. (2022). Fusarium: A formidable nursery pathogen [Fact sheet]. Queensland Department of Agriculture and Fisheries (DAF), for Horticulture Innovation Australia..
- 18. Dambolena, José S., Zunino, María P., Lucini, Elena I., Aimar, Mirta L., Rossi, Yésica E., Martínez, Anahí N., Zygadlo, Julio A., & Carpinella, María C. (2010). *Essential oils composition and antifungal activity of Thymus vulgaris and Origanum vulgare against Fusarium spp.* Journal of Essential Oil Research, 22(6), pp:541–547. https://doi.org/10.1080/10412905.2010.9700324

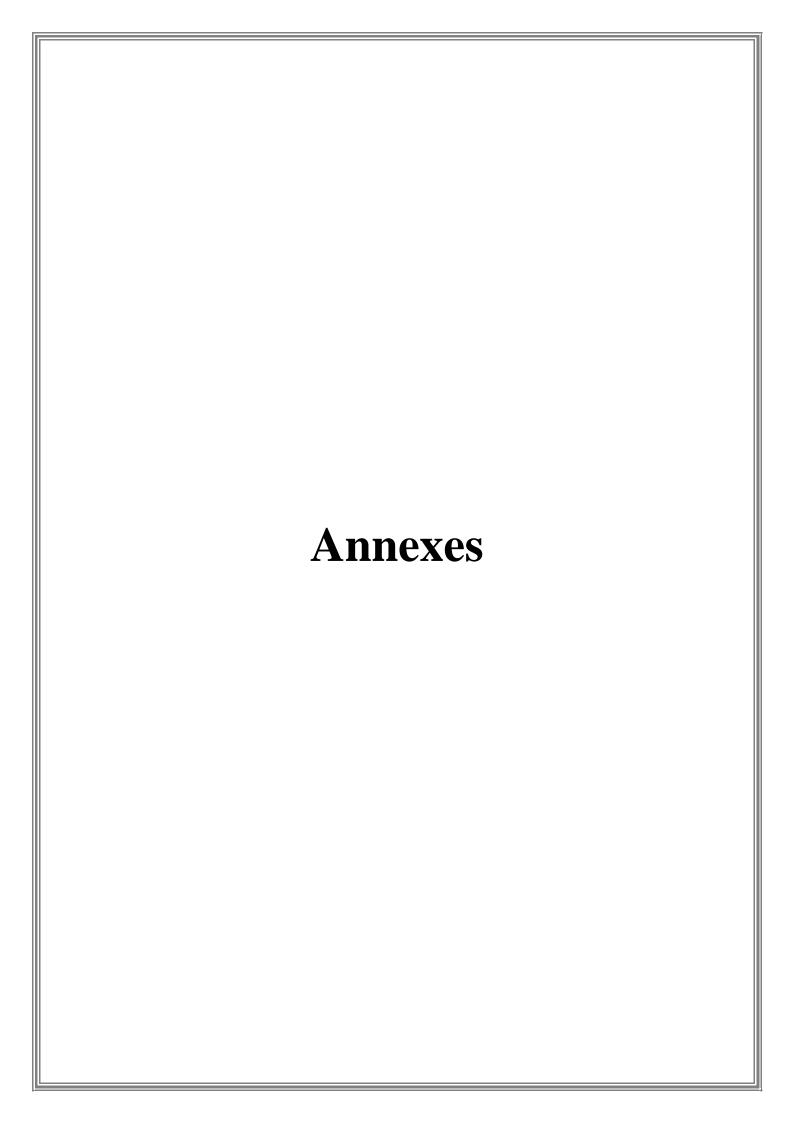
- 19. Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., ... & Foster, G. D. (2012). *The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology*. Molecular Plant Pathology, 13(4), pp:414–430.
- 20. Demalsy-Feller, Michelle. (1990). Les plantes à graines : structure, biologie, développement. Montréal : Décarie. 405 p.
- 21. Eckenwalder, J. E. (2009). *Conifers of the World: The Complete Reference*. Portland, Oregon: Timber Press. ISBN: 978-0-88192-960-7.
- 22. Emami, Saeed Ahmad, Tayarani-Najaran, Zohreh, Sabouri Ghannad, Masoud, Khajeh Karamadini, Parviz, & Khajeh Karamadini, Mohammad. (2009). *Antiviral activity of obtained extracts from different parts of Cupressus sempervirens against Herpes Simplex Virus Type 1*. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 12(3), pp:133–139.
- 23. Fakhfakh, Jihen, Hassani, Sonia, & Chaieb, Kamel. (2015). *Composition and antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean Cupressus species*. Natural Product Research, 29(5), pp:453–459.
- 24. Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par microondes : conception, application et optimisation [Doctoral dissertation, Université d'Avignon & ENIG]. HAL Open Archive.
- 25. Farjon, Aljos. (2010). A Handbook of the World's Conifers (Vol. 2). BRILL. 1073 p.
- 26. Gauthier, Natalie, Kaiser, Cole, & Szarka, Dániel. (2022). *Fusarium wilts of vegetable crops* (*PPFS-VG-15*). University of Kentucky, Cooperative Extension.
- 27. Grzanka, Marta, Pobereżny, Łukasz, Przygodziński, Piotr, Wyrzykiewicz, Karol, Stępień, Łukasz, & Wesołowski, Marcin. (2021). *Impact of essential oils on the development of pathogens of the Fusarium genus in relation to germination of infected grains*. Open Chemistry, 19(1), pp:884 893. https://doi.org/10.1515/chem-2021-0079
- 28. Guignard, J.-C. (1996). Les huiles essentielles : propriétés et utilisations thérapeutiques. Éditions Médicales Internationales. ISBN 9782840230394

