

République Algérienne Démocratique 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 de Biotechnologie

Laboratoire de biotechnologie des productions végétales

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en
Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité : biotechnologie végétale

Thème

Influence du thé de compost et du thé du vermicompost sur les
potentialités antimicrobiennes des huiles essentielles du Romarin
« *Rosmarinus officinalis* L. »

Présenté par : **Mlle. AMALOU Amina**

Mlle. BELHENNICHE Khadidja

Devant les membres de jury composé de :

Mr. BENDALI.A	M.A.A.	U. Blida 1	Président
Mr. DJAZOULI Z. E.	Professeur	U. Blida 1	Promoteur
Mr. ZOUAOUI A.	M.C.B	U. Blida 1	Co-promoteur
Mme. BRAHIMI.L	M.C.B	U. Blida 1	Examinatrice

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu «ALLAH »le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour dépasser toutes les difficultés et effectuer notre travail.

Toutes nos reconnaissances vont à **Mr. DJAZOULI Z.E.** notre promoteur, qu'on admire tant, pour son encadrement ainsi que pour l'encouragement, sa patience, son aide et ses précieux conseils ; ainsi que pour sa disponibilité tout le long du travail jusqu'à l'élaboration de ce document.

Nous tenons à remercier, **Mr. BENDALI A.**, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury ; **et Mme BRAHIMI L.**, pour avoir accepté d'examiner ce travail et notre co promoteur **Mr. ZOUAOUI A.**, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude pour ses conseils et ses critiques qui nous ont aidés au sein de notre expérience.

A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail, sans oublier les amies et tous les équipe du laboratoire phytopharmacie et les étudiants de la promotion Biotechnologie Végétale 2017/ 2018.

Merci...

Amina & khadidja

Dédicaces

je dédie ce modeste travail :

*Aux deux être les plus chers au monde, qui
ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de
leur amour, mes parents.*

*A mon père **Abderrahmane** pour sa patience avec moi et son encouragement ;*

*A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère **Yamina** ;*

Je dédie aussi ce modeste travail :

*A mon très cher frère, **Ibrahim** qui m'a appris beaucoup de chose et*

*qui m'a toujours encouragé et à mon adorable frère **Mohamed**.*

*A mes chères sœurs **Asmaa** et **Safia**, qui font une partie de mon bonheur.*

*A ma chère cousine **Yasmine**.*

*A mon cousin **Salah Eddine** qui m'a aidé et m'a tjr encouragé*

*A ma chère binome **Amina** .*

*A tous ceux qui m'ont aidé pour la réalisation de ce mémoire et toutes mes
amies.*

*A toute ma grande famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand,
sans exception.*

A toute la promotion master II Biotechnologie végétale 2018.

KHADIDJA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*Aux deux être les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour nous
couvrir de leur amour, mes parents.*

*A mon père "**Ahmed**" qui a sacrifié sa vie afin de me voir grandir et réussir
dans le parcours de l'enseignement*

*A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère "**Nacera**". Qui m'a
accompagné durant les moments les plus pénibles de ce long parcours de mon
éducation*

Je dédie aussi ce modeste travail :

*A la mémoire de ma chère sœur :**Nawel***

*A ma unique et adorable sœur: **Samia** et son mari **Merzak***

*Et mes très chers frères: **Mohamed** et **Abdelghani** et leurs épouses **Nour-
elhouda** et **Asmaa***

*A mes adorables frères :**Badreddine** et **safaaddine***

*A mes très chers nièces et neveux : **Nour-elhouda**, **Mohamed**,*

Nawel**, **Ritedj**, **Yacine**, **Yacer

*A toute la famille **AMALOU**.*

*A ma chère unique « **khadidja** » mon binôme, ma sœur et sa famille*

A toute mes amies et mes collègues de promo de biotechnologie végétale

A tous ceux qui m'ont aidé à la réalisation de ce mémoire.

Minà....

