

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master :

**Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales
et des Produits Naturels**

Valorisation des extraits de *Lavandula stoechas* L. de la
région de Blida vis-à-vis des moisissures des fruits au cours du
stockage et de la conservation

Présenté publiquement le : 12/09/2017
par **BENKHELIL Mohamed Echerif**

Devant le jury :

Mme Benfékih-Allal, L. Pr. USDB Présidente

Mme Moumene, S. MCB USDB Directrice de Mémoire

Mlle Chebata, N. MAA USDB Examinatrice

Mr Bendali, A. MAA USDB Invité

Année Universitaire 2016 – 2017

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master :

**Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales
et des Produits Naturels**

Valorisation des extraits de *Lavandula stoechas* L. de la
région de Blida vis-à-vis des moisissures des fruits au cours du
stockage et de la conservation

Présenté publiquement le : 12/09/2017
par **BENKHELIL Mohamed Echerif**

Devant le jury :

Mme Benfékih-Allal, L. Pr. USDB Présidente

Mme Moumene, S. MCB USDB Directrice de Mémoire

Mlle Chebata, N. MAA USDB Examinatrice

Mr Bendali, A. MAA USDB Invité

Année Universitaire 2016 – 2017

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu le tout puissant pour m'avoir accordé la patience, la force et les moyens pour réaliser ce modeste travail.

Bien sûr, je ne serais arrivé ici sans la bienveillance et les sacrifices de mes parents. Le mérite de ce travail leur revient donc avant moi-même.

Mes remerciements vont également à Mme. Moumene S., ma directrice de mémoire, pour son aide généreuse depuis le début du travail, et surtout pour m'avoir poussé à donner le meilleur de moi-même.

J'aimerais exprimer mes vifs remerciements au Pr. Benfékih-Allal L. pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury, et notre chère enseignante Chebata N. d'avoir accepté d'être mon examinatrice.

Je remercie vivement Mr. Bellatrach M. et Mr. Serir B. de l'INPV pour m'avoir offert leur aide et leur temps. Ainsi que les ingénieurs des laboratoires du département de Biotechnologies, de même que Fatima Zohra et Hadjer du Laboratoire de Recherche sur les Plantes Médicinales et Aromatiques.

Je tiens aussi à remercier infiniment tous ceux qui m'ont offert leur aide inconditionnelle ; Je pense particulièrement à M'hamed, sans qui ce travail n'aurait pu débiter. Ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, ceux qui m'ont encouragé et ceux qui ne m'ont pas oublié dans leurs prières.

Je ne pourrais conclure ces remerciements sans exprimer ma reconnaissance à tous les enseignants qui ont su me transmettre leur savoir : « Si j'ai vu plus loin, c'est en montant sur les épaules de géants » (Isaac Newton).

Benkhelil M. C.

*A Lella, ma mère et mon père,
A mes tantes Hadjira, Nabila et Bachéra,
A mes frères Hamza, Mehdi et Samir
A toute ma famille et mes proches
A mes amis et mes camarades d'étude,
A tous ceux qui me sont chères..*

Résumé

Valorisation des extraits de *Lavandula stoechas* L. de la région de Blida contre les moisissures des fruits au cours du stockage et de la conservation

Notre étude vise la recherche de solutions biologiques contre les contaminants fongiques des fruits au cours du stockage, par le biais des extraits de lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.). Cette étude comprend l'utilisation d'un matériel végétal représenté par la partie feuillue de la plante au stade fructification, et d'un matériel fongique composé des trois isolats fongiques de *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* et *Colletotrichum* sp. Ce matériel végétal a fait l'objet d'extraction d'huile essentielle et d'hydrolat par hydrodistillation, et la préparation de l'extrait aqueux par infusion et macération à froid. Le pouvoir antifongique des trois extraits de plante a été évalué par la méthode de contact direct à une concentration de 1/250^{ième} (0,4 %) pour l'huile essentielle, et 1/9^{ième} (11,1 %) pour l'hydrolat et l'extrait aqueux. Les potentialités inhibitrices ont été basées sur la croissance mycélienne, la sporulation et la survie, ainsi que la production des sclérotés chez *B. cinerea*. Cette première étape a été suivie par la méthode de micro-atmosphère, focalisée sur l'activité antifongique de la fraction volatile de l'huile essentielle de la plante testée à 60, 40 et 20 µl/disque, sur les isolats fongiques préalablement inhibés. L'huile essentielle testée à 1/250^{ième} a révélé le meilleur pouvoir antifongique avec une inhibition complète (100 %) de la croissance mycélienne et de la sporulation chez *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. L'inhibition de la production des sclérotés a été complète pour l'huile essentielle (100 %), très importante pour l'hydrolat (97,5 %) et modérée pour l'extrait aqueux (59,7 %). La méthode de micro-atmosphère a mis en exergue le pouvoir inhibiteur de la fraction volatile de l'huile essentielle, avec des taux d'inhibition importants sur *B. cinerea* (95,8 %) et *Colletotrichum* sp. (89,6 %). Une inhibition complète de la croissance mycélienne a été également enregistrée pour ces deux isolats aux concentrations 40 et 60 µl/disque. L'effet antifongique de l'huile essentielle s'est traduit par des modifications structurales telles que la lyse et la distorsion du mycélium, et la réduction du nombre de conidiophores et de conidies. Cependant, la survie des isolats après inhibition temporaire a confirmé son effet fongistatique. Ainsi, l'huile essentielle de *L. stoechas* a confirmé ses potentialités antifongiques *in vitro*, par la réduction d'inoculum de *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp., en vue de son utilisation dans le biocontrôle des fruits contre ces deux moisissures dans les lieux de stockage.

Mots-clés : *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp., *Penicillium digitatum*, Pouvoir antifongique, Huile essentielle de *Lavandula stoechas*.

Abstract

Valorization of *Lavandula stoechas* L. extracts from Blida region against postharvest fruit mold agents

Our study aims at finding biological solutions against postharvest fungal contaminants of fruits during storage, by means of *Lavandula stoechas* L. extracts. This study includes the use of plant material represented by the leafy part of the plant at the fructification stage, and a fungal material consisting of the three isolates: *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Colletotrichum* sp. Essential oil and hydrolate were extracted from the plant by hydrodistillation, while aqueous extract was obtained by infusion and cold maceration. The antifungal activity of the three plant extracts was evaluated by the direct contact method at a concentration of 1/250th (0.4%) for the essential oil and 1/9th (11,1%) for the hydrolate and aqueous extract. The inhibitory potentialities were based on mycelial growth, spore production and fungal survival, as well as the production of sclerotia by *B. cinerea*. This first step was then followed by the micro-atmosphere method, focused on the antifungal activity of the volatile fraction of the plant's essential oil at 60, 40 and 20 µl per disc, tested on the previously inhibited isolates. The essential oil tested at 1/250th showed the best antifungal activity with complete inhibition (100%) on the mycelial growth and spore production of *B. cinerea* and *Colletotrichum* sp. The inhibition of sclerotia production was complete for the essential oil (100%), highly significant for the hydrolate (97.5%) and moderate for the aqueous extract (59.7%). The micro-atmosphere test highlighted the inhibitory activity of the essential oil's volatile fraction, with high inhibition levels on *B. cinerea* (95.8%) and *Colletotrichum* sp. (89.6%). Complete inhibition was also recorded for both isolates at concentrations of 40 and 60 µl per disc. The antifungal effect of the essential oil resulted in structural modifications, such as lysis and distortion of the mycelium, and reduction of the frequency of conidiophores and conidia. However, the survival of the isolates after temporary inhibition confirmed its fungistatic effect. Therefore, the essential oil of *L. stoechas* confirmed its *in vitro* antifungal potential, by reducing the inoculum of *B. cinerea* and *Colletotrichum* sp., with a view to its use in the biocontrol of fruits against these two molds in storage areas.

Keywords: *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp., *Penicillium digitatum*, Antifungal activity, *Lavandula stoechas* essential oil.

ملخص

تثمين مستخلصات نبتة *Lavandula stoechas* L. مقتطفة بمنطقة البلدية ضد عفن الفاكهة أثناء التخزين والحفظ

تهدف دراستنا إلى إيجاد حلول بيولوجية ضد الفطريات المفسدة للفواكه أثناء التخزين، عن طريق مستخلصات الحلحال (*Lavandula stoechas* L.). تشمل هذه الدراسة استخدام مادة نباتية متمثلة في الجزء المورق من النبتة في مرحلة الإثمار، و مادة فطرية متمثلة في ثلاث عزلات فطرية: *Botrytis cinerea*، *Penicillium digitatum* و *Colletotrichum* sp. تم استخراج الزيت العطري و الحلال المائية من النبتة بواسطة التقطير، أما المستخلص المائي فتم إستخراجه عن طريق النقع و الانحلال البارد. تم تقييم فاعلية المستخلصات النباتية الثلاث ضد الفطريات بواسطة طريقة الالتماس المباشر، بتركيز 250/1 (0.4%) للزيت العطري و 9/1 (11.1%) للحلال و المستخلص المائي. وقد استند تقييم القدرة المثبطة للمستخلصات على نمو الغزل الفطري، إنتاج الأبواغ وإمكانية الفطر على البقاء على قيد الحياة، فضلاً عن إنتاج الأصاليب لدى *B. cinerea*. و أتبعنا هذه الخطوة الأولى بطريقة الجو الصغير (أو micro-atmosphère بالفرنسية) و التي ركزت على النشاط المضاد للفطريات، الخاص بالجزء المتطاير من الزيت العطري للنبتة الموظف بتركيز 60، 40 و 20 ميكرو لتر / القرص، على العزلات الفطرية المثبطة سابقاً. أظهرت النتائج أن الزيت العطري بتركيز 250/1 (كشفت عن أفضل نشاط مضاد للفطريات، مع تثبيط كامل (100%) لنمو الغزل الفطري و إنتاج الأصاليب لدى *B. cinerea* و *Colletotrichum* sp. تثبيط إنتاج الأصاليب كان كاملاً باستعمال الزيوت العطرية (100%)، قوياً بالحلال المائية (97.5%) و متوسطاً بالمستخلص المائي (59.7%). أبرزت طريقة الجو الصغير القدرة المثبطة للجزء المتطاير من الزيت العطري، بنسب عالية ضد *B. cinerea* (95.8%) و *Colletotrichum* sp. (89.6%). كما تم تسجيل تثبيط كامل لهاتين العزلتين بواسطة تركيز 40 و 60 ميكرو لتر / القرص. النشاط المضاد للفطريات الخاص بالزيت العطري كان لهو تأثيرات هيكلية، كتحلل و تشويه بنية الغزل الفطري و تخفيض عدد الأبواغ و حاملات الأبواغ. مع ذلك، قدرة الفطريات على استئناف نموها بعد تثبيط مؤقت أكدت أن نشاط الزيت العطري كان كايح للفطريات و ليس قاتل. و هكذا، أكدت الزيوت العطرية إمكاناتها المضادة للفطريات في المختبر (*in vitro*)، من خلال الحد من لقائح *B. cinerea* و *Colletotrichum* sp. بهدف استخدامها في الحفاظ على الفواكه عن طريق مكافحة الحيوية ضد هاتين الفطريات، على مستوى أماكن التخزين.

الكلمات المفتاحية : *Botrytis cinerea*، *Colletotrichum* sp.، *Penicillium digitatum*، نشاط مضاد للفطريات، مستخلصات *Lavandula stoechas*.

Liste des abréviations

ANOVA	Analyse de la variance (de l'anglais : ANalysis Of VAriance)
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
Dr.	Docteur
éd.	Edition
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (de l'anglais : Food and Agriculture Organization of the United Nations)
GLM	Modèle linéaire généralisé (de l'anglais : Generalized Linear Model)
Gr.	Grossissement
INPV	Institut National de la Protection des Végétaux
ISO	Organisation internationale de normalisation (de l'anglais International Organization for Standardization)
J.-C.	Jésus Christ
kPa	Kilo Pascal
m/m	Masse / masse
MAA	Maître Assistant classe A
MCB	Maître de Conférences classe B
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PDA	Agar de dextrose de pomme de terre (de l'anglais Potato Dextrose Agar)
Pr.	Professeur
SNV	Science de la Nature et de la Vie
sp.	Espèce
spp.	Espèces
USDB	Université Saad Dahleb Blida
v/v	Volume / volume

Liste des Figures

- Figure 1 : Partie aérienne fleurie de *Lavandula stoechas*, page 4.
- Figure 2 : Schéma du cycle biologique de *Botrytis cinerea*, page 10.
- Figure 3 : Pourriture grise sur une fraise, page 11.
- Figure 4 : Pourriture verte sur une orange, page 13.
- Figure 5 : Anthracnose sur des bananes, page 15.
- Figure 6 : Station de la récolte, page 30.
- Figure 7 : *Lavandula stoechas* dans son milieu naturel, page 30.
- Figure 8 : Séchage des échantillons récoltés, page 30.
- Figure 9 : Schéma du protocole expérimental, page 31.
- Figure 10 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*, page 38.
- Figure 11 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp, page 39.
- Figure 12 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum*, page 40.
- Figure 13 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés selon la méthode de contact direct en modèle GLM selon les isolats (a) et les extraits étudiés (b), page 41.
- Figure 14 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés selon la méthode de contact direct selon les extraits étudiés en modèle GLM, page 42.
- Figure 15 : Inhibition de la sporulation des isolats testés selon la méthode de contact direct par en modèle GLM selon les isolats (a) et les extraits étudiés (b), page 43.
- Figure 16 : Inhibition de la sporulation des isolats testés par la méthode de contact direct selon les extraits en modèle GLM, page 44.
- Figure 17 : Survie des isolats préalablement inhibés par l'effet de l'huile essentielle à 1/250^{ième}, page 45.
- Figure 18 : Effet des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sur la morphologie des isolats fongiques étudiés (Gr. × 500), page 46.
- Figure 19 : Inhibition de la production des sclérotés chez *Botrytis cinerea* testé par la méthode de contact direct en modèle GLM selon les extraits, page 47.
- Figure 20 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés par la méthode de la micro-atmosphère en modèle GLM selon les isolats (a) et les concentrations en huile essentielle employées (b), page 48.
- Figure 21 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés par la méthode de la micro-atmosphère selon les concentrations en huile essentielle en modèle GLM, page 49.
- Figure 22 : Inhibition de la production des sclérotés chez le *Botrytis cinerea* testé par la méthode de la micro-atmosphère en modèle GLM selon les concentrations employées, page 50.

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Exemples de fongicides employés sur les fruits pour augmenter la durée de leur période de stockage, page 16.

Tableau 2 : Isolats étudiés et leurs fruits d'origine, page 29.

Liste des Annexes

Annexe 1 : Distribution géographique de *Lavandula stoechas* dans la région Europe-Méditerranée.

Annexe 2 : Schéma d'un hydrodistillateur de type Clevenger comme décrit par la Pharmacopée Européenne (6e éd.).

Annexe 3 : Echantillon (partie aérienne) de *Lavandula stoechas* récolté et séché.

Annexe 4 : Suspension d'eau-agar (à 0,2%).

Annexe 5 : Préparation du milieu PDA.

Annexe 6 : Préparation de la concentration 1/250 v/v (0,4 %) de l'huile essentielle.

Annexe 7 : Préparation de la concentration 1/9 v/v (11,1 %) de l'hydrolat et de l'extrait aqueux.

Annexe 8 : L'huile essentielle (a), l'hydrolat (b) et l'extrait aqueux (c) obtenus à partir de la partie aérienne de *Lavandula stoechas*

Annexe 9 : Contamination d'une culture (*Penicillium digitatum*) traitée par l'extrait aqueux de *Lavandula stoechas*.

Annexe 10 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon la méthode de contact direct par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les extraits (b) et l'interaction de ces deux derniers (c).

Annexe 11 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les extraits (b) et l'interaction de ces deux derniers (c).

Annexe 12 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotés selon la méthode de contact direct par le test ANOVA selon les extraits.

Annexe 13 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon la méthode de micro-atmosphère par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les concentrations (b) et l'interaction de ces deux derniers (c).

Annexe 14 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotés selon la méthode de micro-atmosphère par le test ANOVA selon les concentrations.

Annexe 15 : Système de Mariotte modifié et fermé.

Table des matières

INTRODUCTION	1
Chapitre 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1 Généralités sur <i>Lavandula stoechas</i> L.	3
1.1 Taxonomie	3
1.2 Description botanique	3
1.3 Ecologie	4
1.4 Biologie	4
1.5 Importance thérapeutique et socio-économique	5
1.6 Travaux sur <i>Lavandula stoechas</i> et ses extraits	6
2 Généralités sur les fruits et leur conservation	6
2.1 Importance des fruits	6
2.2 Conservation et stockage	7
3 Généralités sur les moisissures des fruits en conservation	9
3.1 <i>Botrytis cinerea</i>	9
3.2 <i>Penicillium digitatum</i>	12
3.3 <i>Colletotrichum</i> sp.	14
4 Mesures de lutte en conservation	16
4.1 Lutte chimique	16
4.2 Lutte biologique	17
5 Les extraits de plantes	19
5.1 Les huiles essentielles	19
5.1.1 Définition et Extraction des huiles essentielles	19
5.1.2 Localisation	20
5.1.3 Caractéristiques physiques	21
5.1.4 Propriétés thérapeutiques	21
5.1.5 Importance économique	21

5.1.6 Composition chimique	22
5.2 L'hydrolat	23
5.2.1 Définition et Préparation	23
5.2.2 Intérêt et exploitation	23
5.2.3 Composition chimique	24
5.3 Les extraits aqueux	25
5.3.1 Extraction	25
5.3.2 Composition chimique	26
5.3.3 Propriétés	26
5.4 Les extraits alcooliques	26
5.4.1 Extraction	26
5.4.2 Composition chimique	27
5.4.3 Propriétés	27
6 Rendement en extrait de plante	27
7 Etude de l'activité antifongique	27
7.1 Méthode de contact direct	28
7.2 Méthode de micro-atmosphère.....	28
Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES	29
1 Matériel	29
1.1 Matériel fongique	29
1.2 Matériel végétal	29
2 Méthodes	31
2.1 Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat	31
2.2 Préparation de l'extrait aqueux	32
2.3 Calcul du rendement en extrait	32
2.4 Etude de l'activité antifongique des extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	32
2.4.1 Technique de contact direct	33

2.4.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne	34
2.4.1.2 Inhibition de la sporulation	34
2.4.1.3 Survie	35
2.4.1.4 Modifications de la morphologie des isolats testés	35
2.4.1.5 Etude de l'inhibition de la production des sclérotés chez <i>Botrytis cinerea</i>	35
2.4.2 Technique de la micro-atmosphère	36
2.5 Analyse statistique	36
Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	37
1 Rendement en huile essentielle	37
2 Etude de l'activité antifongique des extraits de <i>Lavandula stoechas</i>	38
2.1 Selon la technique de contact direct	38
2.1.1 Observations macroscopiques	38
2.1.2 Inhibition de la croissance mycélienne	40
2.1.3 Inhibition de la sporulation	43
2.1.4 Survie	45
2.1.5 Pouvoir antifongique des huiles essentielles sur la morphologie des isolats fongiques	46
2.1.6 Inhibition de la production des sclérotés chez <i>Botrytis cinerea</i>	47
2.2 Selon la technique de micro-atmosphère	48
2.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne	48
2.2.2 Inhibition de la production des sclérotés chez <i>Botrytis cinerea</i>	50
Chapitre 4 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
ANNEXES	

Introduction

Les fruits font partie intégrante de la nutrition humaine, ils sont recommandés dans le cadre d'une alimentation saine (Dauchet et *al.*, 2006). Leur détérioration et notamment celle d'origine fongique présente un défi d'ordre économique important, vu les dégâts et les pertes qui peuvent en découler (Sivakumar et Bautista-Baños, 2014). Pour limiter ces dégâts et augmenter la durée de conservation des fruits, l'utilisation des pesticides chimiques est le premier recours (Daferera et *al.*, 2003). Or, les conséquences négatives qu'ils peuvent présenter sur la santé de l'homme et de l'écosystème tout entier, ainsi que l'apparition de souches résistantes limitent leur utilisation (Tripathi et *al.*, 2008). Il est donc primordial de trouver une alternative biologique et durable, pour à la fois éviter les dangers de ces produits chimiques et augmenter la durée de conservation des fruits (Mari et *al.*, 2003 ; Zhang, 2011).

En effet, plusieurs études sur ce sujet ont présenté des résultats prometteurs en se basant sur les extraits de plantes. Comme la combinaison entre les huiles essentielles de l'origan et du romarin dans le contrôle d'*Aspergillus flavus* et *A. niger* des raisins de table (de Sousa et *al.*, 2013), Espagne ; l'utilisation de la fraction volatile de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* contre *Phyllosticta citricarpa* des agrumes (Lombardo et *al.*, 2016), Uruguay ; ou l'utilisation des extraits aqueux de huit plantes du genre *Cistus* contre *Geotrichum citri-aurantii* chez les agrumes (Karim et *al.*, 2017), Maroc. En Algérie, aucun travail sur cette problématique n'a été rencontré.

Dans ce sens, notre présente étude vise la valorisation des extraits préparés à partir de *Lavandula stoechas* L. récoltée dans la région de Blida, contre les moisissures des fruits au cours de la conservation et du stockage. Ce travail porte sur la détermination du pouvoir antifongique de ces extraits sur les isolats prélevés de quelques fruits, de production locale ou importés de l'étranger.

Lavandula stoechas est l'espèce la plus commune des lavandes en Algérie. Elle est utilisée traditionnellement par la population locale, et notamment dans la préparation de quelques plats (Baba Aïssa, 2011). Selon Lazarin et Couplant (2010), cette espèce est connue pour ses différentes vertus thérapeutiques. Elle possède les propriétés antispasmodiques, antistress, sédatives et sudorifiques. Elle est connue également pour ces propriétés antibactériennes (Gören et *al.*, 2002) et antifongiques (Angioni et *al.*, 2006). *L. stoechas* a été étudiée plusieurs fois dans le monde, à l'instar des turques Gedik et Dülger (2015) qui ont mis en évidence son pouvoir contre des isolats fongiques du genre *Candida*. Cette espèce a même fait l'objet d'un clonage et une micropropagation *in vitro* dans une étude portugaise (Nobre,

1996). Au Maghreb, *L. stoechas* a déjà fait l'objet de divers travaux. Les marocains Sqalli et *al.* (2007) ont déterminé les activités antimicrobiennes de cette plante. En Algérie, Barkat et Laib (2012) ont quant à elles étudié l'activité antioxydante des huiles essentielles de fleurs de *L. stoechas*.

Notre étude du pouvoir antifongique de *L. stoechas* a été basée sur le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle, de l'extrait aqueux et de l'hydrolat de cette plante, sur la croissance mycélienne, la sporulation et la morphologie de *Colletotrichum* sp., *Penicillium digitatum* et *Botrytis cinerea* par la méthode de contact direct. Aussi, l'effet de ces extraits sur la production des sclérotés (structures de résistance) par *B. cinerea* a également été suivi.

Par la suite, l'huile essentielle a été employée par la méthode de micro-atmosphère pour évaluer l'effet de sa fraction volatile, sur les isolats préalablement inhibés.

Chapitre 1

Synthèse

Bibliographique

1 Généralités sur *Lavandula stoechas* L.

1.1 Taxonomie

D'après le guide illustré de la flore algérienne (Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, 2012) le nom de *Lavandula stoechas* « vient du latin *lavare* qui signifie *laver*. *Stoechas* est le nom donné par le botaniste grec Pedanius Dioscoride (40-90 après J.-C.) à une lavande qui poussait sur les îles d'Hyères, appelées à l'époque les Stoechades ».

Selon la base de donnée Euro+Med (2017), la position de *L. stoechas* dans la systématique est comme suit :

- Règne : Plantae
- Division : Tracheophyta
- Sous-division : Spermatophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Superordre : Asteranae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae Lindl.
- Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula stoechas* L. (1753)

Noms communs : Lavande papillon, lavande à toupet, lavande stéchede.

Appellations locales : حلحال (arabe : helhal), أمزير (amazigh : amezir).