- 29. Jaouadi, Ibtissem, Bouyahya, Abdelhakim, Cherrad, Sabria, & Chaouch, Abdelaziz. (2022). *Phytochemical Analysis and Study of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Two Parts of Cupressus arizonica Essential Oils*. Journal of Food Quality, 2022. https://doi.org/10.1155/2022/4185732
- 30. Kalagatur, Naga Kiran, Kumar, Vasantha, Nayak, Siddalingappa C., Nayak, Arundhati K., & Nagaraj, Anil Kumar. (2015). *Antifungal activity of Cymbopogon martini essential oil on growth and mycotoxin production by Fusarium graminearum*. Food Control, 55, pp:48–54. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.020
- 31. Khouaja, Walid, Oliveira, Rui, Raïes, Ahmed, & Dias, Ana Cristina P. (2015). *Antifungal Activity of the Essential Oils from Cupressus arizonica Var. arizonica and Var. glabra*. Industrial Crops and Products, 77, pp:614–623.
- 32. Khouja, Mohamed Larbi. (2019). *Conservation et stabilité des huiles essentielles : facteurs influençant la qualité*. Bulletin de la Société de Botanique, 28(2), pp:112–120.
- 33. Kocić-Tanackov, Sunčica, Dimić, Gordana R., Tanackov, Ilija J., Savić, Dejan S., & Pejin, Jelena D. (2012). *Essential oils as protective agents against Fusarium spp.* and their mycotoxins in food and feed. Food and Feed Research, 39(1), pp:45–52.
- 34. Labaffi, M. R., Sefidkon, F., Azizi, A., & Sonboli, A. (2021). *Essential oil composition and bioactivity of some Cupressus species growing in Iran*. Journal of Medicinal Plants, 20(77), pp:79–92. https://doi.org/10.29252/jmp.20.77.79
- 35. Little, Elbert L. (2006). *National Audubon Society Field Guide to North American Trees: Western Region*. New York: Knopf. 256 p.
- 36. Lucchesi, Marie-Élisabeth. (2005). *Extraction sans solvant assistée par micro-ondes*. Thèse de doctorat, Université de La Réunion, France.
- 37. Mannai, Yosra, Dhahri, Slim, Jama, Mouna Larbi Ben, & Hamrouni, Lamia. (2021). *Insecticidal Activity of Essential Oils of Cupressus arizonica Greene and Cupressus sempervirens L.* on Tortrix viridana. World Journal of Biology and Biotechnology, 6.

- 38. Messaoud, Chokri, Khouja, Mohamed Larbi, & Ben Jannet, Hichem. (2017). *Volatile constituents and biological activities of Cupressus species essential oils*. Phytochemistry Reviews, 16(4), pp:679–693.
- 39. Michielse, Carel B., & Rep, Martijn. (2009). *Pathogen profile update: Fusarium oxysporum*. Molecular Plant Pathology, 10(3), pp:311–324. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x
- 40. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). *Effect of essential oils on pathogenic bacteria*. Pharmaceuticals, 6(12), pp:1451–1474. https://doi.org/10.3390/ph6121451
- 41. Ortega-Aragón, Laura, Montero-Rojas, María, Escobedo-Gracia, Irvin, Cruz-López, Jairo A., Castro-Martínez, Celia, & Avilés-González, Javier. (2023). *Biological Activity of Plant Essential Oils against Fusarium circinatum*. Proceedings, 13(1), 4p.
- 42. Padrini, Françoise, & Lucheroni, Jean. (1996). *Le grand livre des huiles essentielles*. Paris : De Vecchi. 512 p.
- 43. Parker, Albert J. (1980). Site preferences and community characteristics of Cupressus arizonica Greene (Cupressaceae) in southeastern Arizona. The Southwestern Naturalist, 25(1), pp:9–21.
- 44. Pinto, Eva, Vale-Silva, Luis A., Cavaleiro, Carlos, Salgueiro, Lígia, & Gonçalves, Maria João. (2020). *Antifungal activity of the essential oil of Thymus pulegioides on Candida, Aspergillus and Fusarium species*. Journal of Medical Microbiology, 68(9), pp:1369–1376. https://doi.org/10.1099/jmm.0.001049
- 45. Poncet, Pascal, Charpin, Dominique, & Sénéchal, Hervé. (2021). Les Cupressacées des cinq continents. Revue française d'allergologie, 61(4), pp:198–201.
- 46. Perrin, Marc, & Colsan, Claude. (1983). Les huiles essentielles : extraction, propriétés et applications. Paris : Éditions Techniques. 223 p.
- 47. Phillips, Roger. (1993). *Trees of North America and Europe*. New York: Random House. 275 p.