Sommaire

Remerciements

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 2

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I.	Aperçu bibliographique sur le Romarin	4
1.	Historique	4
2.	Répartition géographique.....	4
3.	Le Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i> .L.....	4
4.	Classification du Romarin.....	5
5.	Description botanique.....	5
5.	1. Les feuilles.....	5
5.	2. Les fleurs.....	5
5.	3. Le fruit	5
6.	Variétés du Romarin.....	6
7.	Intérêt de la Plante.....	7
8.	Composition chimique	7
8.	1. Huile essentielle.....	7
8.	2. Composés phénoliques.....	7
9.	Effet des stades phénologiques et climats sur le métabolisme de la plante	7
10.	Domaine d'utilisation de la plante.....	8
II.	Présentation des huiles essentielles	8
1.	Généralité	8
2.	Localisation	9
3.	Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	9
4.	Extraction	9
5.	Hydro distillation.....	9
6.	Constituants d'une l'huile essentielle.....	10
7.	Mode d'action des huiles essentielles.....	10
8.	Activités biologiques des Huiles essentielles	11
8.	1. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	11
8.	2. Activité antifongique.....	11
8.	3. Activité insecticide des huiles essentielles.....	11
III.	Synthèse sur les engrais organiques	12
1.	Généralité sur le compost	12
1.	1. Les extraits de compost (EC).....	12
1.	2. Intérêt comme biofertilisant.....	12
1.	3. Capacité de stimulation des défenses naturelle des plantes.....	13
2.	Généralité sur le vermicompostage	13
2.	1 Composition de vermicompost	13
2.	2. Intérêts comme bio fertilisant et inducteur du système de défense chez les plantes	13

2.	3.	Capacité à stimuler la croissance des végétaux	14
2.	4.	Effet du vermicompost sur la fertilité de sol	14

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1.	Objectifs du travail.....		16
2.	Situation géographique de la région d'étude.....		16
3.	Caractéristiques climatiques.....		17
4.	Site d'étude		17
5.	Matériel d'étude.....		18
5.	1.	Matériel végétale	18
5.	2.	Matériel fongique	18
5.	3.	Milieu de culture	18
6.	Méthode d'extraction et de caractérisation des huiles essentielles		19
6.	1.	Extraction de l'huile essentielle hydrodistillation.....	19
6.	2.	Analyse des huiles essentielles par CG/MS.....	20
7.	Calcul du rendement en huiles essentielles		20
8.	Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles		21
8.	1.	Préparation du milieu de culture.....	21
8.	2.	Préparation des dilutions.....	21
8.	3.	Préparation des disques.....	21
8.	4.	Ré-isolément des souches microbiennes	21
8.	5.	Préparation des disques mycéliens	21
8.	6.	Application des disques	22
8.	7.	Incubation	22
9.	Expression des résultats		22
10.	Analyse statistique des données		23

Chapitre 3 : Résultats

1.	Estimation du rendement en huiles essentielles.....		25
2.	Caractérisation chimique des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> issues de différentes régions de nutrition organique.....		25
3.	Variation de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> sous l'effet des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> issues de différentes régions de nutrition organique.....		29
3.	1.	Estimation de la croissance temporelle	29
3.	2.	Etude comparée de la croissance mycélienne sous l'effet des différentes régions	31

Chapitre 4 : Discussion

1.	Effet de nutrition organique sur le métabolisme secondaire des plantes.....		34
2.	Effet des composés de l'huile essentielles sur l'activité antifongique		34
Conclusion et perspective			37
Références bibliographiques			39
Annexes			48

Résumé

Le romarin *Rosmarinus officinalis* est une espèce très abondante dans la région de Blida, il est utilisé en médecine populaire, cosmétique et phytopharmacie.

Nous avons conduit une régie en nutrition organique (compost et vermicompost) sur le romarin, la partie aérienne a été prélever et l'extraction des huiles essentielles a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau. L'étude chimique des huiles essentielles par la Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectrométrie de masse a révélé la richesse en molécules au profit de l'huile essentielle de Romarin issus de l'irrigation à l'eau courante (14 molécules) et par rapport à l'huile essentielle de Romarin non irriguée (13 molécules), et par rapport à l'huile essentielle de Romarin issus de régie en compost (11 molécules) et à l'huile essentielle issus de régie en vermicompost (12 molécules). L'huile essentielle de Romarin montre une bonne activité inhibitrice vis-à-vis le champignon *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* utilisé in vitro. Cette activité varie d'une régie à une autre et diffère selon les concentrations.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, huiles essentielles, pouvoir antifongique, aromatoigramme, DMSO, compost.

Abstract

Rosemary *Rosmarinus officinalis* is a very abundant species in the region of Blida, it is used in popular medicine and cosmetic phytopharmacy.