Noms anglais : French lavender, Italian lavender, Spanish lavender.

1.2 Description botanique

Cette plante est un sous-arbrisseau aromatique très ramifié, son hauteur varie entre 30 et 60 cm, et peut aller jusqu'à 1 m. les rameaux quadrangulaires sont feuillés jusqu'à la base des épis floraux. Les feuilles sont opposées, étroites, linéaires, entières, grisâtres sur les deux faces, à marges révolutes. Les inflorescences sont chacune surmontées d'une bractée florale, pétaloïde, violette, d'où le nom de "lavande papillon" (Figure 1) (Lazarin et Couplan, 2010 ; Baba Aïssa, 2011 ; Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, 2012 ; Miara *et al.*, 2013).



Figure 1 : Partie aérienne fleurie de *Lavandula stoechas* (Baba Aïssa, 2011)

1.3 Ecologie

La lavande papillon se trouve dans presque tout le pourtour méditerranéen ; du sud de l'Europe, à l'Afrique du Nord et jusqu'au Proche-Orient (Lazarin et Couplan, 2010 ; Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, 2012) (Annexe 1). Siddiqui et *al.* (2016) rapportent qu'elle est rencontrée aussi dans les Îles Canaries, le Cap Vert, l'Asie du Sud-Ouest et jusqu'au sud-est de l'Inde. Elle a été introduite et cultivée en Bretagne, en Nouvelle Zélande et en Australie (Benabdelkader , 2012).

En Algérie, c'est la plus populaire des lavandes. Elle est largement distribuée dans tout le nord du pays, où elle pousse sur les sols secs et siliceux des sommets arides, des pelouses et des maquis du Tell algérien (Baba Aïssa, 2011 ; Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, 2012).

1.4 Biologie

La reproduction de *L. stoechas* se fait par les semences. Ces dernières ont une longue dormance dans le sol, mais germent à n'importe quelle période de l'année, et se développent lentement. Elles sont semi-dormantes mais persistantes en été et en automne. La croissance ayant lieu en hiver et au printemps. Quant à la floraison, elle s'étale du mois d'avril à juillet. (Lazarin et Couplan, 2010 ; Siddiqui et *al.*, 2016)

Le collet et les fragments de la racine sont les propagules (organes de multiplication) de cette lavande (Siddiqui, et *al.*, 2016).

1.5 Importance thérapeutique et socio-économique

La bibliographie cite diverses propriétés thérapeutiques de *Lavandula stoechas* et qui sont principalement attribuées à son huile essentielle. Elle serait antifongique, antiseptique, béchique, antispasmodique, antistress, sédative, sudorifique et diurétique.

Dans la médecine traditionnelle, la plante est utilisée pour les vertus précédemment cités, mais aussi pour calmer les maux d'estomac et les douleurs dues aux gingivites, ainsi que dans la prévention des caries dentaires et contre les otites séreuses (Lazarin et Couplan, 2010 ; Miara et *al.*, 2013 ; Wilaya d'Alger et Mairie de Paris, 2012).

D'après Baba Aïssa (2011), *L. stoechas* est généralement considérée comme succédané de la lavande officinale.

En plus de son utilisation pour ses diverses propriétés médicinales, la lavande papillon est aussi appréciée dans d'autres domaines. Dans l'ornemental, les horticulteurs ont eu recours à la lavande papillon pour de nombreuses sélections variétales, voire même pour la réalisation de croisements.

Elle est aussi très appréciée dans la production du miel. Guyot-Declerck *et al.* (2002) affirment que cette plante constitue une source excellente de nectar pour les abeilles, et dont le miel est produit en Portugal et en Espagne.

Cette plante est également utilisée dans l'industrie de la parfumerie, mais à des proportions bien inférieures à d'autres espèces du genre, à cause de son parfum lourd et très camphré (Lazarin et Couplan, 2010). Benabdelkader (2012) affirme que malgré le fait que cette lavande soit la première à être utilisée en parfumerie, son huile essentielle est « aujourd'hui délaissée en raison de son odeur fortement camphrée et de la concurrence importante des autres lavandes qui se prêtent mieux à la culture intensive et dont l'odeur est plus agréable ».

En Algérie, cette plante rentre aussi dans la préparation d'un plat local appelé « Hammama », c'est un type particulier de couscous sans sauce dans lequel les inflorescences sont roulées avec la semoule. Le plat est saupoudré de sucre et accompagné de lait caillé (Baba Aïssa, 2011 ; Benabdelkader, 2012).

Malgré le fait que la lavande soit largement prisée au monde pour l'importance économique de son huile essentielle, aucune donnée n'a été rencontrée dans la bibliographie concernant la production mondiale de lavande papillon, ni de son huile essentielle. Benabdelkader *et al.* (2011) confirme que l'huile essentielle de *L. stoechas* est moins exploitée que celles d'autres espèces du genre, il ajoute que cette espèce est tout de même de plus en plus populaire en tant que plante ornementale.

1.6 Travaux sur *Lavandula stoechas* et ses extraits

La majorité des travaux rencontrés sur *L. stoechas* traitent de son huile essentielle (composition et variabilité chimiques), ainsi que ses potentielles activités (antioxydantes, antimicrobiennes, insecticides..). Ces travaux sont généralement localisés dans la région méditerranéenne : Grèce (Vokou *et al.*, 2002), Italie (Zuzarte *et al.*, 2013), Maroc (Cherrat *et al.*, 2014), Tunisie (Sebai *et al.*, 2013) et Algérie (Benabdelkader *et al.*, 2011). Certaines études traitent de ses extraits aqueux et éthanoliques (Gülçin *et al.*, 2004 ; Çelik et Aslantürk, 2007). D'autres travaux rencontrés ont abordés des aspects différents, comme le clonage et la micro-propagation (Nobre, 1996) ou même l'étude du miel produit par à partir du nectar de *L. stoechas* (Guyot-Declerck *et al.*, 2002). Cependant, aucun travail traitant l'hydrolat de cette plante n'a été rencontré.

2 Généralités sur les fruits et leur conservation

2.1 Importance des fruits

Les fruits constituent un élément clé dans l'alimentation de l'homme. Leur consommation (ainsi que celle des légumes) est recommandée dans le cadre d'un régime sain (Dauchet *et al.*, 2006). Selon Alzamora *et al.* (2004), les fruits et légumes « transportent le mieux les vitamines, les minéraux essentiels, les fibres alimentaires, les antioxydants phénoliques, les glucosinolates et autres substances bioactives. Outre ces éléments, ils fournissent également des hydrates de carbone, des protéines et des calories en assez grande quantité ».

Une consommation suffisante de fruits et légumes est associée à une diminution des maladies chroniques ainsi que de la mortalité, surtout celle due aux maladies cardiovasculaires (Pereira *et al.*, 2004 in Dauchet *et al.*, 2006 ; Oyebode *et al.*, 2014). En plus de ces derniers risques, les fruits et légumes pourraient aider à diminuer le risque du cancer (Riboli et Norat, 2003 ; Genkinger *et al.*, 2004 ; Nöthlings *et al.*, 2008).

Pour avoir une idée sur l'importance des fruits traités par notre travail, quelques informations sur leur production et importation sont reportés dans les paragraphes qui suivent. Sauf indications contraires, ces informations sont récoltées depuis la base de données en ligne de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2017).

Parmi tous les fruits, les agrumes enregistrent les chiffres de production les plus importants dans le monde. Ils sont cultivés dans plus de 100 pays répartis à travers 6 continents (Saunt, 2000 in Helalia et Sameer, 2014). Dans la période 2012/2013, la production mondiale des agrumes dépassait les 915 millions de tonnes (FAO, 2016). En 2014, les oranges ont enregistré à elles seules une production dépassant 72 millions de tonnes. En Algérie, ces chiffres sont passés de 890.674 tonnes en 2013 à 955.206 tonnes en 2014.

Les bananes aussi sont parmi les fruits les plus produits au monde, avec un chiffre dépassant les 114 millions de tonnes en 2014. L'Algérie, Quant à elle, est un pays importateur de bananes avec 245,3 mille tonnes importées en 2011 (FAO, 2014). La production locale pendant la même année n'était que de 279 tonnes. En 2014, cette production n'a pas dépassé les 320 tonnes.

Concernant les fraises, la production mondiale de ce fruit a dépassé les 8 millions de tonnes en 2014. En Algérie, aucune donnée n'est présentée par la FAO, ni par les institutions publiques, concernant la production locale des fraises. Cependant, il existe une volonté nationale pour donner un élan à cette production. Selon un rapport du Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche (Oamri, 2016), un objectif d'exportation de 500 tonnes de fraises est fixé pour l'année 2019.

Les données précédentes témoignent de l'importance socio-économique des fruits. C'est pourquoi les quantités produites localement ou importées doivent être conservées adéquatement, avant d'arriver chez les consommateurs (ou transformateurs). Cette conservation constitue un véritable défi aux praticiens du domaine.

2.2 Conservation et stockage

En général, les quantités d'aliments perdus annuellement en post-récolte à l'échelle mondiale pourraient nourrir entre 200 et 300 millions de personnes pendant une année (Kelman, 1989 in Kulakiotu et *al.*, 2004).

Les fruits sont des denrées extrêmement altérables. La détérioration durant leur parcours de la chaîne agroalimentaire cause la perte de presque 25% des fruits et légumes les plus périssables (Alzamora et *al.*, 2004). Ces pertes s'élèveraient jusqu'à 50% dans les pays en voie de développement (Elad et *al.*, 2007) et peuvent aller jusqu'à la totalité de la production (Satish et *al.*, 2007), leur portée s'étale même à la période de conservation chez le consommateur ou dans les services de restauration (Alzamora et *al.*, 2004).

Pour assurer le maintien de la qualité des fruits, les praticiens du domaine ont recours à de multiples procédures, parmi elles : le stockage à l'état frais, le stockage au froid, la congélation, le séchage (déshydratation), la stérilisation et l'irradiation (Daughy, 1995).

Les pertes pour lesquelles ces mesures doivent être prises sont dues à trois grands groupes de modifications (Daughy, 1995) :

- Les modifications enzymatiques provoquant vieillissement et pourrissement, oxydation des substances phénoliques (brunissement), conversions sucre-amidon et déméthylation des substances pectiques.
- Les modifications chimiques entraînant la dégradation des qualités sensorielles et nutritionnelles.
- Les modifications biologiques ou « macro-biologiques » causées par les insectes et les rongeurs, et les modifications microbiologiques causées par les bactéries et les champignons (levures et moisissures).

Selon la même source, l'intensité de ces modifications est influencée par la température, l'activité de l'eau (a_w), les gazes atmosphériques (O_2 principalement), la lumière et le temps.

En étudiant les maladies de conservation des fruits à pépin, Bondoux (1992) regroupe les causes des pertes de fruits en deux ensembles : les désordres physiologiques et les maladies fongiques. Il affirme que dans le cas des fruits à pépins des Rosacées, les champignons sont les seuls microorganismes susceptibles de causer des dégâts en conservation. Gross et *al.* (2016) indiquent que les champignons sont plus communs comme agents causaux de la détérioration des fruits après la récolte, contrairement aux bactéries qui sont plus communs dans le cas des légumes.

Ces champignons sont susceptibles de produire des mycotoxines ; composés toxiques issus du métabolisme secondaire des moisissures contaminant les aliments (Guerre et *al.*,

2000). Ces composés peuvent agir comme des facteurs de virulence chez certains hôtes et présenter des dangers importants sur la santé animale et humaine, ainsi que sur la sécurité alimentaire (Creppy, 2002 ; Ward et *al.*, 2002). Cependant, ce n'est pas tous les champignons qui peuvent produire des mycotoxines (Guerre et *al.*, 2000).

Les souches fongiques causant la détérioration varient d'un fruit à un autre (Gross et *al.*, 2016). Parmi eux, nous aborderons brièvement *Botrytis cinerea*, *Penicelium digitatum* et *Colletotrichum* sp.

3 Généralités sur les moisissures des fruits en conservation

3.1 *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea est un champignon ascomycète omniprésent, polyphage et d'une grande variabilité génétique (Elad et *al.*, 2007). Il est considéré comme un nécrotrophe typique et un modèle important dans l'étude de ce type de champignons (Williamson et *al.*, 2007; van Baarlen et *al.*, 2007 in Dean et *al.*, 2012).

Les espèces du genre *Botrytis*, et notamment *B. cinerea* sont des agents pathogènes importants des plantes de pépinières, des légumes, des plantes ornementales, des cultures de champs et de vergers, ainsi que des produits agricoles stockés et transportés. Ce sont les champignons pathogènes les plus importants de la période de post-récolte qui cause des pertes considérables aux fruits, légumes et plantes ornementales (Elad et *al.*, 2007).

Selon Blancard (2009), la position taxonomique de *Botrytis cinerea* Pers. (1794) (Téléomorphe : *Botryotinia fuckeliana*) est comme suit :

- Règne : Fungi
- Embranchement : Ascomycota
- Sous-embranchement : Pezizomycotina
- Classe : Leotiomycetes
- Sous-classe : Leotiomycetidaey
- Ordre : Helotiales
- Famille : Sclerotiniaceae
- Genre : *Botryotinia*
- Espèce : *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel

Selon la position de l'inoculum primaire et les conditions du milieu (vent, pluie, insectes..), chaque organe de la plante hôte est un lieu potentiel de dépôt, de la croissance et de la pénétration du champignon. Dans le cas de la pourriture grise des fraises, l'infection se

fait au niveau des fleurs et le champignon se multiplie sur les fruits en développement. La pourriture peut avoir lieu durant la culture ou après la récolte (Elad et *al.*, 2007 ; Boff et *al.*, 2001 in Elad et *al.*, 2007).

La conidie de *B. cinerea* développe un tube germinatif qui pénètre dans les tissus et forme un mycélium détruisant les parois des cellules et leur contenu, en produisant une gamme d'enzymes, de toxines et d'autres composés de faibles poids moléculaires. Il déclencherait la mort cellulaire programmée chez l'hôte. Ce champignon peut attaquer les tissus nécrosés, sénescents ou morts de plusieurs organes (feuilles, tiges ou fruits). En cas de conditions défavorables, *B. cinerea* forme des structures de résistance, comme les sclérotes (condensation du mycélium) qui peuvent survivre pendant plusieurs années. Une fois que les conditions le permettent, le cycle de vie reprend et une sporulation abondante a lieu, soit par voie asexuée (le plus commun) en produisant de conidies sur des conidiophores, ou bien par voie sexuée en développant des apothécies à partir desquelles des ascospores sont produites et libérées. Ces deux types de spores germent par la suite pour donner de nouveaux mycéliums (Figure 2) (Elad et *al.*, 2007 ; Williamson et *al.*, 2007 ; Blancard, 2009 ; Amselem et *al.*, 2011).

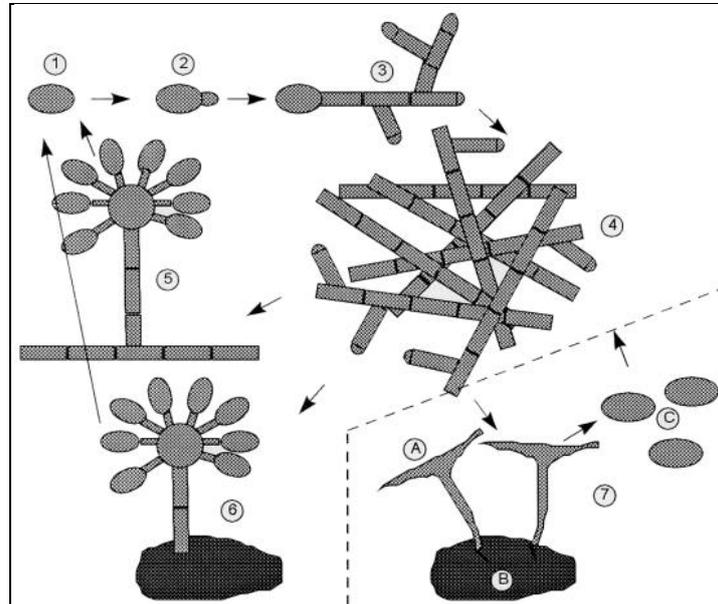


Figure 2 : Schéma du cycle biologique de *Botrytis cinerea* (Perret, 2001)

1 : Conidie en dormance, 2 : germination de la conidie, 3 : production d'un hyph, 4 : mycélium, 5 : conidiophore portant des conidies, 6 : conidiophore développé sur un sclérote, 7 : apothécie (A) développée sur un sclérote (B) et produisant des ascospores (C)

B. cinerea est l'agent causal de la pourriture grise de plusieurs cultures (Elad et *al.*, 2007). Il peut attaquer plus de 200 espèces de plantes, dont des cultures importantes (protéagineuses, oléagineuses, horticulturales et plantes à fibres) des régions tempérées et subtropicales (Williamson et *al.*, 2007).

Cet agent fongique cause des pertes graves de produits agricoles notamment des fruits en période de post-récolte (Elad et *al.*, 2007). Il serait l'agent pathogène le plus important de cette période (Sommer, 1985 in Elad et *al.*, 2007). Ces pertes peuvent avoir lieu à partir de récoltes qui paraissent saines (Dean et *al.*, 2012).

Parmi les divers fruits que ce champignon détériore, nous citons la fraise (Figure 3), la pomme, la poire, le raisin, la grenade et le kiwi (Spotts, 1986 ; Coertze et Holz, 1999 in Kulakiotu et *al.*, 2004 ; Elad et *al.*, 2007 ; Yin et *al.*, 2011).



Figure 3 : Pourriture grise sur une fraise (Romanazzi et *al.*, 2016)

La lutte chimique par le biais de plusieurs familles de fongicides est le moyen principal de son contrôle. Parmi ces familles, nous citons le dichlofluanide, le thirame, le fluazinam, le boscalid et les strobilurines (Elad et *al.*, 2007).

Toutefois, nombre de classes de fongicides n'ont pas réussi à contrôler ce champignon à cause de sa plasticité génétique (Williamson et *al.*, 2007). La résistance d'une proportion considérable de populations de *B. cinerea* aux fongicides devient de plus en plus problématique (Blancard, 2009 ; Leroch et *al.*, 2011 in Dean et *al.*, 2012).

De nouvelles stratégies de contrôle biologique, telles que l'utilisation des antagonistes (bactéries et levures) ou des pesticides d'origine naturelle (extraits de plantes) sont en cours d'investigation (De Boer et *al.*, 2003 in Lorbeer et *al.*, 2007).

Entre procédures culturales, botryticides, fongicides à large spectre et contrôle biologique, les dépenses à l'échelle mondiale dans le contrôle du *B. cinerea* dépassent un milliard d'euros par an. Malgré cela, les pertes en quantité et en qualité au cours des différentes étapes de la chaîne de vente seraient encore très importantes (Dean *et al.*, 2012).

3.2 *Penicillium digitatum*

Penicillium digitatum est un champignon ascomycète cosmopolite, phytopathogène et nécrotrophe qui se développe sur les blessures (Pitt et Hocking, 2009 ; Gross *et al.*, 2016).

Le *Penicillium* est l'un des genres les plus importants économiquement, au vu des effets néfastes qu'il cause, comme la détérioration des aliments et la production des mycotoxines (Samson et Pitt, 1990). Il est à noter qu'aucune donnée n'indique une production considérable de mycotoxines par *P. digitatum*, à part une étude qui a démontré une toxicité de quelques isolats de l'espèce sur des crevettes de saumure et des embryons de poulet (Faid et Tantaoui-Elaraki, 1989 in Pitt et Hocking, 2009).

P. digitatum est le premier champignon phytopathogène du genre dont le génome a été entièrement séquencé (Marcet-Houben *et al.*, 2012 in Bautista-Baños, 2014).

Sa position taxonomique est comme suit (Bautista-Baños, 2014) :

- Règne : Fungi
- Embranchement : Ascomycota
- Sous-embranchement : Pezizomycotina
- Classe : Eurotiomycetes
- Sous-classe : Eurotiomycetidae
- Ordre : Eurotiales
- Famille : Trichocomaceae
- Genre : *Penicillium*
- Espèce : *Penicillium digitatum*

Très peu d'espèces de *Penicillium* seraient généralistes, elles sont associées à des habitats spécifiques. Cela serait dû à la différence des enzymes extracellulaires synthétisées par chaque espèce (Filtenborg *et al.*, 1996 in Frisvad et Samson, 2004). Ce champignon est fortement associé aux agrumes, aucune information solide ne prouve son association avec d'autres produits végétaux, même s'il est occasionnellement isolé du sol, des racines ou des tiges (Frisvad et Samson, 2004).

Son cycle biologique, comme celui de beaucoup d'autres champignons phytopathogènes, commence par la germination des conidies en contact avec la surface du fruit (Wang et *al.*, 2015). Les hyphes pénètrent la peau du fruit exclusivement à travers les blessures. Cela est suivi par le développement mycélien, puis la sporulation qui produit un grand nombre de conidies aériennes. Ces dernières sont particulièrement transmissibles par l'air et peuvent facilement contaminer les fruits environnants (Frisvad et Samson, 2004 ; Bautista-Baños, 2014 ; Gross et *al.*, 2016).

P. digitatum est l'agent causal de la pourriture verte (Figure 4); une maladie commune des agrumes (Marcet-Houben et *al.*, 2012), pour lesquels elle peut causer 90% des pertes au cours du stockage, surtout dans les régions arides et subtropicales (Eckert et Eaks, 1989 in Marcet-Houben et *al.*, 2012).

Comme cité auparavant, ce champignon n'a été signalé que sur les agrumes (Frisvad et Samson, 2004). Il a été isolé depuis les citrons, les oranges (Figure 4), les pamplemousses, les limes, les mandarines et les tangerines (Samson et Pitt, 1990 ; Gómez-Sanchis et *al.*, 2013 ; Gross et *al.*, 2016).

Par ailleurs, certaines sources indiquent que *P. digitatum* peut être trouvé occasionnellement sur d'autres produits agricoles comme les noix, les pistaches, le riz, le maïs et les viandes (Pitt et Hocking, 1997 in Pitt et Hocking, 2009).



Figure 4 : Pourriture verte sur une orange (Palo, 2014)

La lutte chimique contre cet agent peut être préconisée par l'emploi de fongicides, tels que l'imazalil, le thiabendazole et l'orthophénylphénate de sodium (Bautista-Baños, 2014 ;

Gross et *al.*, 2016). Cependant leur utilisation intensive et continue a entraîné le développement d'une résistance chez ce champignon (Eckert 1988 ; Gross et *al.*, 2016).

Dans ce sens, il est possible de limiter l'incidence de *P. digitatum* par le biais du contrôle biologique, tout en évitant les blessures des fruits pendant leur manipulation (Gross et *al.*, 2016).

3.3 *Colletotrichum* sp.

Le genre *Colletotrichum* regroupe des champignons ascomycètes phytopathogènes (Gan et *al.*, 2013). Il comprend un grand nombre d'espèces importantes qui sont parmi les champignons pathogènes les plus fréquents affectant divers fruits et légumes tropicaux et subtropicaux (Bautista-Baños, 2014). Ce genre a été classé parmi les dix champignons phytopathogènes les plus importants dans le monde, du point de vue scientifique et économique (Dean et *al.*, 2012).

Selon la base de données en ligne de l'association internationale de mycologie (IMA), MycoBank (2017), la position du genre *Colletotrichum* dans la taxonomie est comme suit :

- Règne : Fungi
- Embranchement : Ascomycota
- Sous-embranchement : Pezizomycotina
- Classe : Sordariomycetes
- Sous-classe : Hypocreomycetidae
- Ordre : Glomerellales
- Famille : Glomerellaceae
- Genre : *Colletotrichum*

Colletotrichum sp. est l'agent causal de l'antracnose, une maladie cosmopolite qui touche diverses cultures dans le monde, que ce soit avant ou après la récolte (Jeffries, 1990 ; Bonatelli et *al.*, 2016). En post-récolte, *Colletotrichum* sp. peut causer l'antracnose sur les fruits, tels que les agrumes, les fraises, les bananes, les manges et les papayes (Bedimo et *al.*, 2003 ; Barrera-Necha et *al.*, 2008 ; Suzuki et *al.*, 2010 ; Hong et *al.*, 2016 ; Zhou et *al.*, 2016). *Colletotrichum* sp. peut aussi attaquer les pommes et les poires, induisant la « pourriture amère » (Bondoux, 1992).