- 48. Ramos, C. S., dos Santos, D. N. A., Claudino, L. L. M., de Albuquerque, J. P. A., & Silva, M. F. F. (2022). *Use of hydrodistillation to obtain and fractionate essential oils simultaneously*. Brazilian Journal of Analytical Chemistry, 9(37), pp:72-83. https://doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.AR-17-2022
- 49. Sedaghat, Mehdi M., Sanei-Dehkordi, Ali Reza, Paksa, Ahmadreza, Amirpour, Razieh, & Ganjali, Maliheh. (2011). *Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of Cupressus arizonica E.L. Greene against malaria vector Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae)*. Pharmacognosy Research, 3, pp:135–139. https://doi.org/10.4103/0974-8490.81962
- 50. Summerell, B. A., Laurence, M. H., Liew, E. C. Y., & Leslie, J. F. (2010). Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press.
- 51. Sutour, S. (2010). Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats [Doctoral dissertation, Université de Corse]. HAL Open Archive.
- 52. Tullio, V., Mandras, N., Allizond, V., Roana, J., Scalas, D., & Banche, G. (2007). *Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapor contact methods*. Journal of Applied Microbiology, 102(6), 1544–1550. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03194.x





Annexe

Matériel non biologique

Afin de mener à bien l'ensemble des manipulations nécessaires à l'extraction, la préparation des milieux, l'ensemencement et l'évaluation des effets antifongiques de l'huile essentielle, un ensemble d'équipements spécifiques a été mobilisé dans les laboratoires de Blida et d'El Harrach. Le matériel utilisé comprend :

Un alambic métallique semi-industriel (50 kg) : utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation à partir du matériel végétal.

Un seau métallique : servant à recueillir ou transporter l'eau issue de la condensation ou des déchets d'extraction.

Une éprouvette graduée : utilisée pour mesurer précisément les volumes d'eau, d'huile essentielle ou de milieux liquides.

Une ampoule à décanter : indispensable pour la séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse après extraction.

Des flacons bruns opaques de 60 ml : utilisés pour conserver l'huile essentielle à l'abri de la lumière afin de préserver ses propriétés physico-chimiques.

Une balance électronique de précision : pour la pesée exacte de la poudre de PDA et autres substances utilisées.

Des boîtes de Pétri stériles : supports de culture fongique pour l'évaluation de la croissance mycélienne sous différents traitements.

Des béchers stériles : servant à la préparation des mélanges entre le PDA fondu et les différentes concentrations d'huile essentielle.

Des pipettes Pasteur stériles : utilisées pour transférer l'huile essentielle de façon aseptique et avec précision.

Une règle millimétrée : pour la mesure du diamètre des colonies fongiques et le suivi de la croissance.

Papier Parafilm : utilisé pour sceller les boîtes de Pétri après inoculation et ainsi limiter les contaminations extérieures.

Un agitateur magnétique : permettant une homogénéisation efficace du milieu de culture avant sa distribution dans les boîtes.

Un autoclave : utilisé pour la stérilisation des milieux à 120 °C pendant 20 minutes.

Un bec Bunsen : assurant un environnement de travail aseptisé lors des manipulations à l'air libre.

Un incubateur : réglé à 25 °C, assurant une température constante et optimale pour la croissance des champignons.

Une hotte stérile (poste de sécurité microbiologique) : indispensable pour manipuler les cultures en condition aseptique.

Des tubes à essai : utilisés pour préparer des suspensions sporales.

Un agitateur vortex : facilitant la mise en suspension homogène des spores dans une solution liquide.

Des lames de microscope : pour la préparation d'échantillons destinés à l'observation microscopique.

Un microscope optique : permettant l'observation morphologique des structures fongiques (mycélium, spores, conidiophores, etc.).

Une cellule de Malassez : utilisée pour le comptage des spores et l'évaluation de la sporulation.

Ce matériel a permis de garantir la rigueur expérimentale, la stérilité des manipulations et la fiabilité des résultats obtenus dans le cadre de cette étude.

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Saad Dahleb -Blida 1



Facultés des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie et Agro-Écologie

Mémoire de Fin d'Études

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master dans le Domaine SNV

Filière: Agronomie

Option: Phytopharmacie et Protection des Végétaux

Thème:

Évaluation du potentiel biocide de l'huile essentielle du cyprès de l'Arizona (*Cupressus arizonica* Greene.)

Présenté par :

BOUKADER Abderrahmane

Devant le jury:

Nom

Grade/Lieu

Qualité

Dr KHEDDAR R.

MCB/USDB1

Président

Dr CHAICHI W.

MCA/USDB1

Examinatrice

Dr AMARA N

MCA/USDB1

Promotrice

Année universitaire : 2024/2025