We conducted a survey in organic nutrition (compost and vermicompost) on rosemary, the aerial part was taken and the extraction of essential oils was done by steam distillation. The chemical study of the essential oils by GC-SM revealed the richness in molecules in favor of the essential oil of rosemary resulting from the irrigation with running water (14 molecules) and compared to the essential oil of rosemary non-irrigated (13 molecules) and compared to the essential oil of rosemary derived from compost (11 molecules) and essential oil from vermicopost (12 molecules). The essential oil of rosemary shows a good inhibitory activity in parallel with the chamomile *Fusarium Oxysporum* F.sp *Lycopersici* used. This activity varies from one survey to another and differs according to the concentrations.

Essential word : *Rosmarinus officinalis*, essential oils, antifungal power chromatogram, DMSO, Survey, compost, vermicompost

ملخص

إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* هو نوع متواجد بكثرة في منطقة البليدة، يستخدم في الطب الشعبي، الصيدلة النباتية وصناعة مستحضرات التجميل.

قمنا بتقييم تأثير التغذية العضوية (compost et vermicompost) على نبتة إكليل الجبل، تم استخراج الزيوت الأساسية من الجزء العلوي عن طريق التقطير بالماء. كشفت الدراسة الكيميائية للزيوت الأساسية من قبل CG/MS وفرة من الجزيئات لصالح الزيت العطري لإكليل الجبل المسقي بالماء (14 مركب) و إكليل الجبل الغير المسقي (13 مركب)، والزيوت الأساسي الناتج عن التغذية العضوية بـ compost (11 مركب)، والزيوت العطري الناتج عن التغذية العضوية بـ vermicompost (12 مركب).

أظهر تقييم الزيوت الأساسية لإكليل الجبل نشاطا مثيرا تجاه السلالة الفطرية *Fusarium Oxysporum F.sp Lycopercisi* ، يختلف هذا النشاط باختلاف تراكيز التغذية العضوية.

الكلمات المفتاحية : *Rosmarinus officinalis*، الزيوت الأساسية ، قدرة مضادة للفطريات ،
.aromatogramme, DMSO, compost, vermicompost

Introduction

***Synthèse
bibliographique***

Matériel et méthode

Résultats

Discussion

Conclusion

***Références
bibliographiques***

Annexes

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Aspects morphologie de Romarin	05
Figure 2 :	Compost en phase de maturation	12
Figure 3 :	vermicomposteur à compartiments verticales	13
Figure 4 :	Limites géographiques de la Mitidja.....	16
Figure 5 :	Image satellite de la station expérimentale de l'université de Blida1.....	17
Figure 6 :	Peuplement de romarin du site d'étude (Originale, 2018).....	18
Figure 7:	Dispositif d'hydrodistillation type Clevenger (originale, 2018).....	19
Figure 8 :	Disposition des disques sur la gélose (originale, 2018).....	22
Figure 9:	Effet des différentes régies sur le rendement en huiles essentielles.....	25
Figure 10:	Composition des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> selon les types de régies.....	26
Figure 11:	Composés communs des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> issues des différents types de régies.....	28
Figure 12 :	Composés spécifiques des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> issues des différents types de régies.....	28
Figure 13:	Variation de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici</i>	30
Figure 14:	Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie compost....	31
Figure 15 :	Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie vermicompost.....	31
Figure 16 :	Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie irrigué à l'eau courante	32
Figure 17 :	Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie non irrigué (en sec)	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :	Les différentes variétés de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	06
---------------------	---	-----------

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

CG/SM : Le couplage Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse.

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EC : extrait de compost

HE : Huile (s) Essentielle (s)

MH : Masse d'huile essentielle en gramme.

MV : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme

PDA : Potato Dextrose Agar

PH : potentiel hydrogène

RHE: Rendement en huile essentielle (%)

R.Officinalis : rosmarinus officinalis.

Introduction

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est une plante aromatique originaire de la région méditerranéenne et utilisé dans le monde entier pour ses activités antimicrobiennes et antioxydantes. Cette plante présente beaucoup d'effets bénéfiques notamment son activité anti-inflammatoire (**Rahbardar et al., 2017**). Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L sont largement utilisées, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Le Romarin est entré dans la médecine moderne (**Hostettmann, 1997**).