Chez la banane, l'antracnose est l'une des maladies les plus importantes, l'agent causal (*C. musae*) peut aussi provoquer la pourriture du collet du même fruit (Jones, 2000 in Ploetz, 2003). L'espèce *C. gloeosporioides* a également été isolée à partir de l'antracnose

des bananes (Sakinah et *al.*, 2014). Certaines espèces de *Colletotrichum* produisent des mycotoxines (Malathi, 2002 ; Anand, 2008). Toutefois, aucune information sur la production de ces composés par *C. musae* ou *C. gloeosporioides* n'a été rencontrée.

La contamination a lieu pendant le développement du fruit, mais l'apparition des symptômes ne se fait qu'après la récolte. Cette contamination est initiée par les conidies disséminées par l'eau. Quand une conidie se pose sur un fruit, elle germe pour former un appressorium mélanisé qui rentre en période de latence jusqu'à mûrissement du fruit. Cet appressorium est une structure qui permet la fixation du champignon sur l'hôte, sa survie et sa pénétration dans le tissu de ce dernier. Une fois le fruit mûr, un hyphes de pénétration se développe pour former un mycélium à l'intérieur du tissu. Suite à cela apparaissent les symptômes de la maladie (Figure 5) représentés par des tâches nécrotiques sombres enfoncées dans le péricarpe et qui se généralisent avec le temps sur l'ensemble du fruit (Muirhead et Deverall, 1981 in De Lapeyre de Bellaire et *al.*, 2000 ; Emmett et Parbery, 1975 in Bedimo et *al.*, 2003 ; Lassoudière, 2007 ; Prusky et Plumbley 1992 in Zakaria et *al.*, 2009).



Figure 5 : Anthracnose sur des bananes (Abd-Elsalam, 2010)

L'anthracnose peut causer de grands problèmes aux producteurs quand le mûrissement des bananes se fait précocement pendant le transport, ce qui réduirait considérablement la valeur marchande du fruit. Cela peut entraîner des pertes énormes pour l'industrie de la banane (De Lapeyre de Bellaire et Dubois, 1997 ; Ploetz, 2003 ; Maqbool et *al.*, 2010 in Shu et *al.*, 2017).

Pour lutter contre l'anthracnose de la banane en post-récolte, trois fongicides ont démontré leur efficacité dans l'ordre décroissant suivant : le thiabendazole, le bitertanol et l'imazalil (Lassoudière, 2007).

Cependant, quelques souches de *Colletotrichum* sp. ont développé une résistance aux fongicides comme le benzimidazole, le thiabendazole et le bénomyl (Pereira et al., 1999 ; Chillet et al., 2000 ; Xu et al, 2014).

Cette résistance croissante qui réduit encore plus le choix en fongicides efficaces, réaffirme la nécessité de trouver de nouveaux moyens de contrôle plus durables et employant le moins de pesticides possible (De Lapeyre de Bellaire et Dubois, 1997).

Pour limiter les dégâts causés par les maladies fongiques, deux principaux types de lutte sont adoptés : la lutte chimique, et la lutte biologique (Gross et al., 2016).

4 Mesures de lutte en conservation

Deux méthodes de lutte peuvent être préconisées sur les fruits en conservation :

4.1 Lutte chimique

Pour augmenter la durée de conservation des fruits, l'utilisation des pesticides chimiques est le premier choix des praticiens de ce domaine.

Le tableau suivant regroupe quelques exemples de fongicides chimiques utilisés dans la conservation de certains fruits.

Tableau 1 : Exemples de fongicides employés sur les fruits pour augmenter la durée de leur période de stockage

Fongicides	Fruits	Références
Thiabendazole	Avocats, bananes, citrons, mandarines, pamplemousses, pommes	(Lassoudière, 2007 ; Gross et al., 2016)
Imazalil	Bananes, citrons, mandarines et pamplemousses	(Lassoudière, 2007 ; Gross et al., 2016)
Orthophénylphénate de sodium	Citrons	(Gross et al., 2016)
Benzimidazole	Pommes	
Bénomyl*		
Thiophanate-méthyl*		

* Fongicides retirés aux débuts des années 1990 (Gross et al., 2016).

Ces produits synthétiques sont connus depuis quelque temps, pour les dangers qu'ils présentent sur la santé humaine et celle de l'écosystème tout entier. En effet, les risques d'intoxications et de pollution de l'environnement par les résidus toxiques qui en résultent, ainsi que le développement des structures de résistance par les organismes ciblés envers ces composés, limitent leur utilisation (Commare et *al.*, 2002 in Laghchimi et *al.*, 2014).

A titre d'exemple, des souches de *B. cinerea* et *Penicillium expansum* résistantes au benzimidazole ont été isolées de pommes stockées. Pour faire face à la résistance de ces deux dernières, une combinaison entre benzimidazole et diphenylamine a été employée, mais des souches de *P. expansum* ont encore développé une résistance contre cette combinaison (Gross et *al.*, 2016).

Pour cela, et depuis des années déjà, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a interdit l'utilisation de plusieurs pesticides importants en agriculture (Barnard et *al.*, 1997 in Satish et *al.*, 2007). Certains agents pathogènes n'ont pas encore été contrôlés par les fongicides autorisés, comme *Mucor piriformis* qui est un agent causal majeur de maladies de conservation des pommes et des poires d'hiver en Amérique du Nord (Spotts et Dobson, 1989 in Gross et *al.*, 2016).

Ceci dit, des recherches d'alternatives biologiques moins agressives et plus durables que les pesticides synthétiques s'imposent. En effet, plusieurs équipes de recherches ont orienté leurs travaux vers ces alternatives (Ait-Ouazzou et *al.*, 2012 in Laghchimi et *al.*, 2014).

4.2 Lutte biologique

Dans le but d'assurer une agriculture moins nuisible envers l'environnement, l'amélioration de la résistance des plantes aux contaminants fongiques, qui est possible grâce à l'utilisation de substances naturelles de faible toxicité, devient une stratégie de contrôle intégré de plus en plus d'actualité (Boyraz et Özcan, 2006).

Les travaux de recherche traitant les activités antimicrobiennes des extraits de plantes dans le cadre de notre problématique, varient entre ceux réalisés *in vitro*, *in vivo*, ou bien l'ensemble de ces deux derniers. Nous constatons que ces travaux sont dominés par ceux étudiant les huiles essentielles.

Dans le monde, les études rapportées par la bibliographie proviennent des six continents. Nous citerons quelques exemples de travaux sur les activités antifongiques

d'extraits de plantes, sur les agents causaux des maladies de conservation. En Australie, Szczerbanik et *al.* (2007) ont étudié l'effet de la fraction volatile de quelques huiles essentielles sur neuf agents pathogènes des fruits et légumes. Dans le continent asiatique, l'équipe iranienne de Yahyazadeh (2009) a testé quelques huiles essentielles ainsi que leurs fractions volatiles respectives *in vitro* et *in vivo*, contre des agents de pourriture des agrumes (*P. digitatum* et *P. italicum*). En Italie, Elshafie et *al.* (2015) ont étudié l'activité antifongique *in vivo* des huiles essentielles du thym et de la verveine, contre des agents de la pourriture brune de la pêche. En Amérique du Nord (Mexique et Etats-Unis), Bautista-Baños et son équipe (2003) ont étudié les effets de la poudre, de l'extrait aqueux, et de l'extrait éthanolique de *Pithecellobium dulce* (arbre native du Mexique) sur des agents détériorant les fraises. Sayago et *al.* (2012) de l'Argentine ont employé des extraits aqueux de plantes extrémophiles locales, contre des agents détériorant les agrumes. En Afrique, l'équipe sud-africaine de Sellamuthu (2013) a étudié l'effet de la fraction volatile de trois huiles essentielles sur des agents pathogènes des avocats et des pêches.

Le Maghreb compte lui aussi un nombre considérable de travaux dans le domaine. La majorité des travaux rencontrés dans cette région proviennent du Maroc, à l'instar de Talibi et *al.* (2012) qui ont étudié l'effet antifongique des extraits méthanoliques de quelques plantes sur *Geotrichum candidum* (agent de la pourriture acide des agrumes). En Tunisie, Trabelsi et *al.* (2016) ont testé *in vitro* et *in vivo* des huiles essentielles provenant de différents organes de *Citrus aurantium* var *amara* sur *Penicillium digitatum* et *P. italicum*.

Quant à l'Algérie, les travaux rencontrés sont beaucoup plus focalisés sur l'utilisation des extraits de plantes dans la conservation des céréales. Il existe néanmoins quelques uns traitant les fruits, comme celui de Tabti et *al.* (2014) ou bien celui de Touaibia (2015). Le sujet du premier travail est la conservation des fraises par l'huile essentielle de *Myrtus communis* *in vitro* et *in vivo*, en contrôlant *Aspergillus niger* et *Penicillium sp.* Pour le second, les effets de l'huile essentielle, de l'hydrolat ainsi que d'un extrait obtenu à partir de l'hydrolat de *Thymus capitatus* ont été étudiés sur quatre agents pathogènes des oranges. Dans ce même travail, l'huile essentielle et l'extrait de l'hydrolat ont été testés *in vitro* et *in vivo*, l'hydrolat a été testé *in vivo* seulement.

Toutefois, certains des champignons traités dans les travaux sur la conservation des céréales, touchent aussi les fruits en post-récolte. C'est le cas de Houicher et *al.* (2016) qui ont étudié l'effet de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* sur dix champignons, dont certains qui

sont pathogènes pour les fruits aussi, comme *Aspergillus niger*, *P. viridicatum*, *P. citrinum* et *P. expansum* (Dugan et Roberts, 1994 ; Liu et al., 2007 ; dos Santos et al., 2012 ; Xing et al., 2012).

Les approches sont diverses concernant le mode d'emploi de ces extraits de plantes contre les agents détériorants. Multiples possibilités d'exploitation sur terrain de ces extraits ou de leurs composés actifs ont été investiguées par les auteurs ; comme par pulvérisation (Amin, 2016) ; par fumigation (Kulakiotu et al., 2004) ; par incorporation, soit dans des produits d'enrobage comestibles (Bill et al., 2014) ou bien dans un système de conditionnement sous atmosphère modifiée (Sivakumar et Bautista-Baños, 2014) ; par combinaison entre l'usage d'une huile essentielle et la pascalisation (procédé de conservation des aliments sous hautes pressions) (Palhano et al., 2004) ; ou même par simple immersion des fruits dans une solution diluée de l'extrait (Rabiei et al., 2011).

Il est également possible d'avoir recours à l'utilisation de microorganismes auxiliaires dans le contrôle des maladies de conservation. Comme l'utilisation des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus pumilus* contre *B. cinerea* sur les fraises (Swalding et Jeffries, 1998 in Gross et al., 2016) ou bien l'utilisation des levures comme *Candida sake* dans le contrôle de trois maladies de la pomme (Vinas et al., 1998 in Gross et al., 2016). Cependant, et malgré leur efficacité prouvée, les agents microbiens ne fournissent pas toujours des résultats consistants sur le terrain (Gross et al., 2016).

5 Les extraits de plantes

Il existe une multitude d'extraits que l'on peut obtenir à partir des plantes. Parmi ces extraits, nous aborderons brièvement l'huile essentielle, l'hydrolat, les extraits aqueux et les extraits alcooliques.

5.1 Les huiles essentielles

5.1.1 Définition et Extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle ou essence végétale est un liquide hydrophobe odorant issu du métabolisme secondaire des plantes. Ce produit est élaboré principalement par les plantes des climats tempérés et chauds (régions méditerranéennes et tropicales) (Chiasson et Beloin, 2007 ; Fernandez et Chemat, 2012 ; Perricone et al., 2015).

Djeddi (2012) nous informe que « Jusqu'à présent aucune définition des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté ni de la précision ». Elle ajoute que les huiles essentielles sont aussi appelées essences de plantes, essences aromatiques ou essences végétales.

Bruneton (2009) cite dans son livre la définition de la pharmacopée européenne (6^e éd. 01/2008:2098) qui définit l'huile essentielle comme un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Il est important de noter que le terme « entraînement à la vapeur d'eau » est parfois utilisé pour décrire l'hydrodistillation, comme c'est le cas de Bezza et *al.* (2010) ou même de la Pharmacopée Européenne (2008), qui l'utilise pour décrire tout procédé de distillation dans lequel la vapeur d'eau intervient (y compris l'hydrodistillation). Et cela malgré le fait que ce même terme est utilisé pour décrire un autre procédé de distillation proche. En effet, selon Bekhechi et Abdelouahid (2014), l'entraînement à la vapeur d'eau consiste à faire traverser la vapeur d'eau à travers la plante qui est supportée par une surface perforée, à la différence de l'hydrodistillation où la plante est complètement immergée dans l'eau.

Bruneton (2009) définit l'hydrodistillation comme une méthode qui « consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité ».

L'appareil utilisé à cette fin est de type Clevenger (Annexe 2). Il est lié au ballon contenant le matériel végétal immergé dans l'eau, qui est à son tour mis dans un chauffe-ballon.

5.1.2 Localisation

Le matériel végétal à partir duquel l'huile essentielle est obtenue diffère selon les espèces : fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines (Burt, 2004). Il peut être frais, flétri, sec, entier, pulvérisé ou contusé (pulvérisé

grossièrement), sauf pour les fruits du genre *Citrus* qui sont traités à l'état frais (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

De la même sorte, ces mêmes parties de plante synthétisent et accumulent les huiles essentielles dans des structures histologiques spécialisées qui diffèrent d'une famille à une autre ; cellules à huile essentielles (Lauraceae et Zingiberaceae), poils sécréteurs (Lamiaceae), poches sécrétrices (Myrtaceae et Rutaceae) et canaux sécréteurs (Apiaceae et Asteraceae). Ces structures se trouvent souvent à proximité de la surface de la plante (Bruneton, 2009).

5.1.3 Caractéristiques physiques

Les huiles essentielles sont liquides à la température ambiante (peu sont solides ou résineux). Elles se distinguent des huiles fixes par leur aspect volatil. Limpides, les huiles essentielles peuvent être soit incolores ; soit d'une couleur allant du jaune pâle au vert émeraude ou bien du bleu au rouge brun foncé. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, sauf exception (huiles essentielles de girofle, de cannelle ou de saffran). Ces huiles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques (Bruneton, 2009 ; Perricone et *al.*, 2015).

5.1.4 Propriétés thérapeutiques

Plusieurs propriétés thérapeutiques sont attribuées aux huiles essentielles. D'après Bec (2013), elles seraient « antibactériennes, antivirales, antifongiques, expectorantes, mucolytiques, antispasmodiques, antalgiques, anti-inflammatoires, stimulantes calmantes nerveuses [et] cicatrisantes ». Les huiles essentielles peuvent être employées de manières diverses selon l'huile en question par voie orale, par voie cutanée.

Il est important de noter que dans la totalité des guides d'utilisation des huiles essentielles, des avertissements sont mis en avant pour attirer l'attention des lecteurs sur les dangers liés à leur mauvaise utilisation.

5.1.5 Importance économique

Les huiles essentielles sont des produits d'intérêt employés dans différents domaines : pharmacologie, aromathérapie, parfumerie, cosmétologie, en agriculture et en alimentaire (Burt, 2004 in Perricone et *al.*, 2015).

De ce fait, le marché international des huiles essentielles compte 3000 huiles connues, dont environ 300 qui sont commercialement importantes (Bégin et Gérin, 1999 in Bessah et Benyoussef, 2015). La production mondiale varie d'une huile essentielle à une autre. Elle peut aller de quelques kilogrammes jusqu'à plus de 35.000 tonnes par an (Iqbal, 1993 in Bessah et Benyoussef, 2015).

Djeddi (2012) rapporte que l'industrie des parfums et des huiles essentielles est classée parmi les dix industries les plus croissantes dans le monde, sa croissance annuelle moyenne était de 12,5 % durant la période 1985-2000.

Malgré toutes ces données remarquables, le marché des huiles essentielles en Algérie reste modeste. Ce secteur est très instable et se développe très difficilement. Entre 2014 et 2016, la balance commerciale demeurait négative vu qu'aucune activité d'exportation n'a été enregistrée, contrairement aux importations qui sont en hausse. La valeur de ces dernières a dépassé 1,6 millions d'euros en 2014. Les principaux fournisseurs d'huiles essentielles pour l'Algérie étant les pays méditerranéens (France, Italie, Espagne, Tunisie et Maroc), en plus de la Chine et de l'Inde (Sahi, 2016). Paradoxalement, cela n'a été guère le cas durant la période coloniale et jusqu'à la fin des années soixante-dix. Période pendant laquelle l'Algérie comptait parmi les pays producteurs des huiles essentielles comme celles de : la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym et la sauge (Djeddi, 2012).

5.1.6 Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et extraiment variables de composés présents à diverses concentrations, certains sont largement plus concentrés que d'autres. Ces composés appartiennent à deux grands groupes distincts : les terpénoïdes (mono- et sesquiterpènes) avec leurs différents dérivés (alcools, aldéhydes, cétones, esters, éthers, peroxydes et phénols) ainsi que les composés aromatiques (dérivés du phénylpropane). Le premier groupe étant plus fréquent que le second. Des composés issus de processus dégradatifs de molécules non volatiles peuvent également être rencontrés (Gutierrez et *al.*, 2008 ; Bruneton, 2009 ; Bakkali et *al.*, 2008 in Perricone et *al.*, 2015).

En revanche, les huiles essentielles risquent de subir des dégradations qui « peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas renfermées dans des flacons propres et secs en

aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur » (Bekhechi et Abdelouahid, 2014).

5.2 L'hydrolat

5.2.1 Définition et Préparation

D'après Kaloustian et *al.* (2008), le terme « hydrolat » est composé du préfixe *hydro*, « eau » en latin et du suffixe *lat*, « lait » en vieux français « du fait de son apparence légèrement trouble (émulsion) au début de la distillation ».

L'hydrolat est considéré comme un « co-produit », un « produit secondaire », voire même un « sous-produit » de la distillation des huiles essentielles. Il peut donc être obtenu par hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau (Toubol et Ferre, 1963 ; Labadie, 2015 ; Fleurentin, 2016).

En effet, selon la 11^{ème} édition de la pharmacopée française (ANSM, 2016), les hydrolats (ou eaux distillées végétales) sont constituées par la phase aqueuse recondensée et séparée de l'huile essentielle quand il y en a. Dans le cas particulier de l'utilisation de fleur comme matière première, on parle d'eaux distillées florales ou d'eaux florales. Cette pharmacopée précise qu'il ne faut pas confondre « eau florale » et « eau aromatisée », cette dernière étant une préparation à base d'arôme d'origine végétale.

5.2.2 Intérêt et exploitation

En thérapeutique, l'hydrolat partage les mêmes vertus que l'huile essentielle correspondante, mais à des niveaux plus bas, vu les concentrations plus faibles en composés terpéniques. C'est pourquoi il peut être employé dans les cas où l'utilisation des huiles essentielles est délicate (voire déconseillée ou même interdite) (Kaloustian et *al.*, 2008 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012). Il existe même une branche de l'aromathérapie spécialisée dans l'utilisation des hydrolats, elle est dite « hydrolathérapie » (Bosson et Dietz, 2005 in Kaloustian et *al.*, 2008).

L'hydrolat est employé traditionnellement pour ses propriétés nettoyantes, apaisantes et toniques. Il est utilisé dans le nettoyage des plaies, contre les démangeaisons et les irritations cutanées ainsi que pour se protéger des coups de soleil. L'hydrolat est appliqué par vaporisation directe ou sous forme de compresse pour le visage et le corps, vu son effet très

doux sur la peau, ce qui convient à celle des enfants et aux peaux sensibles en général (Kaloustian *et al.*, 2008 ; Millet, 2013 in Duvillard, 2013).

Kaloustian *et al.* (2008) indiquent qu'en usage interne, l'hydrolat « est très utile dans le cadre des cures (pour une période de vingt jours lors des changements de saison) : drainage, [stimulation] du système immunitaire... Il n'y a pas de précaution d'emploi particulière, les hydrolats peuvent être utilisés sous forme diluée ou pure ». Les hydrolats sont ainsi employés pour traiter les problèmes de digestions, les inflammations, le manque d'appétit, le stress et les problèmes qui y sont liés (nausées, excitabilité, troubles du sommeil, fatigue), comme antiseptiques respiratoires et digestifs, et plus encore (Millet, 2013 in Duvillard, 2013).

Les hydrolats sont également utilisés en cosmétique pour préparer des produits naturels, mais aussi dans l'alimentaire comme aromatisants, comme l'eau de fleur d'oranger dans les pâtisseries, l'eau de rose dans le loukoum ou l'hydrolat de menthe pour remplacer le sirop de menthe (Cupillard et Cupillard, 2006 in Kaloustian *et al.*, 2008).

Même si les hydrolats ont été négligés pour longtemps par l'industrie des huiles essentielles, en les considérant comme des « sous-produits » voire « déchets de fabrication », ils deviennent de plus en plus valorisés industriellement, où ils sont employés dans divers domaines tels que l'alimentaire, la cosmétique et l'industrie des savons et des produits d'entretien, vu leur coût très faible (Kaloustian *et al.*, 2008).

Parmi les hydrolats les plus communs, nous citons à titre d'exemples ceux de la lavande fine (*Lavandula angustifolia*), du basilic tropical (*Ocimum basilicum*), ainsi que l'eau de rose (*Rosa damascena* Miller et *Rosa centifolia* L.) et l'eau de fleur d'oranger (*Citrus aurantium* var. *amara* L.). La production annuelle mondiale de ces deux dernières a été estimée en 2012 à 1000 et 1500 tonnes par an respectivement (Toubol et Ferre, 1963 ; Millet, 2013 ; Fernandez *et al.*, 2014 in Labadie, 2015 ; Ghédira et Goetz, 2015).

Contrairement aux huiles essentielles, et malgré leur intérêt dans les différentes industries, les hydrolats restent cependant peu étudiés (Hay, 2015).

5.2.3 Composition chimique

L'hydrolat contient des composés hydrosolubles en plus des composés terpéniques de l'huile essentielle (voir **5.1.6 Composition chimique**, page 22) du matériel végétal à partir duquel la distillation a été effectuée. Ces derniers sont présents à de très faibles

concentrations, comme c'est le cas de l'eau de fleur d'oranger qui peut contenir plus de 0,03 g d'essence pour 100 ml (Kaloustian et *al.*, 2008 ; Ghédira et Goetz, 2015). Il est à noter que le composé majoritaire de l'hydrolat n'est pas forcément le même que celui de l'huile essentielle correspondante (Inouye et *al.*, 2008 in Hay, 2015).

Par ailleurs, la pharmacopée française recommande la conservation des hydrolats dans des récipients étanches à l'abri de la lumière. La durée de conservation de ces derniers est plus courte que celle des huiles essentielles (Kaloustian et *al.*, 2008). Cependant, il serait possible de remédier à cet inconvénient en utilisant des conservateurs conformes aux réglementations (Labadie, 2015).

5.3 Les extraits aqueux

5.3.1 Extraction

Leurs protocoles d'extraction sont extrêmement variés. Le matériel végétal à partir duquel l'extraction est réalisée doit être séché, puis réduit en poudre. Une quantité de cette poudre est mise dans de l'eau distillée préalablement portée à ébullition (infusion), puis le tout est laissé à refroidir pendant une durée donnée (Aouinty et *al.*, 2006).