Les huiles essentielles, les extraits d'herbes, sont bien connus pour leur l'activité antimicrobienne. Ils sont largement utilisés pour inhiber la croissance des bactéries et des champignons (**Friedman et al., 2002**). Les changements des propriétés antimicrobiennes des huiles de romarin provenant de populations naturelles ont également été détectés. Ces dernières variations sont dues à des conditions régionales, environnementales et agronomiques, le temps de récolte, le stade de développement des plantes, la méthode de l'extraction et les méthodologies utilisées pour évaluer leur activités biologiques (**Zaouali et al., 2010**).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence de la nutrition organique sur les potentialités antimicrobiennes des huiles essentielles de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* par la méthode de diffusion en milieu gélosé, qui consiste sur :

- Caractérisation des huiles essentielles du Romarin issus de différents régimes de nutrition organique,
- Identification des composés chimiques majoritaires et minoritaires des différentes régions.
- Evaluation de l'activité antifongique de ces huiles essentielles .

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Aperçu bibliographique sur le Romarin

1. Historique

Le romarin est connu depuis l'antiquité, c'est l'espèce la plus utilisée dans le méditerrané surtout en Algérie. Elle possède plus de 3300 espèce et environ 200 genres. Dans la Grèce antique : Les étudiants se confectionnaient des couronnes de romarins car elles avaient la réputation d'améliorer mémoire et facultés intellectuelles. Les Romains tressaient des couronnes de romarin dont on coiffait les mariés le jour de leurs noces. Ils en déposaient également sur leurs tombeaux – selon leur coutume - parce que cette herbe, considérée comme sacrée, devait conserver le corps par son arôme; et son feuillage persistant garantissait l'immortalité et procurait aux morts la paix éternelle. Les Egyptiens l'utilisaient déjà pour l'embaumement, ainsi qu'en fumigation lors des cérémonies religieuses en remplacement de l'encens (**Alma-Ata, 1978**). C'est Horace qui rendit le plus bel hommage à cette plante dont il disait "Si tu veux gagner l'estime des dieux porte leurs des couronnes de romarin "Symbole de bonheur et de gaieté, on l'appelait aussi "herbe des troubadours".

2. Répartition géographique

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (**Quezel et Santa, 1963**), le *Rosmarinus officinalis* est originaire du bassin méditerranéen (**Iserin, 2001**). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub -spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (**Schauenberg et Paris, 1977**).

3. Le Romarin *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (**Boullard, 2010**).

En Algérie : c'est l'une des plantes les plus populaires, on la trouve dans plusieurs régions. Depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire. Les anthropologues et les archéologues ont découvert que le romarin a été employé comme vertus médicinales, culinaires et cosmétiques en Egypte, Mesopotamia, Chine et en Inde antiques (**Stéphanois-Benyai et al., 2003**).

4. Classification du Romarin

Selon **Quezel et Santa (1963)**, le Romarin est classé comme suit :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Dialypétales

Ordre : Lamiales (Labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus* L.

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.



Figure 1 : Aspects morphologie de Romarin (Quezel et Santa, 1963)

5. Description botanique

Le romarin se présente sous forme d'un arbuste ou sous arbrisseaux ligneux très odorants touffu, xérophYTE, fortement rameux toujours vert a racine pivotante et a tiges ligneuses, généralement irriguées, pouvant atteindre jusqu'à 2metres de hauteur (**Quezel et Santa, 1963**).

5.1. Les feuilles

Portées par des rameaux subarrondis, sont opposés et sessiles étroites et lancéolées de 4cm de long sur 5mm de large, leur port est rapide, leur texture dure et coriance, leur limbes épais, cassant ; vert foncé sur la face supérieure et blanchâtre sur la face inférieure ; ses bords sont enroulés sur le dessous et la nervure médiane est saillante.

5.2. Les fleurs

Sont regroupées en petites grappes axillaires terminales , disposées à l'aisselle des feuilles , le calice bilabes a la forme d'une clochette ovale et duveteuse , la corolle est longuement tubuleuse , de 1.2cm de la large, bleu pale, lilas ou blanche mais souvent maculée de petites taches violettes.

5.3. Le fruit

Est un tétrakène lisse et globuleux, brun foncé de 2,3 mm de long. La floraison a lieu de mai à juillet (**Teuscher et al., 2005**).