Chez certains auteurs, l'étape d'infusion est suivie par une macération d'environ 24 heures (Hatimi et *al.*, 2001). Pour d'autres, l'étape est substituée par une macération sous agitation magnétique de 18 à 24 heures à la température ambiante (Nene Bi et *al.*, 2008 ; Fadel et *al.*, 2011). Elle est également substituée chez quelques-uns par une décoction pendant quelques minutes (Etou-Ossibi et *al.*, 2005), ou par un chauffage à reflux pendant quelques heures (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

La solution obtenue est directement filtrée et conservée (Hatimi et *al.*, 2001 ; Aouinty et *al.*, 2006 ; Jalander et Gachande, 2012). Dans certains travaux, au lieu de faire une filtration, la solution subit une évaporation sous vide ou une centrifugation, pour obtenir soit un résidu sec ou un surnageant respectivement. A partir de ces deux derniers, des solutions respectives de concentrations connues sont préparées et conservées. Cette dernière étape peut être précédée par la lyophilisation du résidu s'il est sous forme d'une pâte (Nene Bi et *al.*, 2008 ; Bagre et *al.*, 2011 ; Fadel et *al.*, 2011 ; Bougandoura et Bendimerad, 2013).

D'après les différentes sources bibliographiques consultées, la masse de la poudre et le volume d'eau utilisés, ainsi que la durée des différentes étapes du protocole et la température

de conservation, varient d'un auteur à un autre. Cette dernière est généralement de +4°C (Hatimi et *al.*, 2001 ; Jalander et Gachande, 2012).

5.3.2 Composition chimique

Parmi les composés signalés dans les extraits aqueux, nous citons ceux appartenant aux différentes classes de polyphénols (les plus représentés), à l'instar des flavonoïdes (plus de 5000 composés décrits) et des tanins, mais aussi les composés appartenant aux stéroïdes et aux saponines (Wollgast et Anklam, 2000 ; Dorman et *al.*, 2003 ; Silva et *al.*, 2005 ; Aiyegoro et Okoh, 2010 ; Bougandoura et Bendimerad, 2013).

5.3.3 Propriétés

Des travaux de recherches ont démontré des propriétés antifongiques (Senhaji et *al.*, 2005), antibactériennes (Ali-Emmanuel et *al.*, 2002), larvacides (Aouinty et *al.*, 2006) et antioxydantes (Schinella et *al.*, 2000 ; Prudêncio et *al.*, 2012) des extraits aqueux.

5.4 Les extraits alcooliques

5.4.1 Extraction

Les extraits alcooliques sont préparés de la même manière que les extraits aqueux précédemment décrits, leurs protocoles sont tout aussi variables que ceux de ces derniers. On retrouve ainsi le recours à différentes approches pour la préparation de l'extrait alcoolique à partir de la poudre végétale sèche, comme la macération sous agitation magnétique ou le chauffage à reflux. Autre similarité est que, les extraits alcooliques peuvent être directement filtrés et conservés, ou bien subir une dessiccation pour la préparation d'une solution du résidu/surnageant. Cependant, à la différence des extraits aqueux, le solvant employé cette fois-ci est un alcool (Ali-Emmanuel et *al.*, 2002 ; Pilarski et *al.*, 2006 ; Ho et *al.*, 2008 ; Touaibia et Chaouch, 2017). La conservation des extraits alcooliques se fait au frais et à l'abri de la lumière (Silva et *al.*, 2005 ; Touaibia et Chaouch, 2017).

Les deux principaux types d'extraits alcooliques rencontrés sont ceux préparés à base de méthanol et d'éthanol. Selon l'alcool utilisé comme solvant, on parle donc d'un extrait méthanolique ou éthanolique (Senhaji et *al.*, 2005).

5.4.2 Composition chimique

La composition des extraits alcooliques comprend des composés de diverses classes de polyphénols. Ces composés varient qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Parmi les classes identifiées, on distingue: les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins (Silva et *al.*, 2005 ; Pilarski et *al.*, 2006 ; Ho et *al.*, 2008 ; Touaibia et Chaouch, 2017). D'autres composés ont été également signalés, comme les terpènes et les stéroïdes (Peres et *al.*, 1997 ; Shah et *al.*, 2009).

5.4.3 Propriétés

Les travaux de recherche ont démontré les potentiels antifongiques (Senhaji et *al.*, 2005), antibactériens (Ali-Emmanuel et *al.*, 2002) et antioxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2013) des extraits alcooliques.

La différence entre les extraits aqueux et alcooliques d'une même plante, du point de vue composition et propriétés, serait due à la différence des taux de solubilité des composés phénoliques respectifs, dans les solvants des deux types d'extraits (Parekh et Chanda, 2007).

6 Rendement en extrait de plante

Le rendement en extrait d'une plante est le pourcentage de la quantité de l'extrait par rapport à la quantité du matériel végétal à partir duquel l'extraction a été faite. À titre d'exemple, le rendement en extrait de plante est souvent exprimé en millilitre d'huile essentielle par 100 g de matière sèche (Yuan et *al.*, 2016) ou bien par 100 g de plante séchée (Roby et *al.*, 2013).

7 Etude de l'activité antifongique

Comme son nom l'indique, l'étude de l'activité antifongique d'un produit est la détermination de son pouvoir potentiel d'arrêter, ou de diminuer le développement d'un champignon pathogène. Cela de manière sélective et avec un minimum d'effets secondaires sur l'hôte (Lion, 2017). Cette étude est communément réalisée sur milieu gélosé (Sawai et Yoshikawa, 2004).

Il existe une multitude de méthodes pour déterminer le pouvoir antifongique d'un produit. Parmi les méthodes les plus rencontrées, nous citons l'aromatogramme, la méthode des puits, la technique de contact direct et celle de la micro-atmosphère (Fauchère et Avril,

2002 ; Magaldi *et al.*, 2004 ; Ernst et Rogers, 2005 ; Şerban *et al.*, 2011 ; Albuquerque *et al.*, 2014). Les deux dernières techniques sont adoptées au cours de notre travail.

7.1 Méthode de contact direct

Cette méthode est l'une des plus utilisées dans la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un agent antimicrobien (Wiegand *et al.*, 2008). Quand ce dernier est soluble, il est mélangé et dilué dans de l'agar, puis le champignon est inoculé sur ce milieu. Si l'agent est insoluble ou faiblement soluble, il est mis sur l'agar et une suspension de spores du champignon étudié est pulvérisée (Sawai et Yoshikawa, 2004).

7.2 Méthode de micro-atmosphère

Cette méthode se focalise sur l'activité de la fraction volatile d'un produit étudié (huile essentielle principalement) sur l'agent pathogène étudié (Inouye *et al.*, 2006). Dans ce cas, le produit étudié n'est pas dissout dans l'agar, ni en contact direct avec l'agent pathogène, mais diffusé sur du papier stérile qui est mis sur le couvercle de la boîte de Pétri, celle-ci étant tournée à l'envers (Ben Arfa *et al.*, 2006).

Plusieurs espèces végétales de différentes familles sont présentées dans la bibliographie comme ayant des propriétés antifongiques. Comme le myrrhe (F : *Burseraceae*), le lierre grimpant (F : *Araliaceae*), la lavande (F : *Lamiaceae*), l'hydrastis (F : *Ranunculaceae*), le houblon (F : *Cannabaceae*), la cannelle de Ceylan (F : *Lauraceae*), le bigaradier (F : *Rutaceae*) et la bardane (F : *Asteraceae*) (Rombi et Robert, 2015).

Chapitre 2

***Matériel et
Méthodes***

1 Matériel

Dans notre étude, le matériel biologique utilisé est composé d'un matériel fongique et d'un matériel végétal.

1.1 Matériel fongique

Trois isolats fongiques nous ont été parvenus. Ils ont été prélevés à partir de quelques échantillons de fruits d'origine commerciale. Leur identification a été basée sur la caractérisation culturale et morphologique de cultures monosporales purifiées, après 2 semaines d'incubation sur milieu PDA à 25°C. Cette identification nous a été communiquée par le Dr. Messgo-Moumene, du laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, de la faculté SNV de l'université de Blida 1.

Tableau 2 : Isolats étudiées et leurs fruits d'origine

Isolat	<i>Colletotrichum musae</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
Fruit d'origine	Banane (<i>Musa acuminata</i>)	Orange (<i>Citrus sinensis</i>)	Fraise (<i>Fragaria ×ananassa</i>)
Symptomes			

1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué par la partie aérienne de *Lavandula stoechas* en stade fructification (feuilles, tiges, et restes des parties florales après fanaison) (Annexe 3).

La récolte a été réalisée le 15 décembre 2016 au maquis de la région de Bouarfa, dans la Wilaya de Blida. La région de l'étude fait partie de l'étage bioclimatique subhumide (Meddour, 2010).

D'une superficie de 210 m², la station de la récolte est située à 975 m d'altitude, et à 26 km du littoral (à vol d'oiseau) (Figure 6 et 7). Ces informations sont obtenues à l'aide du logiciel d'imagerie satellite *Google Earth Pro* (version 7.1.7.2606).



Figure 6 : Station de la récolte (Original, 2017) **Figure 7 : *Lavandula stoechas* dans son milieu naturel (Original, 2017)**

La récolte s'est faite en après-midi sous un ciel couvert à une température avoisinant les 16°C. Les échantillons ont été récoltés de manière aléatoire et mis dans des sacs en papier neufs et propres jusqu'à arrivés au lieu de séchage, là où ils ont été étalés sur du papier-journal (Figure 8) à l'abri de la lumière et à la température ambiante jusqu'à leur utilisation (plus de 20 jours avant première utilisation).



Figure 8 : Séchage des échantillons récoltés (Original, 2017)

2 Méthodes

La méthodologie suivie dans notre travail est résumée par le schéma suivant et dont les éléments mentionnés seront détaillés.

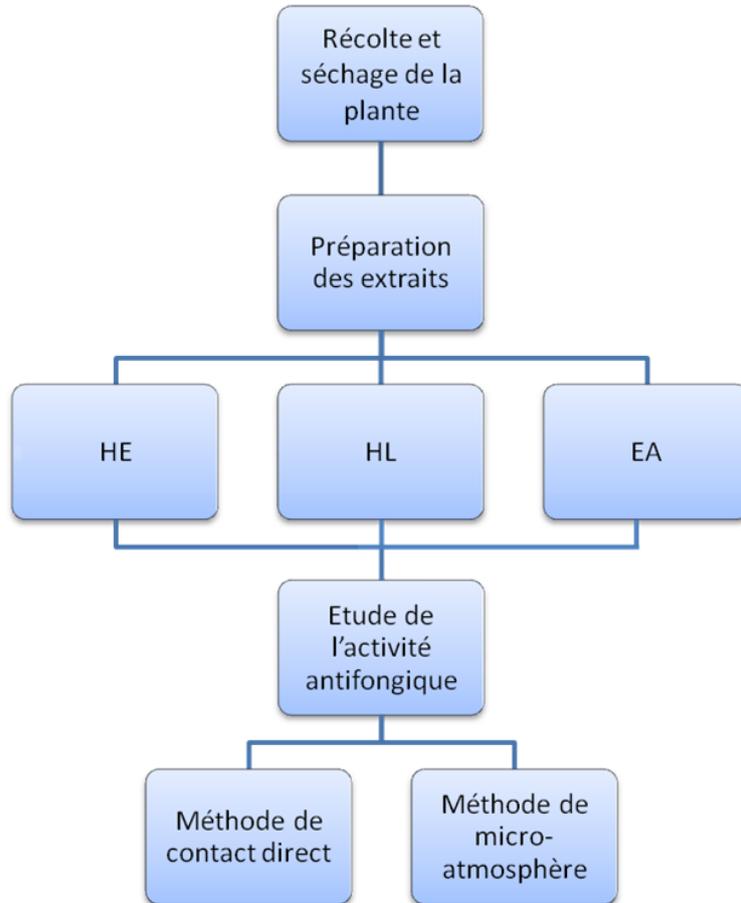


Figure 9 : Schéma du protocole expérimental (Original, 2017)

2.1 Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat

L'extraction de l'huile essentielle de *L. stoechas* a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger. L'hydrolat étant le coproduit de cette technique d'extraction.

En effet, 50 g de la plante séchée ont été introduits dans un ballon à fond rond avant d'y ajouter de l'eau distillée jusqu'à sa moitié, ce dernier a été ensuite mis dans le chauffe ballon. L'extraction a duré une heure et demi après l'apparition des premières gouttelettes du distillat. La durée de l'extraction et le volume d'eau ajouté ont été déterminés après un premier essai d'extraction.

L'huile essentielle et l'hydrolat ont été respectivement récupérés dans un tube Eppendorf et un flacon en verre stérilisés. Ces deux derniers ont été enveloppés par du papier aluminium, et conservés à une température de +4°C jusqu'à leurs utilisations.

2.2 Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été préparé selon la méthode de Hatimi et *al.* (2001). Ainsi, 10 g de la partie aérienne de *L. stoechas* séchée et réduite en poudre fine ont été ajoutés à 200 ml d'eau distillée en ébullition, le tout a été laissé infuser et macérer pendant 48 heures dans un bocal lavé à l'eau de Javel et enveloppé avec du papier aluminium.

Passé ce délai (48 heures), l'extrait a été filtré à travers un papier buvard stérile. Le filtrat obtenu a été stocké dans un flacon stérilisé couvert de papier aluminium, et conservé à +4°C jusqu'à son utilisation.

2.3 Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de la plante étudiée a été déterminé par rapport à 100 g de matière végétale sèche, suivant la formule rapportée par Benabdelkader (2012) :

$$R_{HE} (\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$$

Avec : R_{HE} (%) = rendement en huile essentielle (en %), M = masse de l'huile essentielle (en gramme), M_0 = masse de la matière végétale sèche utilisée (en gramme).

2.4 Etude de l'activité antifongique des extraits de *Lavandula stoechas*

L'étude de l'activité biologique a été focalisée sur l'activité antifongique que pourrait présenter *L. stoechas* sur les trois isolats fongiques issus des fruits. Les trois extraits préparés (HE, HL et EA) ont fait l'objet d'étude de l'activité antifongique selon la méthode de contact direct en considérant chaque extrait et chaque isolat fongique.

Cependant, l'huile essentielle seule a été maintenue pour l'étude de l'activité antifongique selon la méthode de micro-atmosphère.

Pour les deux techniques, cinq répétitions ont été réalisées pour chaque isolat et chaque extrait.

2.4.1 Technique de contact direct

La méthode de contact direct a été rapportée dans de nombreux travaux, parmi eux Remmal et *al.* (1993), Satrani et *al.* (2007), Bourkhiss et *al.* (2007) et El Ajjouri et *al.* (2008). Elle consiste à mettre en contact les microorganismes avec les extraits de plantes.

L'huile essentielle a été mise en émulsion dans une solution autoclavée d'eau-agar 0,2% (préparation : voir annexe 4) à une dilution de $1/25^{\text{ième}}$. Après agitation au vortex, un volume de 1,5 ml de la dilution précédente a été ajouté au milieu PDA en surfusion (préparation : voir Annexe 5), pour l'obtention d'une concentration finale de l'ordre de $1/250$ (v/v) (= 0,4 %).

Aussi, 1,5 ml de l'hydrolat et de l'extrait aqueux sont directement versés dans des boîtes de Pétri respectives, sur lesquels a été ajouté du milieu PDA en surfusion. La concentration finale était de l'ordre de $1/9$ (v/v) (= 11,1 %).

Les milieux témoins ont été préparés avec 1,5ml de solution d'eau-agar à 0,2% par substitution aux extraits de plantes, et qui seront mélangés à 13,5ml de PDA.

Les mélanges ont été coulés dans des boîtes de Pétri (respectives) sous hôte à flux laminaire, dans les conditions d'asepsie. Les boîtes ainsi préparées ont été mises à refroidir à l'abri des contaminants.

Le repiquage des boîtes consiste en un dépôt d'un fragment de 5 mm de diamètre prélevé d'un tapis mycélien provenant des cultures de chacun des isolats étudiés dans le PDA.

Enfin, les boîtes de Pétri ont été rapidement scellées par du parafilm et incubées à l'obscurité pendant 7 jours dans une étuve réglée à 25°C. Les paramètres suivants ont été suivis pour l'évaluation des taux d'inhibition des isolats testés et ceux des témoins : la croissance mycélienne déterminée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre du disque mycélien déposé, les modifications de l'aspect morphologique par observation vitale des cultures développées, la sporulation exprimée par le comptage des spores par le biais de la cellule de Malassez, ainsi que la survie. Le nombre de sclérotés produits par boîte de Pétri a été aussi compté pour *Botrytis cinerea*.

2.4.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont été calculés selon la formule décrite par Pandey *et al.* (1982), et rapportée par Sharma et Tripathi (2008) :

$$IG = \frac{(d_0 - dt)}{d_0} \times 100$$

Avec : IG = taux d'inhibition de la croissance mycélienne (en %), d_0 = moyenne des diamètres de la colonie fongique du témoin (en mm), dt = moyenne des diamètres de la colonie fongique du traitement (en mm).

2.4.1.2 Inhibition de la sporulation

Les cultures des isolats fongiques témoins et ceux développées sous l'effet des extraits pendant 12 jours ont fait l'objet de la détermination de la concentration en spores. Pour cela, des suspensions conidiennes ont été préparées en versant 10 ml d'eau distillée stérile dans les boîtes de Pétri. A l'aide d'une pipette pasteur sous forme d'un « L », le tapis mycélien contenu dans la boîte a été raclé pour le disperser dans l'eau rajoutée. Cette suspension a été ensuite récupérée dans des tubes à essai stériles, avant d'être agités vigoureusement au vortex et mis au réfrigérateur à +4°C, jusqu'à l'observation et le dénombrement des spores par la cellule de Malassez.

Les taux d'inhibition de la sporulation ont été calculés selon la formule décrite par Serghat *et al.* (2004) :

$$IS = \frac{(N_0 - N_C)}{N_0} \times 100$$

Avec : IS = taux d'inhibition de la sporulation (en %), N_0 = nombre moyen de spores estimé chez le témoin (spores/ml), N_C = nombre moyen de spores estimé chez le test (spores/ml).

2.4.1.3 Survie

Les cultures préalablement inhibées, ont été suivies jusqu'à deux mois dans les mêmes conditions d'incubation précitées, pour confirmer la reprise ou l'inhibition de la croissance mycélienne. L'évaluation du pouvoir inhibiteur des extraits dépend de la croissance des isolats :

- 1- L'extrait de plante serait fongicide en cas d'absence de la croissance mycélienne. Cela est confirmé par un repiquage des disques mycéliens respectifs de ces boîtes, dans des boîtes contenant du milieu PDA frais. Si l'absence de cette croissance persiste après 7 jours d'incubation, le pouvoir fongicide de l'extrait est alors confirmé.
- 2- En cas de reprise de la croissance mycélienne, l'extrait de plante est alors dit fongistatique.

2.4.1.4 Modifications de la morphologie des isolats testés

Des observations vitales au microscope photonique ont été réalisées pour les trois isolats, pour déterminer les modifications structurales des isolats fongiques testés à l'effet des extraits, par rapport aux témoins respectifs.

2.4.1.5 Etude de l'inhibition de la production des sclérotés chez *Botrytis cinerea*

Le nombre de sclérotés produits par *B. cinerea* par boîte de Pétri a été calculé pour chaque isolat, et chaque extrait de plante testé, après 2 semaines dans les mêmes conditions d'incubation précitées (Mello et al., 2005).

Ainsi, les taux d'inhibition de la production des sclérotés ont été calculés comme pour la croissance mycélienne (*IG*) et la sporulation (*IS*) selon la formule suivante :

$$IP = \frac{(N_0 - N_C)}{N_0} \times 100$$

Avec : *IP* = taux d'inhibition de la production des sclérotés (en %), *N*₀ = nombre de sclérotés produits par boîte de Pétri chez le témoin (sclérotés/boîte), *N*_C = nombre de sclérotés produits par boîte chez le test (sclérotés/boîte).

2.4.2 Technique de la micro-atmosphère

Cette technique consiste à déterminer le pouvoir inhibiteur de la fraction volatile de l'huile essentielle sur le développement fongique. L'huile essentielle n'étant donc pas en contact direct avec le champignon.

La technique de la micro-atmosphère suivie dans ce travail a été inspirée des travaux de Hmiri *et al.* (2011) et Laghchimi *et al.* (2014).

Le milieu PDA en surfusion a été coulé dans les boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, des disques mycéliens provenant des cultures de chaque isolat ont été bien déposées aseptiquement dans le milieu de culture au centre de chaque boîte de Pétri respective. Ces dernières ont été tournées à l'envers (couvercle en bas).

Des disques de 80 mm de diamètre de papier buvard stérilisé, ont été mis à l'intérieur de chaque boîte sur le couvercle (les boîtes étant toujours à l'envers), avant d'être imprégnés séparément avec différentes concentrations d'extrait de *L. stoechas* : 0 (témoin), 20, 40 et 60 μL /disque. Après imprégnation en huile essentielle de la plante, les boîtes ont été rapidement scellées par du parafilm pour empêcher son évaporation, les conditions d'incubation sont les mêmes que celles citées auparavant.

L'inhibition de la croissance mycélienne des isolats a été déterminée par la mesure de la moyenne des diamètres de leurs cultures respectives, après 7 jours d'incubation sous l'effet des 3 dilutions de l'extrait. Les taux d'inhibition ont été calculés selon la formule décrite par Pandey *et al.* (1982), citée précédemment.

L'inhibition de la production des sclérotés chez *B. cinerea* a été elle aussi déterminée de la même manière que celle la méthode de contact direct.

2.5 Analyse statistique

Afin d'évaluer le pouvoir antifongique des extraits de *L. stoechas* sur les isolats étudiés, et pour comparer leurs effets sur les paramètres biologiques suivis, des analyses statistiques ont été réalisées sur les taux d'inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation et du nombre de sclérotés produits pour *B. cinerea*. Ces analyses statistiques ont été effectuées en calculant la variance par le test ANOVA et le modèle GLM (Generalized Linear Model), sur le logiciel *SYSTAT vers.12*.

Les différences ont été considérées significatives pour $P \leq 0,05$ (Gouet et Philippeau, 1989).

Chapitre 3

***Résultats et
Discussion***

1 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de notre plante est de 1,22 % (m/m). Dob et *al.* (2006) ont affirmé un rendement proche (1,1 %) par hydrodistillation des feuilles et des fleurs de *L. stoechas* récoltée en Algérie.

Dans une étude sur l'huile essentielle de *L. stoechas*, une série d'extractions par hydrodistillation a été réalisée sur des échantillons récoltés entre Mars 2004 et Juin 2005 à Cagliari, en Italie (au niveau de la mer), le rendement en huile essentielle de la partie tiges/feuilles de la plante variait entre 0,8 et 2,4 % de matière sèche, avec 1,6 % pour l'échantillon récolté en décembre (Angioni *et al.*, 2006).

Le rendement en huile essentielle obtenu est important, d'autant plus que la plante est pérenne, ce qui indiquerait une disponibilité de notre huile à un taux intéressant durant toute l'année, et non seulement durant la période de floraison.

2 Etude de l'activité antifongique des extraits de *Lavandula stoechas*

2.1 Selon la technique de contact direct

2.1.1 Observations macroscopiques

Après 12 jours d'incubation, des observations macroscopiques ont été réalisées sur les cultures, pour connaître l'influence de l'huile essentielle, l'hydrolat et l'extrait aqueux de *Lavandula stoechas* L. (annexe 8) sur la variabilité culturale de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp. et *Penicillium digitatum* (Figures 10, 11 et 12).

La croissance mycélienne complète de *B. cinerea* a été constatée dès le 5^{ème} jour pour les isolats témoins et ceux traités par l'extrait aqueux, et au bout du 7^{ème} jour pour ceux testés par l'hydrolat. A l'opposé, aucun développement mycélien des cultures traitées par l'huile essentielle n'a été aperçu durant une semaine d'incubation (Figure 10).

Des sclérotés ont également été observés sur le milieu témoin, et celui contenant l'extrait aqueux. Avec le temps, la formation de ces sclérotés s'est faite du centre de la boîte vers sa périphérie, leur couleur a viré d'un gris clair vers le noir. La production des sclérotés a été visiblement inhibée par l'huile essentielle et l'hydrolat.

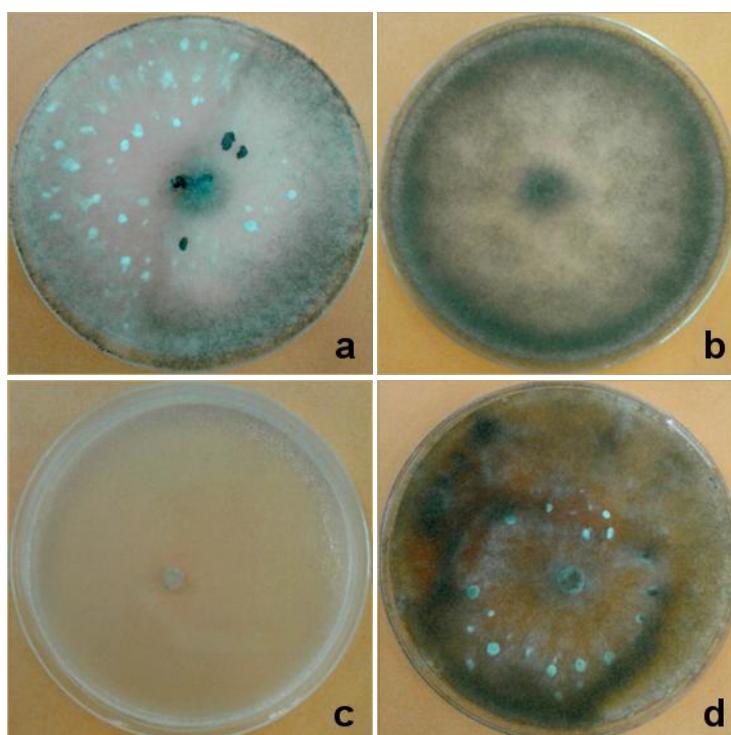


Figure 10 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*

a : témoin, b : hydrolat, c : huile essentielle, d : extrait aqueux

Concernant *Colletotrichum* sp. (Figure 11), aucune différence considérable sur les aspects culturels n'a été notée. La croissance mycélienne des isolats fongiques a été observée dès le 5^{ème} jour chez les cultures témoins et celles traitées par l'extrait aqueux, au bout du 7^{ème} jour pour les cultures testées par l'hydrolat. Cependant, aucune croissance mycélienne n'a été constatée sous l'effet de l'huile essentielle.

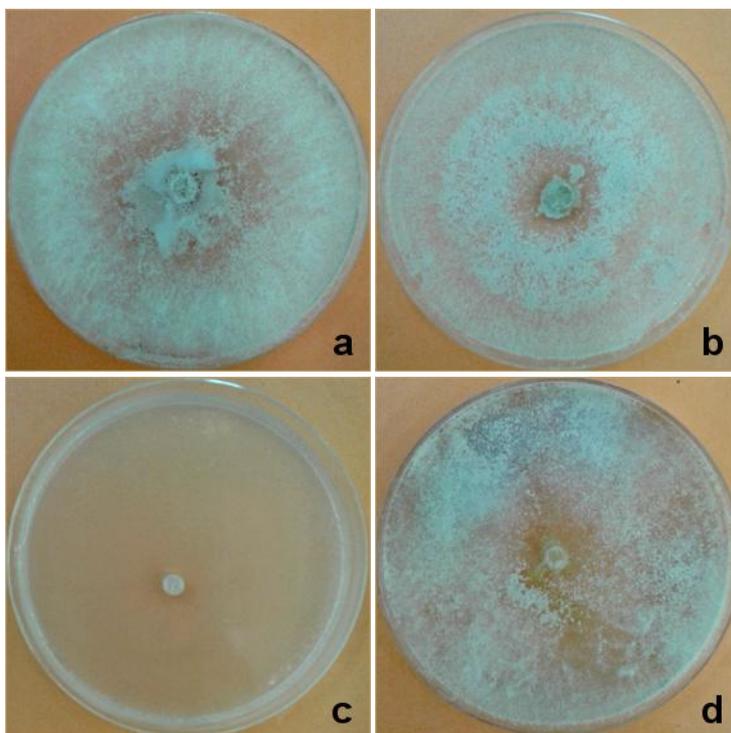


Figure 11 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp.

a : témoin, b : hydrolat, c : huile essentielle, d : extrait aqueux

La croissance mycélienne de *P. digitatum* a été beaucoup plus rapide que celle de *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. Des colonies fongiques dispersées sur le milieu commençaient à apparaître, puis leur développement gagnait tout le reste de la surface.

Ainsi, après 3 jours d'incubation, le témoin de *P. digitatum* avait déjà envahi la boîte, et les cultures testées par l'hydrolat et l'extrait aqueux avaient atteint la périphérie de leurs boîtes respectives, sans que le développement mycélien ne soit répandu sur tout le milieu. L'envahissement des boîtes s'est complété vers le 7^{ème} jour. Pour les cultures testées par l'huile essentielles, le développement s'est fait de la même manière que celui des deux cultures précédentes, mais à une fréquence relativement plus faible, le développement des colonies étant limité même jusqu'au 12^{ème} jour d'incubation (Figure 12).

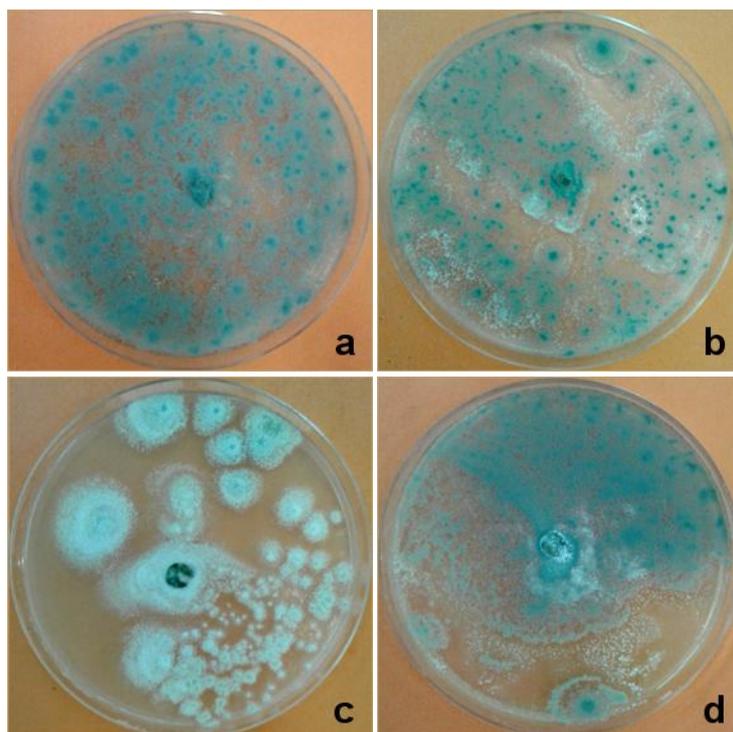


Figure 12 : Pouvoir inhibiteur des extraits de *Lavandula stoechas* utilisés selon la méthode de contact direct sur la croissance mycélienne de *Penicillium digitatum*

a : témoin, b : hydrolat, c : huile essentielle, d : extrait aqueux

Les aspects culturels des colonies des trois isolats fongiques étudiés ont révélé une contamination remarquable par les bactéries sur toutes les boîtes de Pétri contenant l'extrait aqueux (Figures 10, 11 et 12). Ceci pourrait s'expliquer par des erreurs de manipulation lors du lancement de l'expérience (préparation des milieux, repiquage des isolats), ou plus probablement par la possibilité que ces bactéries soient endophytes (Yadav et *al.*, 2011), ce qui serait intéressant de confirmer et d'exploiter dans le futur.

Il est à noter tout de même que le mycélium a pu se développer à travers la quasi-totalité de ces contaminations (Annexe 9). Donc ces dernières n'ont pas eu d'influences majeures sur les résultats finaux.

2.1.2 Inhibition de la croissance mycélienne

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum* sp. et *Penicillium digitatum* traités par l'huile essentielle, l'hydrolat et l'extrait aqueux de *L. stoechas*, selon la méthode de contact direct, a permis l'obtention de différences très hautement significatives ($P < 0.001$), selon les isolats fongiques, les extraits et l'interaction de ces deux derniers facteurs (Annexe 10).

Dans l'ensemble, *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. ont été plus inhibés par les 3 extraits que *P. digitatum*, à des taux respectifs de 33,5 %, 33,3 % et 5,4 %. Cependant, tous ces taux d'inhibition de la croissance mycélienne restent peu importants (Figure 13a), indiquant une résistance considérable par *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. et très importante par *P. digitatum* aux extraits de *L. stoechas*.

Parmi les extraits étudiés (Figure 13b), seule l'huile essentielle a montré un pouvoir inhibiteur intéressant sur la croissance mycélienne de l'ensemble des isolats fongiques, avec un pourcentage de 71,8 %. Ce taux est très faibles, voir nuls pour l'hydrolat (0,3 %) et l'extrait aqueux (0 %).

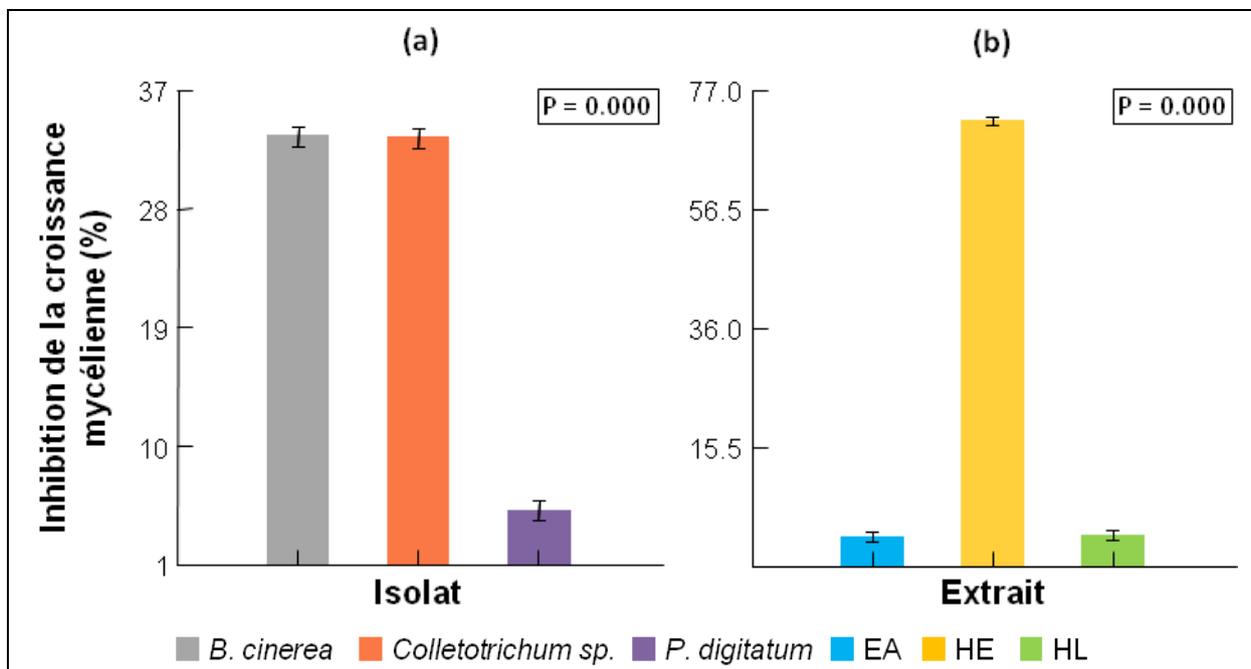


Figure 13 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés selon la méthode de contact direct en modèle GLM selon les isolats (a) et les extraits étudiés (b).

Une inhibition totale de la croissance mycélienne (100 %) a été obtenue par l'huile essentielle pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp., alors qu'elle n'est que de 15,5 % pour *P. digitatum* (Figure 14). Les résultats obtenus par l'hydrolat sont extrêmement faibles, voire nuls pour *Colletotrichum* sp. (0,5 %), *B. cinerea* (0,4 %) et *P. digitatum* (0 %). L'extrait aqueux n'a montré aucune inhibition (0 %), et cela pour les trois isolats fongiques testés.

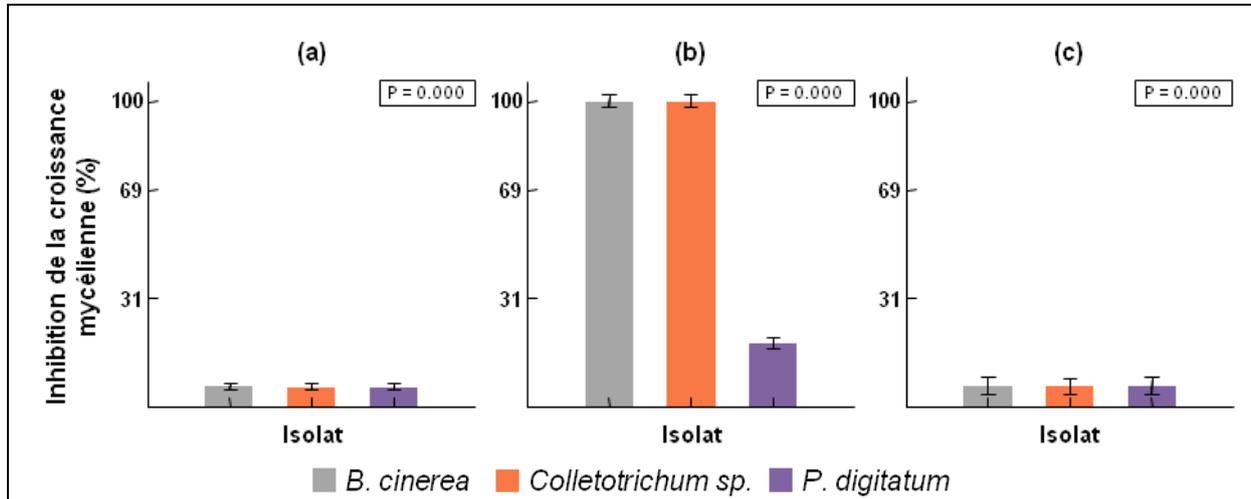


Figure 14 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés selon la méthode de contact direct selon les extraits étudiés en modèle GLM.

(a) : selon l'extrait aqueux, (b) : selon l'huile essentielle, (c) : selon l'hydrolat.

2.1.3 Inhibition de la sporulation

L'analyse statistique des taux d'inhibition de la sporulation des isolats fongiques (*B. cinerea*, *Colletotrichum* sp. et *P. digitatum*) par les extraits étudiés, a révélé une différence très hautement significative ($P < 0,001$), et cela selon les isolats, les extraits et l'interaction de ces deux derniers facteurs (Annexe 11).

Par rapport aux isolats, la sporulation de *B. cinerea* a été la plus inhibée par les extraits en général avec un pourcentage élevé (77,1 %), suivi de celle de *Colletotrichum* sp. (51,9 %) et enfin celle de *P. digitatum* à un pourcentage moindre (38,1 %) (Figure 15a).

L'huile essentielle est le seul extrait présentant un taux d'inhibition important sur les 3 isolats fongiques étudiés (97,8 %), les taux d'inhibition enregistrés par l'extrait aqueux et l'hydrolat étant de 39,6 et 29,7 % respectivement (Figure 15b).

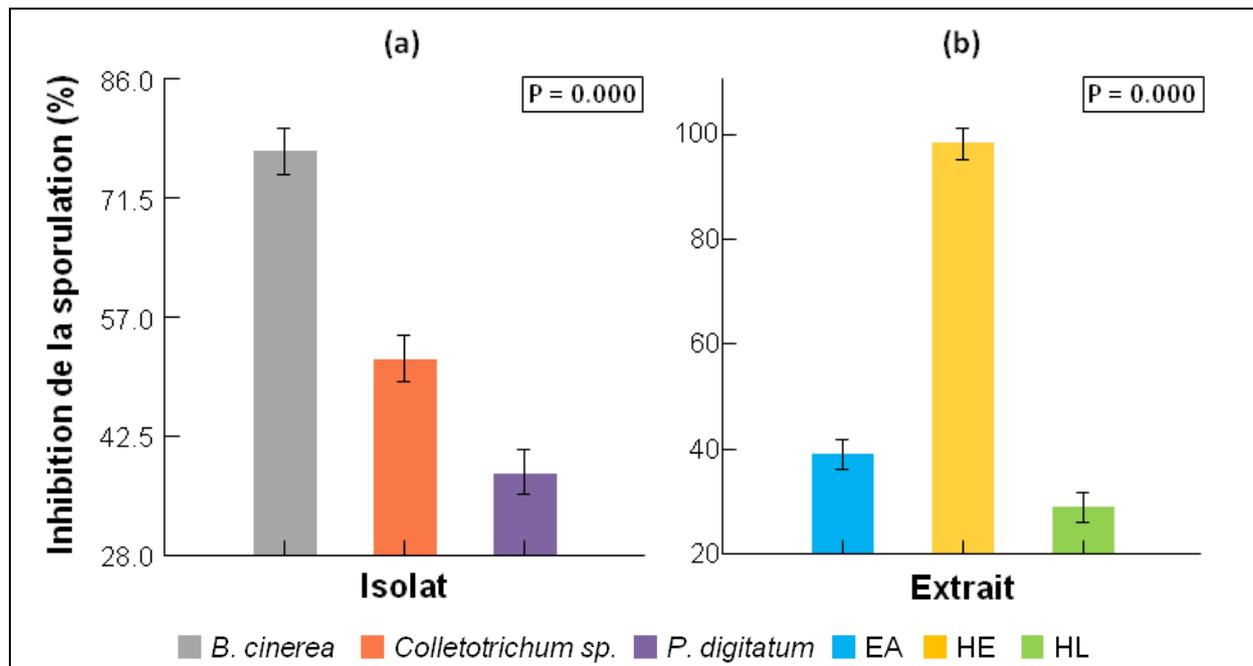


Figure 15 : Inhibition de la sporulation des isolats testés selon la méthode de contact direct par en modèle GLM selon les isolats (a) et les extraits étudiés (b).

Les meilleurs taux d'inhibition de la sporulation enregistrés sont ceux réalisés par l'huile essentielle sur *B. cinerea* (100 %), *Colletotrichum* sp. (100 %) et *P. digitatum* (93,4 %) (Figure 16). La plus forte inhibition obtenue par l'extrait aqueux est celle produite sur *B. cinerea* (68,8 %), son action étant relativement faible sur *P. digitatum* et *Colletotrichum* sp. (29,1 et 21 % respectivement). Quant à l'hydrolat, ses effets sur la sporulation étaient les moins importants parmi ces extraits, son seul pouvoir inhibiteur intéressant est celui exercé sur *B. cinerea* (62,7 %), suivi d'un résultat modéré pour *Colletotrichum* sp. (26,5 %), et nul pour *P. digitatum* (0 %).

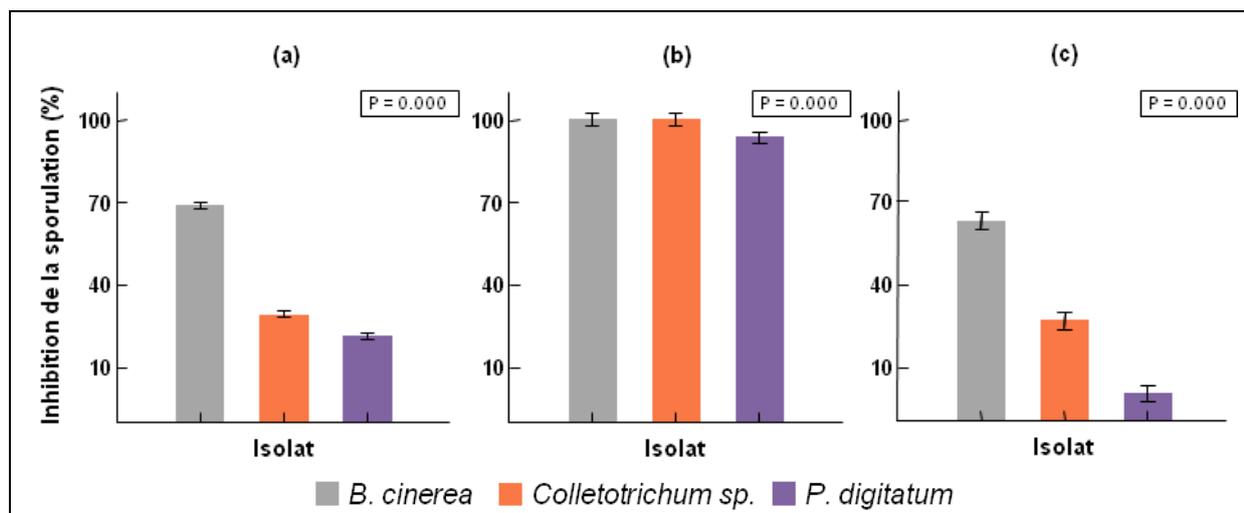


Figure 16 : Inhibition de la sporulation des isolats testés par la méthode de contact direct selon les extraits en modèle GLM.

(a) : selon l'extrait aqueux, (b) : selon l'huile essentielle, (c) : selon l'hydrolat.

2.1.4 Survie

Le suivi de la croissance des cultures de *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. préalablement inhibées, a montré une reprise de la croissance mycélienne chez ces deux isolats fongiques, après 2 mois d'incubation dans les mêmes conditions expérimentales citées précédemment (Figure 17). Ce qui nous renseigne sur l'effet fongistatique de l'huile essentielle testée à $1/250^{\text{ième}}$ sur *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. Cependant, la croissance mycélienne de ces deux isolats fongiques a été visiblement moins dense que celle des témoins. Pour *B. cinerea* (Figure 17), une formation de sclérotes d'un calibre moins important que celle des témoins (Figure 10a) a été notée.

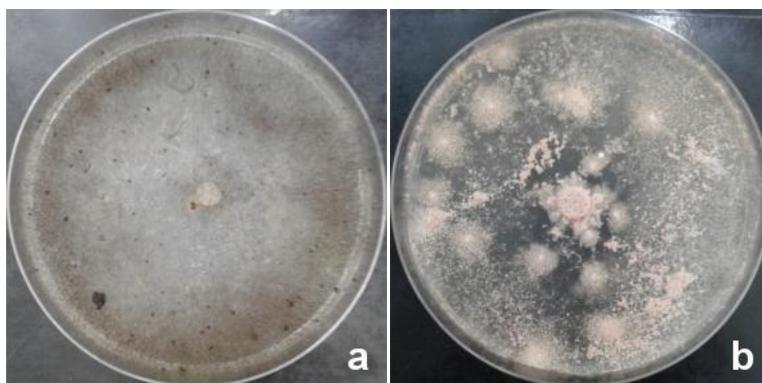


Figure 17 : Survie des isolats préalablement inhibés par l'effet de l'huile essentielle à $1/250^{\text{ième}}$.

a : *B. cinerea*, b : *Colletotrichum* sp.

2.1.5 Pouvoir antifongique des huiles essentielles sur la morphologie des isolats étudiés

Les observations microscopiques vitales des cultures (âgées de 26 jours), ont permis la constatation de l'effet de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur les isolats fongiques inhibés et ceux des témoins (Figure 18).