6. Variétés du Romarin

On dénombre plus de 150 variétés de Romarin. Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la couleur de leurs fleurs (violette, bleues, blanches, roses) et de leurs feuilles, leur rusticité (tableau 1).

Tableau 1 : Les différentes variétés de *Rosmarinus officinalis* L. (in Mostefai, 2012)

Variétés	Nom	Caractéristiques
<i>Rosmarinus officinalis Alba</i> ou <i>Albus</i>	Romarin à fleurs blanches	Fleurs et bourgeons blancs.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Arp Romarin "Arp"	Supporte particulièrement bien le froid (zones 6 à 10). Ses feuilles ont une odeur citronnée
<i>Rosmarinus officinalis Athens Blue Spire</i>	Romarin "Athens Blue Spire"	Feuillage dense, arôme puissant
<i>Rosmarinus officinalis Barbeque</i>	Romarin "Barbeque"	Tiges bien droites, adaptées à l'usage des tiges comme brochettes
<i>Rosmarinus officinalis Bennenden Blue</i>	Romarin "Bennenden Blue"	Grandes fleurs bleu-ciel, feuilles étroites et foncée.
<i>Rosmarinus officinalis Blaulippe</i>	Romarin "Blaulippe"	Buisson compact, fleurs bleu tirant sur le violet. Sensible au froid.
<i>Rosmarinus officinalis Blue Lagoon</i>	Romarin "Blue Lagoon"	Buisson compact. Sa floraison le couvre de petites fleurs bleues.
<i>Rosmarinus officinalis Corsican Blue</i>	Romarin "Corsican Blue"	Rampant. Fleurs bleu soutenu
<i>Rosmarinus officinalis Fota Blue</i>	Romarin "Fota Blue"	Fleurs bleu foncé soutenu, feuillage vert foncé.
<i>Rosmarinus officinalis Gorizia</i>	Romarin "Gorizia"	Grandes feuilles et grandes fleurs bleues. Saveur légèrement épicée rappelant le gingembre.
<i>Rosmarinus officinalis Haifa</i>	Romarin "Haifa"	Rampant. Petit et fragile, adapté à la culture en pot en intérieur.
<i>Rosmarinus officinalis Jackmann's Blue</i>	Romarin "Jackmann's Blue"	Fleurs bleu ciel, retombant.
<i>Rosmarinus officinalis Miss Jessop's Upright</i>	Romarin "Miss Jessop's Upright"	Croissance verticale. Variété utilisée comme haie.
<i>Rosmarinus officinalis Pinkie</i>	Romarin "Pinkie"	Fleurs roses, feuilles courtes et ternes.
<i>Rosmarinus officinalis Primley Blue</i>	Romarin "Primley Blue"	/
<i>Rosmarinus officinalis Prostratus</i>	Romarin "Prostratus"	Feuilles brillantes. Croit en s'étalant, adapté aux topiaires.
<i>Rosmarinus officinalis Roseus</i>	Romarin "Roseus"	Fleurs roses.
<i>Rosmarinus officinalis Salem</i>	Romarin "Salem"	/
<i>Rosmarinus officinalis Severn Sea</i>	Romarin "Severn Sea"	Les branches sont retombantes. Fleurs bleues tendant vers le violet
<i>Rosmarinus officinalis Sudbury Blue</i>	Romarin "Sudbury Blue"	Feuilles bleu-vert, fleurs bleues.
<i>Rosmarinus officinalis Tarentinus</i>	Romarin "Tarentinus"	Buissonnant. Fleurs bleu pâle à violettes
<i>Rosmarinus officinalis Tuscan Blue</i>	Romarin "Tuscan Blue"	Croissance rapide, peut atteindre 2 mètres dans de bonnes conditions. Fleurs bleu foncé, feuilles bleu-vert foncé et brillantes. Arôme apprécié pour la cuisine.
<i>Rosmarinus officinalis Vicomte de Noailles</i>	Romarin "Vicomte de Noailles"	/
<i>Rosmarinus officinalis f. Repandens</i>	Romarin retombant	/
<i>Rosmarinus officinalis Lavandulaceus</i>	Romarin "Lavandulaceus"	Petite plante rampante, fleurs violettes.

7. Intérêt de la Plante

Le romarin est l'une des plantes utilisées pour l'huile essentielle, la production comprend trois espèces ; l'espèce la plus productive, *Rosmarinus officinalis* L., il est cultivé comme herbe et plante de jardin, et aussi pour son huile essentielle (**Porte et al., 2000**). Il est utilisé principalement comme une herbe d'épice pour fins culinaires. Le romarin est une source d'antioxydants, qui sont utilisés comme conservateurs naturels dans l'industrie cosmétique (**El Omri et al., 2010; Raiciu et al., 2010; Navarrete et al., 2011**). **Bendif et al.**, en 2017, ont montré que cette plante est largement utilisée en médecine et dans la conservation des aliments. Aussi **Rahbardar et al.**, en 2017, ont signalés que le romarin est utilisé dans le monde entier pour ses activités antimicrobiennes et anti oxydantes. Cette plante a aussi d'autres effets bénéfiques de son activité anti-inflammatoire.

8. Composition chimique

8.1. Huile essentielle

Les huiles essentielles représentent 1 à 3% de la plante, sa composition ainsi que la concentration en ses composés dépend fortement des chémotypes. En effet ses principaux constituants peuvent être du 1.8-cinéole (teneur peut varier entre 3 et 60% selon le chémotype), l' α -pinène (1 à 57% selon le chémotype), du camphre (1 à 57% selon le chémotype), du bornéole (1 à 18% selon le chémotype), de l'acétate de bornyl (1 à 21% selon le chémotype), de la verbénone (0 à 28% selon le chémotype), du p-cymène (0,5 à 10% selon le chémotype), ou du myrcène (0,5 à 12% selon le chémotype); ils peuvent être accompagnés de β -caryophyllène, de limonène, de linalool, de β -pinène, de sabinène, de γ -terpinène, d' α -terpinéol et de terpinéol-4 (**Teuscher et al., 2005**).

8.2. Composés phénoliques

Ibañez et al. (2003) et Ramirez et al., (2004), ont montré que l'acide vanillique, l'acide caféique, et l'acide p-coumarique constituent les principaux acides phénoliques du romarin. Certains auteurs ont montré la présence de composés appartenant à la famille des flavonoïdes : genkwanine, cirsimaritrine (**Ibañez et al., 2000; Cavero et al., 2005**), ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (**Okamura et al., 1994; Del Baño et al., 2004**), apigénine (**Yang et al., 2008**).

9. Effet des stades phénologiques et climats sur le métabolisme de la plante

En raison de l'importance des huiles essentielles, de nombreuses études ont été menées pour identifier la grande variété de composants, et comment la composition des huiles varie en fonction de facteurs externes; ces facteurs comprennent les conditions climatiques et l'habitat, la plantation, les stades et les

méthodes de récolte, et les conditions internes de la plante, telles que la génétique et l'âge des plantes (Viuda-Martos et al., 2007; Jamshidi et al., 2009; Gurusaravanan et al., 2010; Derwich et al., 2011; Singh et Guleria, 2013). Ces études ont montré les composants de l'huile essentielle et le rendement peuvent être varié de plusieurs façons. Cependant, il est possible que les conditions influent directement sur la biosynthèse des métabolites secondaires, ou que les changements dans d'autres processus biologiques ont un effet indirect. Cette étude est nettement possible, car la composition de l'huile peut être influencée par une série de facteurs, notamment le climat, la pollution et l'exposition aux ravageurs ou aux maladies (Figueiredo et al., 2008). Tigrine – kordjani et al. (2007) et Zaouali et al. (2012) ont indiqués que le contexte génétique et les conditions environnementales jouent un rôle important dans la variation de la composition chimique des populations de romarin.

10. Domaine d'utilisation de la plante

Le Romarin est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol (Heinrich et al., 2006). L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (Arnold et al., 1997).

II. Présentation des huiles essentielles

1. Généralité

L'huile essentielle, essence ou également appelé huile volatile, est l'ensemble d'extraits volatils de composition complexe obtenu des plantes aromatiques. D'après l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 2000), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles, sont appelées aussi « essences ». Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolés des plantes par hydro distillation ou par expression mécanique (Delarras C. 2007).

2. Localisation

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées (**Chaker, 2010**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes, par exemple, dans les sommités fleuries (Menthe, Lavande), les feuilles (Eucalyptus, Laurier), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Agrumes, Badiane, Anis), les écorces (Cannelle) et les graines (Muscades) (**Bouamer et al., 2005**).