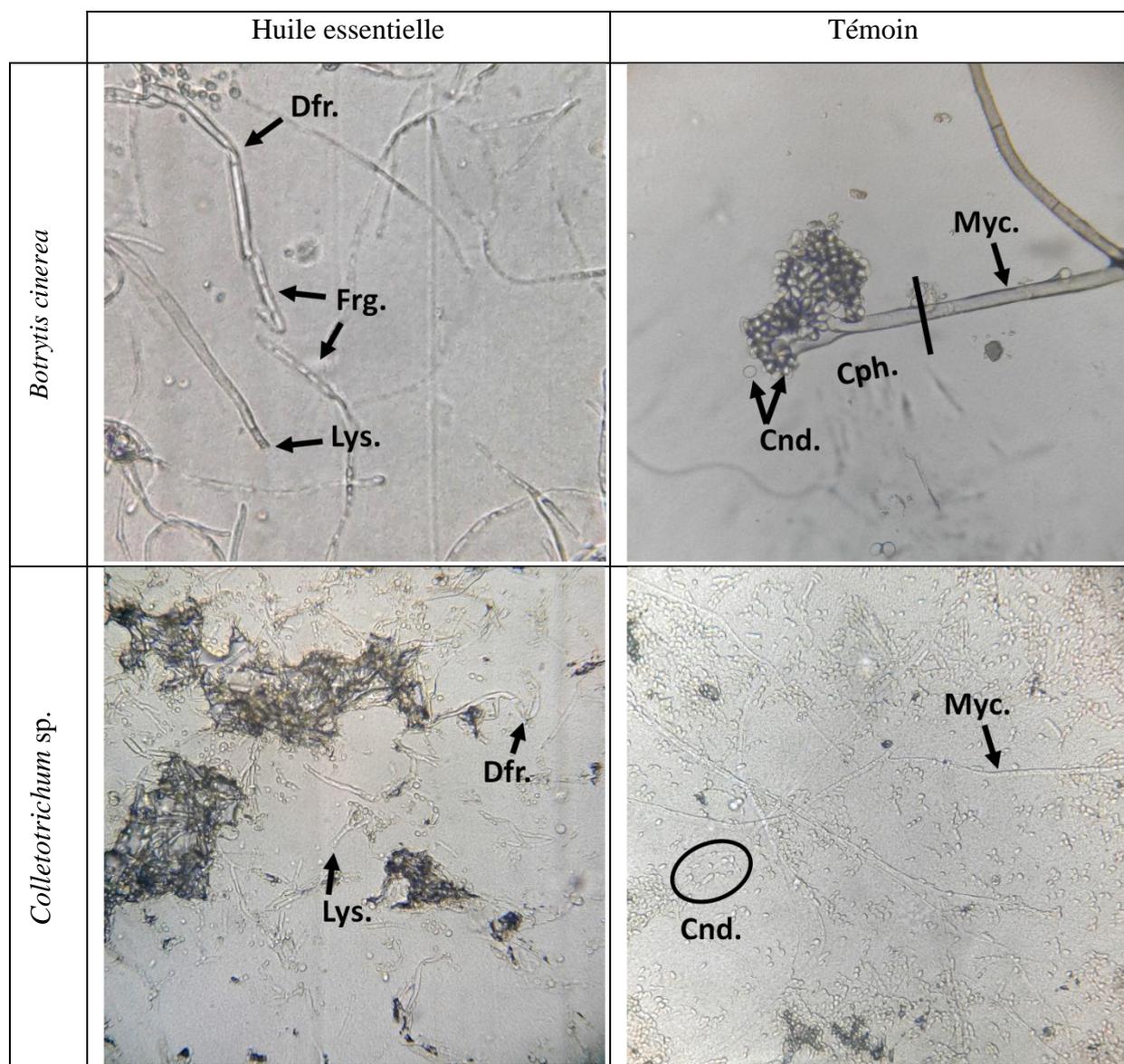


Figure 18 : Effet des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sur la morphologie des isolats fongiques étudiés (Gr. × 500).

Myc. : mycélium, Cnd. : condies, Cph. : conidiophore, Dfr. : déformation, Frg. : fragmentation, Lys. : lyse.

Des modifications structurales ont été notées sur *B. cinerea* et *Colletotrichum sp.* sous l'effet de l'huile essentielle de la plante étudiée. Les changements microscopiques sont traduits par la réduction affectant le diamètre mycélien et la densité des conidiophores

produits chez *B. cinerea*, sous l'effet de l'huile essentielle. Ce qui pourrait expliquer entre autres, l'aspect moins dense des cultures ayant repris la croissance (Figure 17b).

Des lyses et des déformations (distorsions) sont également observées au niveau des hyphes de *B. cinerea* et de *Colletotrichum* sp. Des fragmentations ont été également présentes au niveau des hyphes de *B. cinerea*. Cependant, aucune modification structurale majeure n'a pu être observée sur les conidies.

2.1.6 Inhibition de la production des sclérotés chez *Botrytis cinerea*

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotés chez *B. cinerea*, sous l'effet des 3 extraits à base de *L. stoechas* et selon la méthode de contact direct, a montré une différence non significative ($P > 0,05$) (Annexe 12).

Tous les extraits ont révélé une inhibition remarquable de la fréquence de sclérotés produits. Ainsi, l'inhibition a été complète pour l'huile essentielle (100 %), et très importante pour l'hydrolat (97,5 %), et bonne pour l'extrait aqueux (59,7 %) (Figure 10 et 19).

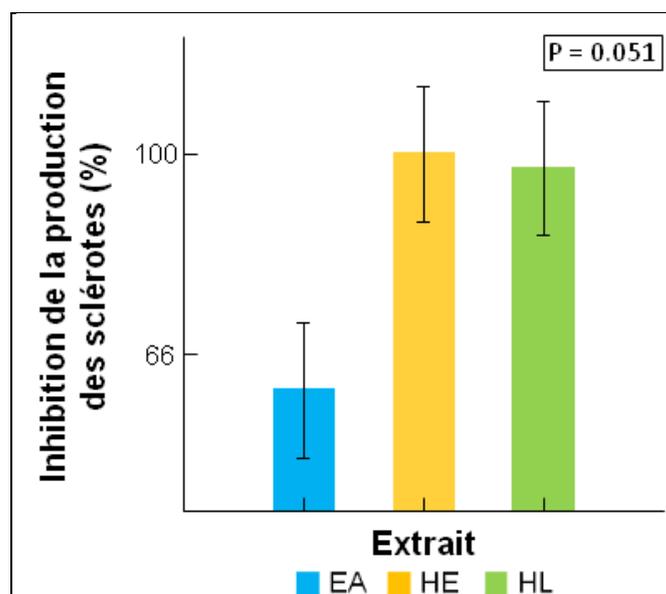


Figure 19 : Inhibition de la production des sclérotés chez *Botrytis cinerea* testé par la méthode de contact direct en modèle GLM selon les extraits.

2.2 Selon la technique de micro-atmosphère

2.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne

Les différentes concentrations en huile essentielle testées selon la méthode de micro-atmosphère, ont permis une inhibition importante de la croissance mycélienne de l'isolat de *Colletotrichum* sp. et celui de *B. cinerea* (isolats préalablement inhibés par l'huile essentielle), et cela avec une différence non-significative ($P = 0,312$) (Annexe 13).

Les taux d'inhibition enregistrés par l'ensemble des concentrations varient de 96,5 % et 98,6 % pour chacun des isolats respectivement (Figure 20a).

En revanche, une différence significative a été révélée par l'analyse de la variance des taux d'inhibition selon les concentrations en huile essentielle testées ($P = 0,011$). Ainsi, les concentrations de 60 et 40 $\mu\text{l}/\text{disque}$ ont permis une inhibition complète de la croissance mycélienne des deux isolats (100%). De même, une importante inhibition (92,7 %) a été enregistrée pour la concentration 20 $\mu\text{l}/\text{disque}$ sur la croissance de ces mêmes isolats (Figure 20b).

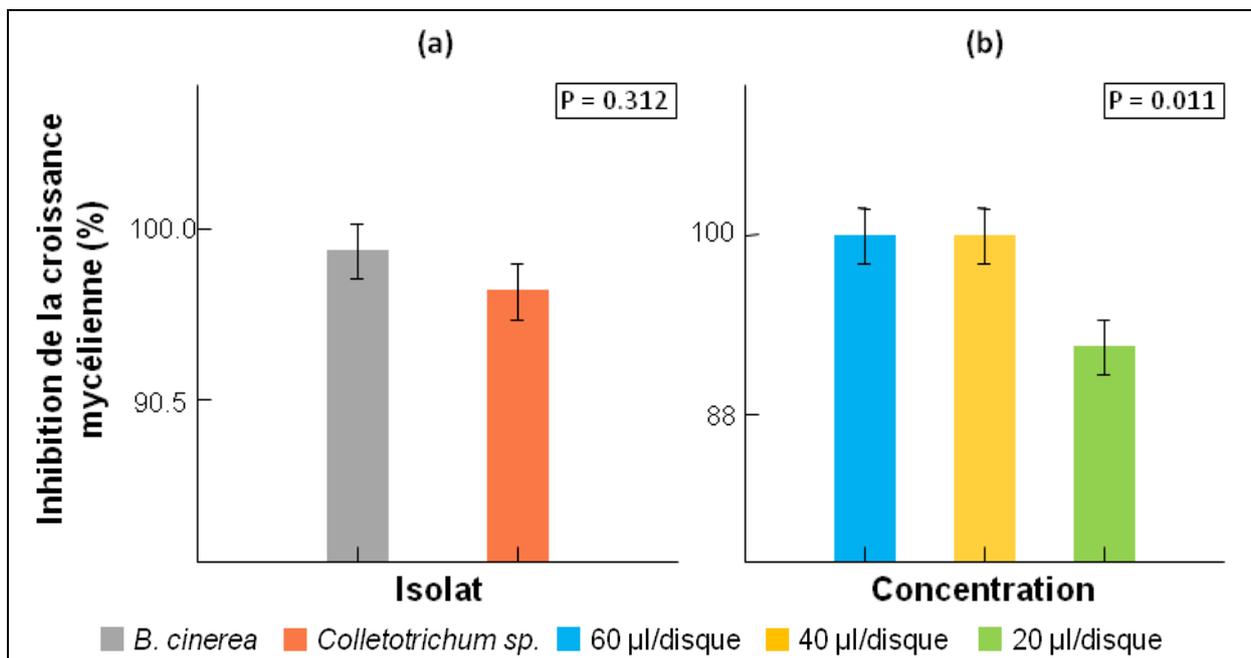


Figure 20 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés par la méthode de la micro-atmosphère en modèle GLM selon les isolats (a) et les concentrations en huile essentielle étudiées (b).

Les résultats recensés pour les différentes concentrations testées sur les deux isolats étudiés sont d'une variabilité très hautement significative ($P < 0.001$). En effet, l'inhibition a été remarquable et complète (100 %) pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. pour les concentrations 60 et 40 $\mu\text{l}/\text{disque}$, et importante même pour la concentration 20 $\mu\text{l}/\text{disque}$ avec une inhibition de 95,8 et 89,6 %, respectivement (Figure 21).

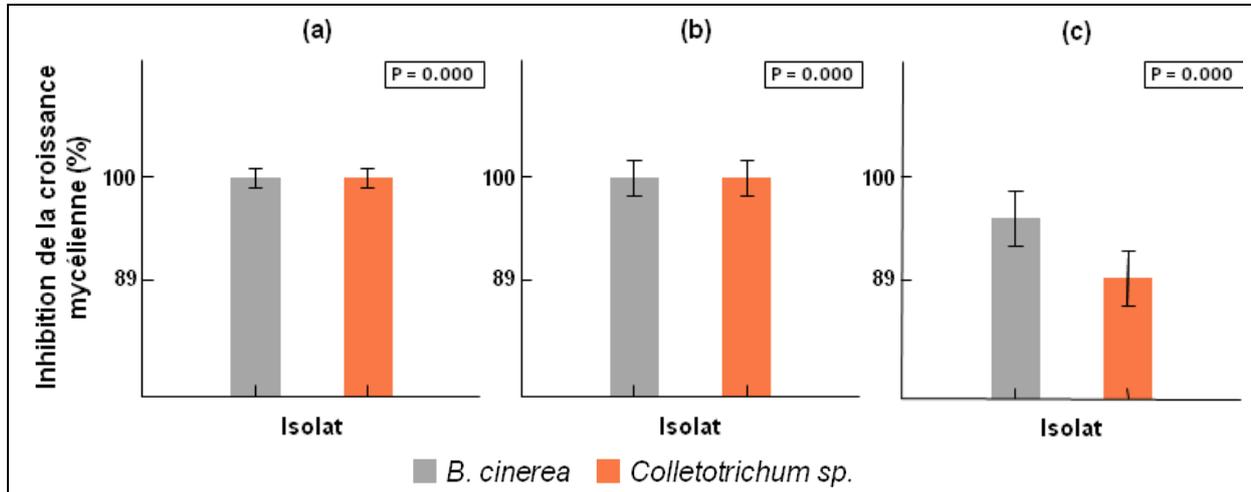


Figure 21 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats testés par la méthode de la micro-atmosphère selon les concentrations en huile essentielle en modèle GLM.

(a) : 60 $\mu\text{l}/\text{disque}$, (b) : 40 $\mu\text{l}/\text{disque}$, (c) : 20 $\mu\text{l}/\text{disque}$.

2.2.2 Inhibition de la production des sclérotes chez *Botrytis cinerea*

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotes chez *B. cinerea*, sous l'effet de la fraction volatile de l'huile essentielle testée aux 3 concentrations, a montré une différence non significative ($P > 0,05$) (Annexe 14).

Les 3 concentrations en huile essentielle testées (60, 40 et 20 $\mu\text{l}/\text{disque}$) ont complètement inhibé la production des sclérotes (100 %). De ce fait, on peut proposer la plus faible concentration de 20 $\mu\text{l}/\text{disque}$ pour l'inhibition de la production des sclérotes par *B. cinerea* (Figure 22).

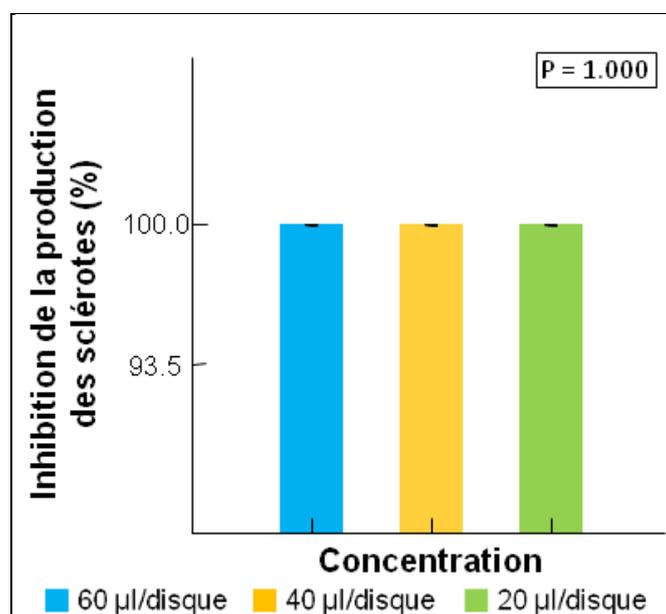


Figure 22 : Inhibition de la production des sclérotes chez le *Botrytis cinerea* testé par la méthode de la micro-atmosphère en modèle GLM selon les concentrations employées.

Les résultats ainsi obtenus révèlent une variabilité du pouvoir antifongique de l'huile essentielle, de l'hydrolat et de l'extrait aqueux de *Lavandula stoechas*, testés sur *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* et *Colletotrichum* sp., et cela à travers différents paramètres : croissance mycélienne, sporulation, production des sclérotés (chez *B. cinerea*) et survie. Dans l'ensemble, la plante étudiée a présenté un potentiel antifongique intéressant.

En effet, quelques travaux de recherche ont déjà confirmé les activités antifongiques de *L. stoechas*, et notamment sur des agents phytopathogènes. Comme Bouzouita et al. (2008) qui ont affirmé une inhibition complète de *Geotrichum candidum*, par une concentration de 0,75 % d'huile essentielle de feuilles de *L. stoechas* récoltée à Kairouan, en Tunisie. Mohammedi et Atik (2012) ont pu à leur tour inhiber quelques champignons phytopathogènes, comme *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. et *Penicillium* spp. à des concentrations diverses en huile essentielle de feuilles de *L. stoechas* récoltée à Tlemcen, en Algérie.

La détermination de l'inhibition de la croissance mycélienne de *B. cinerea*, *Colletotrichum* sp. et *P. digitatum*, selon la méthode de contact direct par les extraits de plantes, a été réalisée auparavant par un certain nombre de travaux employant les extraits de plante.

Les résultats de notre huile essentielle sur *B. cinerea* coïncident avec ceux obtenus par Soyly et al. (2010), qui ont confirmé une inhibition complète par 2,56 % d'huile essentielle de la partie aérienne de *L. stoechas*. Singh et Tripathi (2015) ont quant à eux signalé une inhibition de 90 % par l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* (Cannelle de Ceylan) sur *Colletotrichum musae*. Cependant, une inhibition modérée a été enregistrée par l'huile essentielle de *L. angustifolia* récoltée en Grèce sur *P. digitatum* (Daferera et al., 2000).

Les études sur les activités antifongiques des hydrolats se font très rares. Un travail sur le pouvoir antifongique de l'hydrolat de *Saturaje hortensis* L. sur *B. cinerea*, a montré des résultats complètement opposés aux nôtres, avec une inhibition totale de la croissance mycélienne à une concentration de 15 % (Boyraz et Özcan, 2005 in Saeidnia et al., 2015). Un autre travail intéressant a porté sur l'effet *in vivo* de l'hydrolat de la partie aérienne de *Thymus capitatus* (récoltée à Tlemcen, Algérie), sur des oranges inoculées avec *P. italicum* (champignon proche du *P. digitatum*). Cette étude menée par Tabti et al. (2014) a permis l'inhibition totale du développement du champignon, pendant 15 jours d'incubation à 25°C et 70 % d'humidité, et cela par la pulvérisation de l'hydrolat à une concentration de 0,02 %.

Les résultats du pouvoir inhibiteur de la sporulation de *B. cinerea* par l'huile essentielle de *L. stoechas*, concordent avec ceux obtenus par Tripathi et al. (2008), qui ont affirmé une inhibition complète de la sporulation de *B. cinerea* à 0,02 % d'huile essentielle de feuilles de basilic (*Ocimum sanctum*), récoltée en Inde. Concernant *Colletotrichum* sp., Tzortzakis et Economakis (2007) sont arrivés à 100 % d'inhibition de la sporulation de *C. coccodes* par 0,05 % d'huile essentielle de citronnelle (*Cymbopogon citratus*). Enfin, Daferera et al. (2000) n'ont enregistré aucun effet inhibiteur sur *P. digitatum* et cela, jusqu'à une concentration de 0,1 % d'huile essentielle de *L. angustifolia*.

Selon Elad et al. (2007), une forte production de conidies représente une menace durable aux hôtes sensibles. Donc l'inhibition de la sporulation permettra de réduire ce risque, et par conséquent de minimiser les pertes des fruits stockés.

Notre huile essentielle a ainsi exercé un pouvoir fongistatique sur *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. à une concentration de 1/250^{ième} (0,4 %). Le même résultat a été enregistré sur *B. cinerea* par Plotto et al. (2003) après avoir employé l'huile essentielle du thym à 0,05 %. Par contre, l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* a confirmé son effet fongicide sur *Colletotrichum* sp. à une concentration de 0,01 % (Singh et Tripathi, 2015).

L'inhibition de la production des sclérotés par des extraits de plantes est très rarement étudiée. D'après la bibliographie, aucune étude n'a porté sur l'inhibition *in vitro* de la production des sclérotés chez *B. cinerea*.

Selon le cycle de vie de *B. cinerea*, la formation des sclérotés se fait à partir du mycélium. De ce fait, l'absence de la production des sclérotés de *B. cinerea* pourrait s'expliquer par l'inhibition totale de la croissance mycélienne par l'huile essentielle.

Bien que l'hydrolat n'ait pas inhibé la croissance mycélienne de *B. cinerea*, la production de sclérotés quant à elle, a été très fortement réduite durant deux semaines. Ceci pourrait empêcher *B. cinerea* de reprendre son développement après avoir traversé des conditions défavorables. D'où une limitation de son inoculum.

De manière semblable, l'extrait aqueux a inhibé considérablement la production des sclérotés, à la différence du développement mycélien.

Les résultats remarquables obtenus par la méthode de micro-atmosphère pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp., sont en accord avec les données bibliographiques, où Soyly

et *al.* (2010) ont montré une inhibition complète de la croissance mycélienne de *B. cinerea* par l'huile essentielle de *L. stoechas* à une concentration de 1,6 µg/ml air. De leur côté, Aguiar et *al.* (2014) ont eux aussi signalé une inhibition du *Colletotrichum* sp. par *Corymbia citriodora* (l'eucalyptus citronné) et *Cymbopogon nardus* (la citronnelle).

Comme pour la méthode de contact direct, l'inhibition complète de la production des sclérotés par les trois concentrations est évidente, vu que ces trois dernières ont inhibé son développement mycéliens de manière quasi-totale.

Ceci dit, il reste possible dans certains cas que la production des sclérotés soit inhibée, même si le développement mycélien a lieu.

Cela a été prouvé par l'étude de l'activité antifongique des composés volatiles émis par la vigne isabelle (*Vitis labrusca*), menée par Kulakiotu et *al.* (2004). Cette équipe a employé un système de Mariotte modifié permettant de contrôler les conditions expérimentales (Annexe 15). Brièvement, des boîtes de Pétri inoculée avec *B. cinerea* ont été mises ouvertes dans un dessiccateur sur une grille stérile, sous laquelle des grappes du fruit sont posés. Ce traitement a permis une inhibition totale de la production de sclérotés pendant 25 jours à 21°C, malgré le développement mycélien. Il est à noter que cette étude est la plus proche de la notre concernant l'effet inhibiteur des composés volatiles sur la production des sclérotés.

A l'issue de notre travail, l'huile essentielle de *L. stoechas* a présenté le meilleur pouvoir antifongique entre les extraits étudiés. Pour les isolats, *B. cinerea* s'est avéré le plus sensible aux extraits, contrairement au *P. digitatum* qui a été le moins affecté.

Certains auteurs ont décrit le mode d'action des huiles essentielles par la modification de la morphologie du champignon testé. Romagnoli et *al.* (2005) qui, par des observations aux microscopes électroniques à balayage et à transmission du *B. cinerea*, ont expliqué l'effet inhibiteur de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne, traduit par l'altération de l'apex des hyphes terminaux. Ils soulignent en citant Wessels et Meinhard (1994) que c'est au niveau de ce site que la croissance mycélienne se fait. Ils suggèrent que ces altérations empêchent l'assemblage correct des constituants de la paroi (comme la chitine, les glucanes et les glycoprotéines), et induisent la formation d'un film autour des hyphes lors des traitements à fortes doses. Ils ajoutent que la ramification des hyphes terminaux et la perte de leur forme linéaire pourraient être dues à une modification de l'aspect directionnel des vésicules, sous l'action des composés de l'huile essentielle sur les microtubules.

Tout le système endomembranaire a subi des détériorations, comme la dégénérescence des crêtes mitochondriales, le détachement de la membrane cytoplasmique de la paroi cellulaire, ainsi que la dissolution partielle de l'enveloppe nucléaire et du réticulum endoplasmique. Ceci affirme selon la même équipe, que la membrane cellulaire constitue une cible principale pour les constituants de l'huile essentielle. Ils émettent ensuite une hypothèse en se basant sur Schreier (1988), que les composés terpéniques lipophiles interfèreraient avec les bicouches lipidiques (phospholipides) en présence des composés hydrosolubles, ce qui augmenterait le pouvoir antifongique de l'huile essentielle.

D'après Piper (2001), l'action de l'huile essentielle sur la membrane cellulaire induit une perméabilité de cette dernière, d'où la fuite du contenu mycélien.

Romagnoli et *al.* (2005) ajoutent que les différentes interactions et altérations des parois et des membranes cellulaires affecteraient les processus biologiques du champignon. En particulier, les dommages causés aux mitochondries engendreraient une baisse de la production de l'énergie, et par conséquent la sénescence (vieillesse) prématurée du mycélium.

Chapitre 4

***Conclusion et
Perspectives***

Le présent travail vise la recherche d'une alternative biologique aux pesticides chimiques par le biais d'extraits de plantes, pour une meilleure conservation des fruits au cours de leur stockage, en termes de sécurité et de durabilité.

Dans ce contexte, notre étude porte sur l'activité antifongique des extraits de plantes, sur des isolats fongiques prélevés à partir de quelques fruits altérés par les moisissures au cours de leur stockage. Des extraits ont été préparés à partir de la partie feuillue de *Lavandula stoechas* L. récoltée au stade végétatif, d'une colline de la région de Blida. Il s'agit de l'huile essentielle et de l'hydrolat extraits par hydrodistillation, ainsi que de l'extrait aqueux obtenu par infusion et macération. D'une importance économique majeure (Eckert et Eaks, 1989 in Marcet-Houben et al., 2012 ; Elad et al., 2007 ; Peeran et al., 2014), les isolats étudiés sont *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* et *Colletotrichum* sp., ils ont été prélevés respectivement d'oranges et de fraises locales, et de bananes importées.

L'étude antifongique s'est faite *in vitro* selon la méthode de contact direct pour tous les extraits testés, avec 1/250^{ième} (0,4 %) d'huile essentielle et 1/9^{ième} (11,1 %) pour chacun de l'hydrolat et de l'extrait aqueux. Cette méthode a été suivie par celle de micro-atmosphère, focalisée sur l'action de la fraction volatile de l'extrait ayant présenté le plus d'efficacité. Ce dernier a été employé à 3 concentrations : 60, 40 et 20 µl/disque.

Globalement, les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle détient le pouvoir antifongique le plus prononcé de ces extraits, particulièrement contre *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. Entre les isolats étudiés, *P. digitatum* s'est avéré le plus résistant, contrairement à *B. cinerea* qui était le plus sensible.

Pour la méthode de contact direct, l'activité antifongique était dominée par l'huile essentielle. Son inhibition de la croissance mycélienne était complète pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. à une concentration de 1/250^{ième}. Quant à la sporulation, l'inhibition a été importante, et même complète par l'huile essentielle pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. L'extrait aqueux et l'hydrolat ont également enregistré des taux d'inhibition très intéressants à 1/9^{ième} sur la sporulation de *B. cinerea*, à des taux respectifs de 68,8 et 62,7 %. Ce qui pourrait se traduire sur le terrain par une réduction d'inoculum contaminant des fruits sains. L'effet inhibiteur des trois extraits testés sur la production des sclérotés chez *B. cinerea* a aussi été important. L'inhibition était complète pour l'huile essentielle (100 %), très forte pour l'hydrolat (97,5 %) et modérée pour l'extrait aqueux (59,7 %).

Concernant la méthode de micro-atmosphère, La croissance mycélienne des cultures fongiques de *B. cinerea* et de *Colletotrichum* sp. a été fortement inhibée par l'huile essentielle testée aux 3 concentrations.

Une inhibition totale a été enregistrée à 60 et 40 µl/disque. Elle a dépassé 95 et 89 % à 20 µl/disque pour *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. respectivement. La production des sclérotés de *B. cinerea* a également connu une inhibition complète sous l'effet de la fraction volatile de l'huile essentielle testée aux 3 concentrations.

Plusieurs portes s'ouvrent à la recherche. Il serait intéressant de compléter cette étude par :

- La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle testée et sa fraction volatile sur le développement de *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. ;
- Etude de la composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas*.
- Etude de l'activité antifongique *in vivo* de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur le pouvoir pathogène de *B. cinerea* et *Colletotrichum* sp. ;
- Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle des fleurs de *L. stoechas*, et comparer les résultats avec ceux obtenus dans le présent travail ;
- Elargir la gamme de plantes et/ou d'extraits sur les moisissures inféodées aux fruits lors de la conservation et le stockage ;
- Tester les extraits de *L. stoechas* sur d'autres agents fongiques pathogènes ;
- Approfondir l'étude des modes d'action des extraits de plantes et/ou des composés actifs sur les isolats fongiques ;
- Rechercher les modes d'application de cette huile essentielle en lieu de stockage ;
- Essai d'application d'un traitement à base d'émulsion d'huile essentielle dans le lieu de stockage contre les altérations des fruits ;
- Identification de la fraction volatile efficace contre les agents pathogènes étudiés ;
- Essai d'incorporation de la matière active à un matériel d'emballage pour une meilleure conservation des fruits ;
- Etude de l'impact de cette huile essentielle sur la qualité nutritive et organoleptique du fruit ;
- Etude toxicologique sur les concentrations de l'extrait de plante et/ou du composé actif à employer sur le terrain.

*Références
bibliographiques*

1. Abd-Elsalam K. A., Roshdy O. E., Amin O. E. and Rabani M., 2010. First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported bananas in Saudi Arabia. *Genetics and Molecular Research*, 9(4): 2335-2342.
2. Aguiar R. W. D. S., Ootani M. A., Ascencio S. D., Ferreira T. P., Santos M. M. D. and Santos G. R. D., 2014. Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species. *The Scientific World Journal*: 8.
3. Aiyegoro O. A. and Okoh A. I., 2010. Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC Complementary and Alternative medicine*, 10(1): 21.
4. Albuquerque U.P., Cruz da Cunha L.V.F., Lucena R.F.P. and Alves R.R.N., 2014. Methods and techniques in ethnobiology and ethnoecology. Springer Science+Business Media, New York, 480 p.
5. Ali-Emmanuel N., Moudachirou M., Akakpo A. J. et Leclercq J. Q., 2002. Activités antibactériennes *in vitro* de *Cassia alata*, *Lantana camara* et *Mitracarpus scaber* sur *Dermatophilus congolensis* isolé au Bénin. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 55(3): 183-187.
6. Alzamora S. M., Guerrero S. N., Nieto A. B., Vidales S. L. et Mejía-Lorío D. J., 2004. Technologies combinées de conservation des fruits et des légumes . Manuel de formation. FAO, Rome, 81 p.
7. Amin A., 2016. Determination of Some Essential Oils Effects on the Quality Traits of the Egyptian Anna Apple Fruit During its Shelf Life. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 8(1): 34-45.
8. Amselem J., Cuomo C. A., van Kan J. A., Viaud M., Benito E. P., Couloux A., Coutinho P. M., de Vries R. P., Dyer P. S., Fillinger S., Fournier E., Gout L., Hahn M., Kohn L., Lapalu N., Plummer K. M., Pradier J. M. and Dickman M., 2011. Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *PLoS Genetics*, 7(8): 1-8.
9. Anand T., Bhaskaran R., Gandhi Karthikeyan T., Rajesh M. and Senthilraja G., 2008. Production of cell wall degrading enzymes and toxins by *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternata* causing fruit rot of chillies. *Journal of plant protection research*, 48(4): 437-451.
10. Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S. and Cabras P., 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12): 4364-4370.

11. ANSM, 2016. La pharmacopée française 11e édition.
http://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/Pharmacopee/pharmacopee.zip : 30
Décembre 2016.
12. Aouinty B., Oufara S., Mellouki F. et Mahari S., 2006. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 10(2): 67-71.
13. Baba Aïssa F., 2011. Encyclopédie des plantes utiles. El Maarifa, Alger, 471 p.
14. Bachiri L., Echchegadda G., Ibijbijen J. et Nassiri L., 2016. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de lavande autochtones au maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12(30): 313-333.
15. Bagre I., Bahi C., Ouattara K., Guede N. Z., Djaman A. J., Coulibaly A. et N'guessan J. D., 2011. Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance *in vitro* de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9: 136-141.
16. Barbier E., 1963. Les lavandes et l'apiculture dans le sud-est de la France. *Les Annales de l'Abeille*, 6(2): 85-159.
17. Barkat M. and Laib I., 2012. Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 4(7): 96-101.
18. Barrera-Necha L. L., Bautista-Baños S., Flores-Moctezuma H. E. and Estudillo A. R., 2008. Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Pathology Journal*, 7(2): 174-178.
19. Bautista-Baños S., 2014. Postharvest decay: Control strategies. Elsevier, Londres, 383 p.
20. Bautista-Baños S., García-Domínguez E., Barrera-Necha L. L., Reyes-Chilpa R. and Wilson C. L., 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytris cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 1(29): 81-92.
21. Bec L., 2013. Mes Huiles Essentielles : 30 plantes pour me soigner au quotidien. Mango Bien-Être, Paris, 93 p.
22. Bedimo J. M., Chillet M., Jullien A. et de Bellaire L. D. L., 2003. Le gainage précoce des régimes de bananes améliore la croissance des fruits et leur état sanitaire vis-à-vis de l'antracnose (*Colletotrichum musae*). *Fruits*, 58(2): 71-81.

23. Bekhechi C. et Abdelouahid D. E., 2014. Les huiles essentielles. Office des Publications Universitaires, Alger, 55 p.
24. Ben Arfa A., Combes S., Preziosi-Belloy L., Gontard N. and Chalier P., 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2): 149-154.
25. Benabdelkader T., Zitouni A., Guitton Y., Jullien F., Maitre D., Casabianca H., Legendre L. and Kameli A., 2011. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and *in vitro* biological properties. *Chemistry & Biodiversity*, 8(5): 937-953.
26. Benabdelkader T., 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat : Biologie et Ecophysiologie Végétale. Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger / Université Jean Monnet de Saint Etienne, Alger et Saint Etienne, 259 p.
27. Bessah R. et Benyoussef E. H., 2015. La filière des huiles essentielles : Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, 18(3): 513-528.
28. Bezza L., Mannarino A., Fattrasi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F. and Kaloustian J., 2010. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Pharmacognosie*, 8: 277-281.
29. Bill M., Sivakumar D., Korsten L. and Thompson A. K., 2014. The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection*, 64: 159-167.
30. Blancard D., 2009. Les maladies de la tomate: identifier, connaître, maîtriser. Quae, Versailles, 680 p.
31. Bonatelli M. L., Tsui S., Marcon J., Batista B. D., Kitajima E. W., Pereira J. O., Azevedo J. L. and Quecine M. C., 2016. Antagonistic activity of fungi from anthracnose lesions on *Paullinia cupana* against *Colletotrichum* sp. *Journal of Plant Pathology*, 98(2): 197-205.
32. Bondoux P., 1992. Maladies de conservation des fruits à pépins : Pommes et poires. INRA / PHM-Revue Horticole, Paris, 173 p.
33. Bougandoura N. and Bendimerad N., 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature et Technology*, 9: 14-19.
34. Boukhatem M. N., Hamaidi M. S., Saidi F. and Hakim Y., 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et Technologie*, (03): 37-45.

35. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. and Chaouch A., 2007. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique Science*, 03(2): 232-242.
36. Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. and Chaabouni M. M., 2008. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10: 119-125.
37. Boyraz N. and Özcan M. M., 2006. *In vitro* Inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Colletotrichum circinans* by summer savory (*Satureja hortensis* L.) derivatives. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9(2): 107-117.
38. Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier, Paris, 1269 p.
39. Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253.
40. Cavanagh H. M. A. and Wilkinson J. M., 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16: 301-308.
41. Çelik T. and Aslantürk Ö., 2007. Cytotoxic and genotoxic effects of *Lavandula stoechas* aqueous extracts. *Biologia*, 62(3): 292-296.
42. Cherrat L., Espina L., Bakkali M., Pagán R. and Laglaoui A., 2014. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22: 221-229.
43. Chiasson H. et Beloin N., 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides " Nouveau genre". *Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec*, 14(1): 3-6.
44. Chillet M., de Bellaire L. D. L., Dorel M., Joas J., Dubois C., Marchal J. and Perrier X., 2000. Evidence for the variation in susceptibility of bananas to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae* and the influence of edaphic conditions. *Scientia Horticulturae*, 86(1): 33-47.
45. Creppy E. E., 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology letters*, 127(1): 19-28.
46. Daferera D. J., Ziogas B. N. and Polissiou M. G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6): 2576-2581.
47. Dauchet L., Amouyel P., Hercberg S. and Dallongeville J., 2006. Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *Journal of Nutrition*, 136(10): 2588-2593.

48. Daughy M. E., 1995. Fruit and vegetable processing 119. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 382 p.
49. De Lapeyre de Bellaire L. and Dubois C., 1997. Distribution of Thiabendazole-Resistant *Colletotrichum musae* Isolates from Guadeloupe banana plantations. *Plant Disease*, 81(12): 1378-1383.
50. De Lapeyre de Bellaire L., Chillet M., Dubois C. and Mourichon X., 2000. Importance of different sources of inoculum and dispersal methods of conidia of *Colletotrichum musae*, the causal agent of banana anthracnose, for fruit contamination. *Plant Pathology*, 49(6): 782-790.
51. De Sousa L. L., de Andrade S. C. A., Athayde A. J. A. A., de Oliveira C. E. V., de Sales C. V., Madruga M. S. and de Souza E. L., 2013. Efficacy of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils in combination to control postharvest pathogenic Aspergilli and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca* L.(table grapes). *International Journal of Food Microbiology*, 165(3): 312-318.
52. Dean R., Van Kan J. A., Pretorius Z. A., Hammond-Kosack K. E., Di Pietro A., Spanu P. D., Rudd J. J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J. and Foster G. D., 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4): 414-430.
53. Djeddi S., 2012. Les huiles essentielles "des mystérieux métabolites secondaires" : Manuel de formation destiné aux étudiants de Master. Presses Académiques Francophones, Sarrebruck, 57 p.
54. Dob T., Dahmane D., Agli M. and Chelghoum C., 2006. Essential oil composition of *Lavandula stoechas* from Algeria. *Pharmaceutical Biology*, 44(1): 60-64.
55. Dorman H. D., Koşar M., Kahlos K., Holm Y. and Hiltunen R., 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16): 4563-4569.
56. Dos Santos N. S. T., Aguiar A. J. A. A., de Oliveira C. E. V., de Sales C. V., e Silva S. D. M., da Silva R. S., Stamford T. C. M. and de Souza E. L., 2012. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food Microbiology*, 32(2): 345-353.
57. Dugan F. M. and Roberts R. G., 1994. Etiology of preharvest colonization of Bing cherry fruit by fungi. *Phytopathology*, 84(10): 1031-1036.
58. Duvillard E., 2013. Les parfums : Utilisations thérapeutiques et reformulation. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Université Claude Bernard - Lyon 1, Lyon, 225 p.

59. Ebadollahi A., Safaralizadeh M. and Pourmirza A., 2010. Fumigant toxicity of *Lavandula stoechas* L. oil against three insect pests attacking stored products. *Journal of Plant Protection Research*, 50(1): 56-60.
60. El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F. et Aberchane M., 2008. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 12(4): 345-351.
61. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P. and Delen N., 2007. Botrytis: Biology, pathology and control. Springer, Dordrecht, 403 p.
62. Elshafie H.S., Mancini E., Camele I., De Martino L. and De Feo V., 2015. *In vivo* antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. *Industrial Crops and Products*, 66: 11-15.
63. Ernst E. J. and Rogers P. D., 2005. Antifungal agents: methods and protocols Vol 118. Humana Press, Totowa, New Jersey, 209 p.
64. Estevinho L. M., Chambó E. D., Pereira A. P. R., Carvalho C. A. L. and Toledo V. A. A., 2016. Characterization of *Lavandula* spp. honey using multivariate techniques. *PLoS ONE*, 11(9): 1-15.
65. Etou-Ossibi A. W., Nzonzi J., Mombouli J. V., Nsondé-Ntandou G. E., Ouamba J. M. et Abena A. A., 2005. Screening chimique et effets de l'extrait aqueux du *Lippia multiflora* Moldenke sur le cœur isolé du crapaud. *Phytothérapie*, 3(5): 193-199.
66. Euro+Med, 2017. Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://ww2.bgbm.org/euroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameId=132129&PTRefFk=8000000>: 14 Juillet 2017.
67. Fadel F., Chebli B., Tahrouch S., Benddou A. et Hatimi A., 2011. Activité antifongique d'extraits de *Ceratonia siliqua* sur la croissance *in vitro* de *Penicillium digitatum*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 150(1-4): 19-30.
68. FAO, 2014. Banana Market Review and Banana Statistics 2012-2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 33 p.
69. FAO, 2016. Citrus Fruit Statistics 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 47 p.
70. FAO, 2017. Faostat. <http://www.fao.org/faostat/> : 07 Août 2017.
71. Fauchère J. L. et Avril J. L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris, 365 p.

72. Fernandez X. et Chemat F., 2012. La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation. Vuibert, Paris, 274 p.
73. Fleurentin V., 2016. L'insomnie : nouveaux médicaments, alternatives thérapeutiques et conseils à l'officine. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Université de Lorraine, Nancy, 103 p.
74. Frisvad J. C. and Samson R. A., 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology*, 49: 1-174.
75. Gan P., Ikeda K., Irieda H., Narusaka M., O'Connell R. J., O'Connell, J. R., Narusaka Y., Takano Y., Kubo Y. and Shirasu K., 2013. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. *New Phytologist*, 197(4): 1236-1249.
76. Gedik B. and Dülger G., 2015. Anti-candidal activity of the *Lavandula stoechas* L. against pathogenic *Candida* species isolated from the hospital. *Düzce University Journal of Science & Technology*, 3(2): 367-372.
77. Genkinger J. M., Platz E. A., Hoffman S. C., Comstock G. W. and Helzlsouer K. J., 2004. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *American Journal of Epidemiology*, 160: 1223–1233.
78. Ghédira K. et Goetz P., 2015. *Citrus aurantium* L. var. *amara* Link. *Phytothérapie*, 13(5): 320-327.
79. Gómez-Sanchis J., Blasco J., Soria-Olivas E., Lorente D., Escandell-Montero P., Martínez-Martínez J. M., Martínez-Sober M. and Aleixos N., 2013. Hyperspectral LCTF-based system for classification of decay in mandarins caused by *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* using the most relevant bands and non-linear classifiers. *Postharvest Biology and Technology*, 82: 76-86.
80. Gouet J. P. et Philippeau G., 1989. Comment interpréter les résultats d'une analyse de variance ? Institut technique des céréales et des fourrages (ITCF), Paris, 81 p.
81. Gross K.C., Wang C. Y. and Saltveit M., 2016. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. United States Department of Agriculture, Washington D.C., 780 p.
82. Guerre P., Bailly J. D., Benard G. and Burgat, V., 2000. Excrétion lactée des mycotoxines : quels risques pour le consommateur. *Revue de médecine vétérinaire*, 151: 7-22.
83. Guitton Y., 2010. Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de Doctorat : Biologie et Physiologie Végétales. Université Jean Monnet, Saint-Etienne, 253 p.

84. Gülçin İ., Şat İ. G., Beydemir Ş., Elmastaş M. and Küfrevioğlu Ö. İ., 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87(3): 393-400.
85. Guyot-Declerck C., Renson S., Bouseta A. and Collin S., 2002. Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* x *Latifolia* honeys. *Food Chemistry*, 79: 453-459.
86. Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. et Guessous Idrissi N., 2001. Evaluation *in vitro* de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 94: 29-31.
87. Hay Y. O. M., 2015. La complexité des simples caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques. Thèse de Doctorat : Sciences des Agroressources. INPT, Toulouse, 185 p.
88. Helalia A. R. and Sameer W. M., 2014. Efficacy of fungicides - sodium bicarbonate combinations on *Citrus* postharvest green mould disease. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 3(2): 194-200.
89. Hmiri S., Rahouti M., Habib Z., Satrani B., Ghanmi M. et El Ajjouri M., 2011. Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80: 824-836.
90. Ho S. C., Tsai T. H., Tsai P. J. and Lin C. C., 2008. Protective capacities of certain spices against peroxynitrite-mediated biomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46(3): 920-928.
91. Hong K., Gong D., Zhang L., Hu H., Jia Z., Gu H. and Song K., 2016. Transcriptome characterization and expression profiles of the related defense genes in postharvest mango fruit against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Gene*, 576(1): 275-283.
92. Houicher A., Hechachna H. and Özogul F., 2016. *In vitro* determination of the antifungal activity of *Artemisia campestris* essential oil from Algeria. *International Journal of Food Properties*, 19(8): 1749-1756.
93. Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A. et Chailan C., 2016. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. CIHEAM / FranceAgriMer, Montpellier, 220 p.
94. Inouye S., Uchida K., Maruyama N., Yamaguchi H. and Abe S., 2006. A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japanese Journal of Medical Mycology*, 47(2): 91-98.

95. Instruments PCE, 2017. Abbe-2WJ Refractometer.
<http://www.industrial-needs.com/technical-data/refractometer-abbe-2waj.htm> : 16 Juillet 2017.
96. Ismaili R., Lamiri A. et Moustaid K., 2014. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines. *International Journal of Innovation and Scientific Research*,12(2): 499-505.
97. Jalander V. and Gachande B. D., 2012. Effect of aqueous leaf extracts of *Datura* sp. against two plant pathogenic fungi. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 2(3): 131-134.
98. Jeffries P., Dodd J. C., Jeger M. J. and Plumbley R. A., 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. *Plant Pathology*, 39(3): 343-366.
99. Kaloustian J., Mikail C., Abou L., Vergnes M. F., Nicolay A. et Portugal H., 2008. Nouvelles perspectives industrielles pour les hydrolats. *Acta Botanica Gallica*, 155(3): 367-373.
100. Kaloustian J. et Hadji-Minaglou F., 2012. La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie, entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer, Paris, 210 p.
101. Karim H., Boubaker H., Askarne L., Cherifi K., Lakhtar H., Msanda F., Boudyach E. H. and Aoumar A. A. B., 2017. Use of *Cistus* aqueous extracts as botanical fungicides in the control of *Citrus* sour rot. *Microbial Pathogenesis*, 104: 263-267.
102. Kokkalou E., 1988. The constituents of the essential oil from *Lavandula stoechas* growing wild in Greece. *Planta Medica*, 54(01): 58-59.
103. Kubitzki K., 2004. The families and genera of vascular plants Vol 7. Springer, Berlin & Heidelberg, 478 p.
104. Kulakiotu E. K., Thanassouloupoulos C. C. and Sfakiotakis E. M., 2004. Biological control of *Botrytis cinerea* by volatiles of 'isabella' grapes. *Phytopathology*, 94: 924-931.
105. Labadie C., 2015. Analyse fine et stabilisation des hydrolats de rose et de fleur d'oranger. Thèse de Doctorat : Biochimie, chimie et technologie des aliments. Université de Montpellier, Montpellier, 222 p.
106. Laghchimi A., Znini M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A. et Costa J., 2014. Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(6): 1770-1780.
107. Lassoudière A., 2007. Le bananier et sa culture. Quae, Versailles, 383 p.

108. Lazarin A. et Couplan F., 2010. Lavande : Arôme et bienfaits. Sang de la Terre, Paris, 108 p.
109. Lion T., 2017. Human fungal pathogen identification: Methods and protocols Vol 1508. Springer Science+Business Media, New York, 453 p.
110. Liu J., Tian S., Meng X. and Xu Y., 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3): 300-306.
111. Lombardo P., Guimaraens A., Franco J., Dellacassa E. and Faggiani E. P., 2016. Effectiveness of essential oils for postharvest control of *Phyllosticta citricarpa* (Citrus black spot) on *Citrus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 121: 1-8.
112. Magaldi S., Mata-Essayag, S., De Capriles, C. H., Perez C., Colella M. T., Olaizola C. and Ontiveros Y., 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*, 8(1): 39-45.
113. Malathi P., Viswanathan R., Padmanaban P., Mohanraj D. and Sundar A. R., 2002. Microbial detoxification of *Colletotrichum falcatum* toxin. *Current Science*, 83(6): 745-749.
114. Marcet-Houben M., Ballester A. R., de la Fuente B., Harries E., Marcos J. F., González-Candelas L. and Gabaldón T., 2012. Genome sequence of the necrotrophic fungus *Penicillium digitatum*, the main postharvest pathogen of citrus. *BMC Genomics*, 1: 646.
115. Mari M., Bertolini P. and Pratella G. C., 2003. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5): 761-766.
116. Meddour R., 2010. Bioclimatologie, phytogéographie et phytosociologie en Algérie. Thèse de Doctorat : Foresterie. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Tizi Ouzou, 397 p.
117. Mello A. F. S., Lourenço S. A. and Amorim L., 2005. Alternative products in the "in vitro" inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Scientia Agricola*, 62(2): 179-183.
118. Miara M. D., Ait Hammou M. et Hadjadj A., 2013. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11: 206-218.
119. Millet F., 2013. Le grand guide des huiles essentielles. Marabout, Vanves, 479 p.
120. Mohammedi Z. et Atik F., 2012. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature & Technologie*, 6: 34-39.
121. Nada P. V., Slobodan P. S., Dubravka J. and Marina F., 2015. Essential oil and extracts from *Thymus praecox* opiz ssp. *polytrichus* as natural antioxidants. *Archives for Technical Sciences*, 13(1): 51-57.

122. Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S. M. and Ghobrani A., 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
123. Nene Bi S. A., Traore F, Zahoui O. S. et Soro T. Y., 2008. Composition chimique d'un extrait aqueux de *Bridelia ferruginea* benth. (Euphorbiaceae) et études de ses effets toxicologique et pharmacologique chez les mammifères. *Journal Afrique*, 4(2): 287-305.
124. Nobre J., 1996. *In vitro* cloning and micropropagation of *Lavandula stoechas* from field-grown plants. *Plant Cell*, 46(2): 151-155.
125. Nöthlings U., Schulze M. B., Wekert C., Boeing H., van der Schouw Y. T., Bamia C., Benetou B. V., Lagiou P., Krogh V., Beulens J. W. J., Peeters P. H. M., Halkjær J., Tjønneland A., Tumino R., Panico S., Masala G., Clavel-Chapelon F., de Lauzon B., Boutron-Ruault M. C., Vercaambre M. N., Kaaks R., Linseisen J., Overvad K., Arriola L., Ardanaz E., Gonzalez C. A., Tormo M. J., Bingham S., Khaw K. T., Key T. J. A., Vineis P., Riboli E., Ferrari P., Boffetta P., Bueno-de-Mesquita H. B., van der A D. L., Berglund G., Wirfält E., Hallmans G., Johansson I., Lund E. and Trichopoulo A., 2008. Intake of vegetables, legumes, and fruit, and risk for all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in a European diabetic population. *The Journal of Nutrition*, 138(4): 775-781.
126. Oamri C., 2016. Objectifs de développement des filières stratégiques de l'Agriculture. MADRP, Alger, 13 p.
127. Oyebode O., Gordon-Dseagu V., Walker A. and Mindell J. S., 2014. Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 68: 856-862.
128. Palhano F. L., Vilches T. T. B., Santos R. R., Orlando M. T. D., Ventura J. A. and Fernandes P. M. B., 2004. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 95: 61-66.
129. Pandey D. K., Tripathi N. N., Tripathi R. D. and Dixit S. N., 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *H. suaveolens*. *The Journal of Plant Diseases and Protection*, 6: 344-349.
130. Parekh J. and Chanda S., 2007. *In vitro* screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of various Indian plant species against selected pathogens from Enterobacteriaceae. *African Journal of Microbiology Research*, 1(6): 092-099.
131. Peeran M. F., Nagendran K., Gandhi K., Raguchander T. and Prabakar K., 2014. Water in oil based PGPR formulation of *Pseudomonas fluorescens* (FP7) showed enhanced resistance against *Colletotrichum musae*. *Crop Protection*, 65: 186-193.

132. Pereira J. O., Vieira M. C. and Azevedo J. L., 1999. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(1): 37-40.
133. Peres M. T., Delle Monache F., Cruz A. B., Pizzolatti M. G. and Yunes R. A., 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 56(3): 223-226.
134. Perret C., 2001. Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. Thèse de Doctorat : Chimie. Institut de chimie, Neuchâtel, 173 p.
135. Perricone M., Arace E., Corbo M. R., Sinigaglia M. and Bevilacqua A., 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, 6(76): 1-7.
136. Pharmacopée Européenne, 2008. Huiles essentielles. Aetherolea. (1): 2098.
137. Piper P., Calderon C. O., Hatzixanthis K. and Mollapour M., 2001. Weak acid adaptation: the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives. *Microbiology*: 2635-2642.
138. Pitt J. I. and Hocking A. D., 2009. Fungi and food spoilage. Springer Science & Business Media, New York, 519 p.
139. Ploetz R. C., 2003. Diseases of tropical fruit crops. CABI, Trowbridge, 527 p.
140. Plotto A., Roberts D. D. and Roberts R. G., 2003. Evaluation of plant essential oils as natural - postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticulturae*, 628: 737-745.
141. Prudêncio A. P. A., Prudêncio E. S., Amboni R. D. C., Murakami A. N. N., Maraschin M., Petrus J. C. C. and Ogliari P. J., Leite, R. S., 2012. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. *Food and Bioproducts Processing*, 90(3): 399-405.
142. Prusinowska R., Śmigielski K., Stobiecka A. and Kunicka-Styczyńska A., 2016. Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*)--their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties. *Natural Product Research*, 30(4): 386-393.
143. Rabiei V., Shirzadeh E., RabbiAngourani H. and Sharafi Y., 2011. Effect of thyme and lavender essential oils on the qualitative and quantitative traits and storage life of apple 'Jonagold' cultivar. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23): 5522-5527.
144. Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M. and Tantaoui-Elaraki A., 1993. Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2): 179-184.

145. Riboli E. and Norat T., 2003. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 78(3): 559-569.
146. Roby M. H. H., Sarhan M. A., Selim K. A. H. and Khalel K. I., 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products*, 44: 437-445.
147. Romagnoli C., Bruni R., Andreotti E., Rai M. K., Vincentini C. B. and Mares D., 2005. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma*, 255: 57-65.
148. Romanazzi G., Smilanick J. L., Feliziani E. and Droby S., 2016. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113: 69-76.
149. Rombi M. et Robert D., 2015. Le dictionnaire des plantes médicinales. Alpen Eds, Monaco, 824 p.
150. Saeidnia S., Gohari A. R., Manayi A. and Kourepaz-Mahmoodabadi M., 2015. *Satureja*: Ethnomedicine, phytochemical diversity and pharmacological activities. Springer, Cham, 113 p.
151. Sakinah M. I., Suzianti I. V. and Latiffah Z., 2014. Phenotypic and molecular characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of banana (*Musa* spp) in Malaysia. *Genetics and Molecular Research*, 13(2): 3627-3637.
152. Samson R.A. and Pitt J. I., 1990. Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification, Vol 185. Springer Science & Business Media, New York, 478 p.
153. Satish S., Mohana D. C., Raghavendra M. P. and Raveesha K. A., 2007. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. *Journal of Agricultural Technology*, 3(1): 109-119.
154. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B. et Talbi M., 2007. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 146: 85-96.
155. Sawai J. and Yoshikawa T., 2004. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *Journal of Applied Microbiology*, 96(4): 803-809.
156. Sayago J. E., Ordoñez R. M., Kovacevich L. N., Torres S. and Isla M. I., 2012. Antifungal activity of extracts of extremophile plants from the Argentine Puna to control citrus postharvest pathogens and green mold. *Postharvest Biology and Technology*, 67: 19-24.
157. Schinella G. R., Troiani G., Dávila V., De Buschiazzi P. M. and Tournier H. A., 2000. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 269(2): 357-360.
158. Schreier P., 1988. Bioflavour '87. de Gruyter, Berlin, 584 p.

159. Sebai H., Selmi S., Rtibi K., Souli A., Gharbi N. and Sakly M., 2013. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*, 12(1): 189.
160. Sellamuthu P. S., Sivakumar D. and Soundy P., 2013. Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *Journal of Food Safety*, 33(1): 86-93.
161. Senhaji O., Faid M., Elyachioui M. et Dehhaoui M., 2005. Étude de l'activité antifongique de divers extraits de cannelle. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(4): 220-229.
162. Şerban E. S., Ionescu M., Matinca D., Maier C. S. and Bojiţă M. T., 2011. Screening of the antibacterial and antifungal activity of eight volatile essential oils. *Farmacia*, 59(3): 440-446.
163. Serghat S., Mouria A., Ouazzani Touhami A., Badoc A. et Douira A., 2004. Effet de quelques fongicides sur le développement *in vitro* de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*: 7-18.
164. Shah N., Kataria H., Kaul S. C., Ishii T., Kaur G. and Wadhwa R., 2009. Effect of the alcoholic extract of ashwagandha leaves and its components on proliferation, migration, and differentiation of glioblastoma cells: Combinational approach for enhanced differentiation. *Cancer Science*, 100(9): 1740-1747.
165. Sharma Neeta and Tripathi Abhishek, 2008. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, 163: 337-344.
166. Shu C., Chen Q., Pi L., Zhang D., Panhwar Q. A. and Zhou E., 2017. Identification and antifungal activity analysis of two biocontrol antagonists to *Colletotrichum musae*. *Journal of Phytopathology*, 165(7-8): 554-561.
167. Siddiqui M. A., Khalid M., Akhtar J., Siddiqui H. H., Badruddeen, Ahmad U., Ahsan F., Khan M. M., Ahamd M. and Ali A., 2016. *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 3(1): 96-102.
168. Silva B. A., Ferreres F., Malva J. O. and Dias A. C., 2005. Phytochemical and antioxidant characterization of *Hypericum perforatum* alcoholic extracts. *Food Chemistry*, 90(1): 157-167.
169. Singh R. and Tripathi P., 2015. Cinnamomum zeylanicum essential oil in the management of Anthracnose of Banana Fruits. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 2(3): 290-299.
170. Sivakumar D. and Bautista-Baños S., 2014. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64: 27-37.

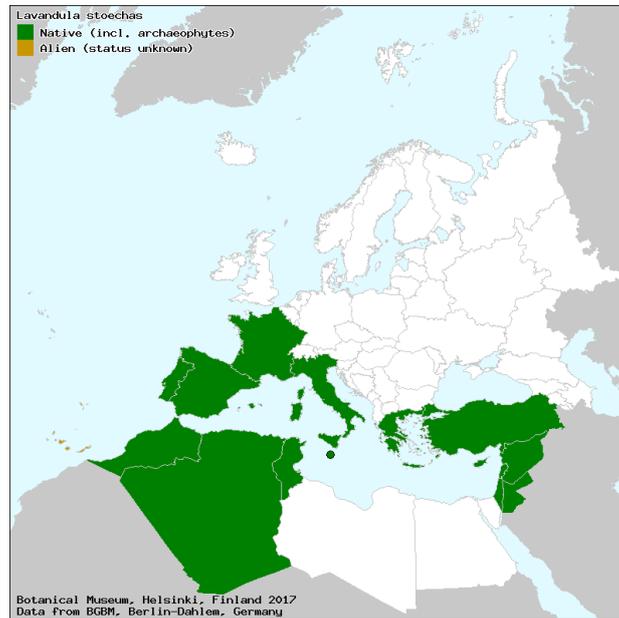
171. Soylu Emine Mine, Kurt Şener and Soylu Soner, 2010. *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*, 143: 183-189.
172. Spotts R. A., 1986. Relationships between inoculum concentrations of three decay fungi and pear fruit decay. *Plant Disease*, 70(5): 386-389.
173. Sqalli H., El Ouarti A., Ennabili A., Ibsouda S., Farah A., Haggoud A., Houari A. et Iraqui M., 2007. Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du Maroc. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 146: 146-271.
174. Suzuki T., Tanaka-Miwa C., Ebihara Y., Ito Y. and Uematsu S., 2010. Genetic polymorphism and virulence of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry (*Fragaria × ananassa* Duchesne). *Journal of General Plant Pathology*, 76(4): 247-253.
175. Szczerbanik M., Jobling J., Morris S. and Holford P., 2007. Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47(1): 103-109.
176. Tabti L., Dib M. E. A., Djabou N., Benyelles N. G., Paolini J., Costa J. and Muselli A., 2014. Control of fungal pathogens of *Citrus sinensis* L. by essential oil and hydrosol of *Thymus capitatus* L. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87: 279-285.
177. Talibi I., Askarne L., Boubaker H., Boudyach E. H., Msanda F., Saadi B. and Aoumar A. A. B., 2012. Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest *Citrus* sour rot. *Crop Protection*, 35: 41-46.
178. Touaibia M., 2015. Composition chimique et activité anti-fongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur milieu de laboratoire et sur les fruits du fraisier. *Nature et Technology*, (12): 66-72.
179. Touaibia M. et Chaouch F. Z., 2017. Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Myrtus nivellei* Batt et Trab. obtenus *in situ* et *in vitro*. *Phytothérapie*, 15(1): 16-22.
180. Toubol V. et Ferre J., 1963. Qualité loyale et marchande de l'eau de fleurs d'oranger au Maroc. *Al Awamia*, 9: 147-153.
181. Trabelsi D., Hamdane A. M., Said M. B. and Abdrabba M., 2016. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from flowers, leaves and peels of Tunisian *Citrus aurantium* against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(7): 1660-1674.
182. Tripathi P., Dubey N. K. and Shukla A. K., 2008. Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mould of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24: 39-46.

183. Tzortzakis N. G. and Economakis C. D., 2007. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2): 253-25.
184. Vokou D., Chalkos D., Karamanlidou G. and Yiangou M., 2002. Activation of soil respiration and shift of the microbial population balance in soil as a response to *Lavandula stoechas* essential oil. *Journal of Chemical Ecology*, 28(4): 755-768.
185. Wang M., Sun X., Zhu C., Xu Q., Ruan R., Yu D. and Li H., 2015. PdbrlA, PdabaA and PdwetA control distinct stages of conidiogenesis in *Penicillium digitatum*. *Research in Microbiology*, 166(1): 56-65.
186. Ward T. J., Bielawski J. P., Kistler H. C., Sullivan E. and O'Donnell K., 2002. Ancestral polymorphism and adaptive evolution in the trichothecene mycotoxin gene cluster of phytopathogenic *Fusarium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14): 9278-9283.
187. Wessels J. G. H. and Meinhard F., 1994. *The mycota*, 1. Springer, Berlin, 521 p.
188. Wiegand I., Hilpert K. and Hancock R. E. W., 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2): 164-175.
189. Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P. and Van Kan J.A.L., 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5): 561-580.
190. Wollgast J. and Anklam E., 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6): 423-447.
191. Xing Y., Xu Q., Li X., Che Z. and Yun J., 2012. Antifungal activities of clove oil against *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum* *in vitro* and in wounded fruit test. *Journal of Food Safety*, 32(1): 84-93.
192. Xu X. F., Lin T., Yuan S. K., Dai D. J., Shi H. J., Zhang C. Q. and Wang H. D., 2014. Characterization of baseline sensitivity and resistance risk of *Colletotrichum gloeosporioides* complex isolates from strawberry and grape to two demethylation-inhibitor fungicides, prochloraz and tebuconazole. *Australasian Plant Pathology*, 43(6): 605-613.
193. Yadav R. K. P., Karamanoli K. and Vokou D., 2011. Bacterial populations on the phyllosphere of Mediterranean plants: influence of leaf age and leaf surface. *Frontiers of Agriculture in China*, 5(1): 60-63.
194. Yahyazadeh M., Zare R., Omidbaigi R., Faghieh-Nasiri M. and Abbasi M., 2009. Control of *Penicillium* decay on citrus fruit using essential oil vapours of thyme or clove inside polyethylene and nano-clay polyethylene films. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 84(4): 403-409.

195. Yin Y. N., Kim Y. K. and Xiao C. L., 2011. Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology*, 101(8): 986-995.
196. Yuan Y., Huang M., Pang Y. X., Yu F. L., Chen C., Liu L. W., Chen Z. X., Zhang Y. B., Chen X. L. and Hu X., 2016. Variations in essential oil yield, composition, and antioxidant activity of different plant organs from *Blumea balsamifera* (L.) DC. at different growth times. *Molecules*, 21(8): 1024.
197. Zakaria L., Sahak S., Zakaria M. and Salleh B., 2009. Characterisation of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of banana. *Tropical Life Sciences Research*, 20(2): 119-125.
198. Zhang H., Li R. and Liu W., 2011. Effects of chitin and its derivative chitosan on postharvest decay of fruits: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(2): 917-934.
199. Zhou Y., Li S. and Zeng K., 2016. Exogenous nitric oxide-induced postharvest disease resistance in citrus fruit to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2): 505-512.
200. Zuzarte M., Gonçalves M. J., Cavaleiro C., Cruz M. T., Benzarti A., Marongiu B., Maxia A., Piras A. and Salgueiro L., 2013. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44: 97-103.

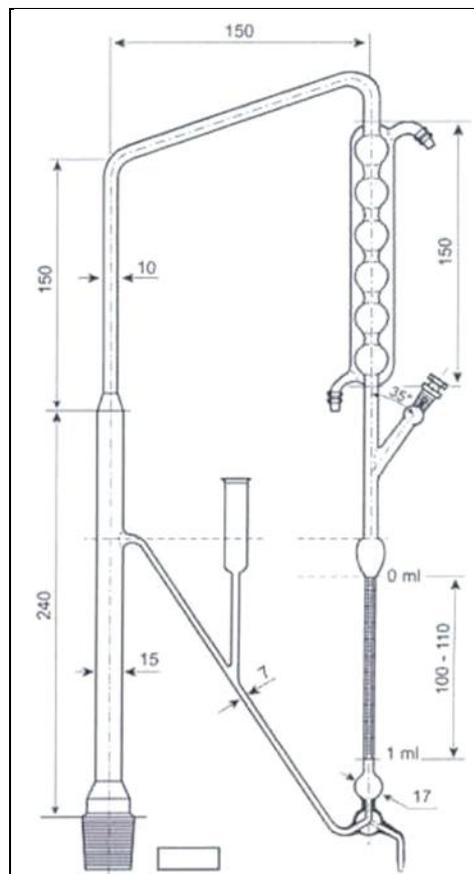
Annexes

Annexe 1 : Distribution géographique de *Lavandula stoechas* dans la région Europe-Méditerranée (Euro+Med, 2017)



En vert : La plante est endémique, **en marron** (îles) : la plante est introduite, en blanc : absence de la plante

Annexe 2 : Schéma d'un hydrodistillateur de type Clevenger comme décrit par la Pharmacopée Européenne (6e éd.) (Nada *et al.*, 2015)



Annexe 3 : Echantillon (partie aérienne) de *Lavandula stoechas* récolté et séché



Annexe 4 : Préparation de la suspension d'eau-agar (à 0,2%)

- Peser 2 g d'agar-agar.
- Ajouter 1 L d'eau distillée.
- Stériliser à l'autoclave à 100 kPa pendant 20 minutes.

Annexe 5 : Préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar, agar de dextrose de pomme de terre) selon Ismaili et al. (2014)

- Bouillir 200 g de pomme de terre dans 1000 ml d'eau distillée
- Filtrer le bouillon résultant,
- Ajouter 20 g de dextrose et 20 g d'agar en poudre.
- Ajuster par de l'eau distillée jusqu'à un volume de 1000 ml.
- Stériliser à l'autoclave à 100 kPa pendant 20 minutes.

Annexe 6 : Préparation de la concentration 1/250 v/v (0,4 %) de l'huile essentielle

Pour chaque boîte de Pétri :

- Emulsion : Ajouter 0,06 ml de l'huile essentielle à 1,5 ml d'eau-agar autoclavé (dilution 1/25 v/v).
- Agiter l'émulsion vigoureusement au vortex.
- Verser 1,5 ml de l'émulsion précédente dans la boîte de Pétri.
- Ajouter 13,5 ml du milieu PDA en surfusion dans la même boîte.
- Faire des mouvements en 8 soigneusement pour homogénéiser le milieu.
- Laisser refroidir.

Annexe 7 : Préparation de la concentration 1/9 v/v (11,1 %) de l'hydrolat et de l'extrait aqueux

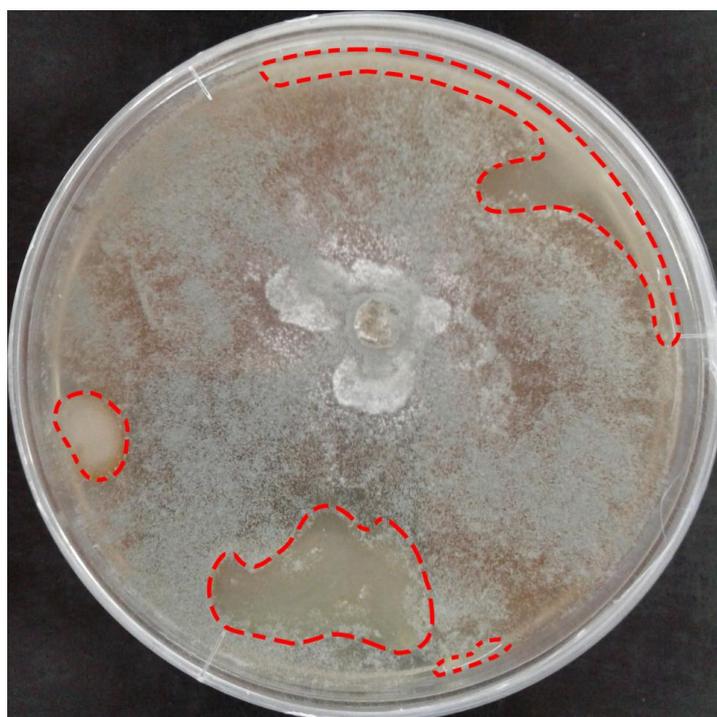
Pour chaque boîte de Pétri :

- Verser 1,5 ml de l'extrait de plante dans la boîte de Pétri.
- Ajouter 13,5 ml du milieu PDA en surfusion.
- Faire des mouvements en 8 soigneusement pour homogénéiser le milieu.
- Laisser refroidir.

Annexe 8 : L'huile essentielle (a), l'hydrolat (b) et l'extrait aqueux (c) obtenus à partir de la partie aérienne de *Lavandula stoechas*



Annexe 9 : Contamination d'une culture (*Penicillium digitatum*) traitée par l'extrait aqueux de *Lavandula stoechas*



— — — — — Limites de la contamination

Annexe 10 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon la méthode de contact direct par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les extraits (b) et l'interaction de ces deux derniers (c)

Analyse de la variance					
Facteur	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	F	P
Isolat (Figure 13a)	7952.533	2	3976.267	457.042	0.000
Extrait (Figure 13b)	51266.133	2	25633.067	2946.330	0.000
Isolat × Extrait (Figure 14)	16018.133	4	4004.533	460.291	0.000

Annexe 11 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les extraits (b) et l'interaction de ces deux derniers (c)

Analyse de la variance					
Facteur	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	F	P
Isolat (Figure 15a)	11758.723	2	5879.361	48.946	0.000
Extrait (Figure 15b)	40518.803	2	20259.401	168.659	0.000
Isolat × Extrait (Figure 16)	4836.929	4	1209.232	10.067	0.000

Annexe 12 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotés selon la méthode de contact direct par le test ANOVA selon les extraits

Analyse de la variance					
Facteur	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	F	P
Extrait (Figure 19)	5099.598	2	2549.799	3.853	0.051

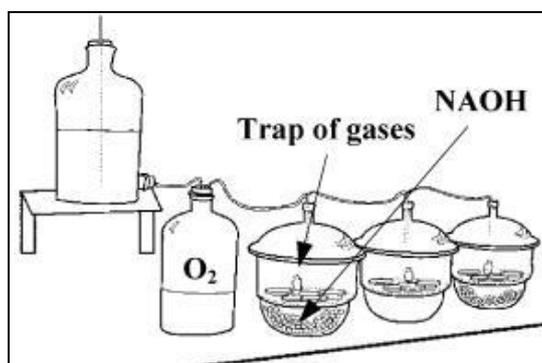
Annexe 13 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon la méthode de micro-atmosphère par le test ANOVA selon les isolats fongiques (a), les concentrations (b) et l'interaction de ces deux derniers (c)

Analyse de la variance					
Facteur	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	F	P
Isolat (Figure 20a)	36.300	1	36.300	1.068	0.312
Concentration (Figure 20b)	375.000	2	187.500	5.517	0.011
Isolat × Concentration (Figure 21)	72.600	2	36.300	1.068	0.359

Annexe 14 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotés selon la méthode de micro-atmosphère par le test ANOVA selon les concentrations

Analyse de la variance					
Facteur	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	F	P
Concentration (Figure 22)	0.0	2	0.0	0.0	1.000

Annexe 15 : Système de Mariotte modifié et fermé (Kulakiotu et al., 2004)



Ce système a été développé par Kulakiotu *et al.* (2004) pour stabiliser le niveau de O₂ à 20%, éliminer le CO₂ (piégeage dans le NaOH), humidifier l'air (papier filtre mouillé) ainsi que pour piéger les composés volatiles émis par le matériel végétal étudié. La température de la chambre aussi a été contrôlée pendant l'expérience.