3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologique : Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance), Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs (**Fouché et al., 2008**).

4. Extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction de essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles), de la nature des composés (par exemple, les l'huile essentielles, huiles lourdes). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées ; Les principales méthodes d'extraction sont : Distillation à vapeur saturée, Entraînement à la vapeur d'eau, Hydro diffusion, Expression à froid, Extraction par solvants, Hydro distillation, Extraction par les corps gras, Extraction par micro- ondes. Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques quel que soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (**Lucchesi, 2005**).

5. Hydro distillation

Le principe de l'hydro distillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique (**Meyer-Warnod, 1984**).

La température d'ébullition du mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange (eau + huile essentielle) distille à une température inférieure à 100°C à

pression atmosphérique (**AFNOR, 1992**). Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont la plupart très élevés (**Lucchesi, 2005**). La durée d'une hydro distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (**Raul et Ochoa, 2005**).

Les principales raisons de cette préférence sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé, son sélectivité et donc la qualité des produits obtenus. Cependant l'hydro distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. C'est ainsi que pour certains végétaux fragiles, comme par exemple les pétales de fleurs, une technique d'extraction plus appropriée est utilisée. Il s'agit de la (distillation dite sèche). Cette technique ancestrale, utilisée autrefois par les alchimistes arabes (**Lucchesi et Chemat, 2004**).

6. Constituants d'une l'huile essentielle

La composition des huiles essentielles est très complexe, ce sont des mélanges fortement variables et analysables, ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par les origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Benayad, 2008 ; Guinoisseau, 2010**).

7. Mode d'action des huiles essentielles

Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. En effet, certains chercheurs ont montré que la puissance de l'action des HE varie selon leurs constituants majoritaires, et que le mode d'action est principalement lié au profil chimique des constituants de chaque HE, qui est largement diversifié (**Cox et al., 2000 ; Buochberg et al., 1976 ; Harkenthal et al., 1999 ; Kandil et al., 1994**).

Quelques investigations sur le mécanisme d'action antimicrobienne des HE ou de leurs constituants ont été menées par différents auteurs. **Franchomme (1981)**, suggère que les HE hydroxylées créent des perturbations enzymatiques et prennent pour cibles les enveloppes protectrices, le mésosome et le cytoplasme. **Boochird et Flegel (1982)**, ont suggéré que les HE auraient des cibles qui dépendent de la concentration en HE qui est la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique et le cytoplasme.

8. Activités biologiques des Huiles essentielles

8.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles

De nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalembe, 2003**).

Les bactéries qui sont résistantes à certains antibiotiques, peuvent être parfois inhibées par les huiles essentielles. Selon **Caillet (2007)**, l'action antibactérienne des H.E. se déroule en trois phases: (i) Attaque de la paroi bactérienne par l'H.E, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, (ii) Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure, (iii) Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

8.2. Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (**Ouraini et al., 2005**) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (**Teixeiraduarte et al., 2005**). Des travaux similaires ont été réalisés par **Mohammedi (2006)** sur l'huile essentielle de *Cistus ladaniferus* contre sept moisissures: *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*; ont démontré que les huiles essentielles de thym, de Romarin, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique *in vitro* contre *Aspergillus flavus*.

8.3. Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (**Isman, 2005**). Certaines observations ont montré que l'extrait brut éthanolique (**Tierito-Nieber et al. 1992**), hexanique (**Nuto, 1995**) ou à l'éther de pétrole (**Gakuru et Foua-Bi, 1996**) de matériel végétal possède une toxicité effective vis-à-vis des ravageurs de stocks. D'autres résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F. (**Glitho et al., 1997; Gakuru et Foua-Bi, 1995**).

III. Synthèse sur les engrais organiques

1. Généralité sur le compost

Compost est un engrais organique qu'on peut faire à la ferme à peu de frais. Il est du matériel organique décomposé, comme des restes de plantes et/ou du fumier animal (Inckel et al., 2005). «Produit d'un processus aérobie géré avec soin et par lequel des microorganismes digèrent des matières non synthétiques. Les matières organiques servant à la fabrication du compost doivent être gérées de façon à atteindre certaines températures assez longtemps pour stabiliser efficacement les nutriments et tuer les agents pathogènes de l'humain» (Fig. 02) (Anonyme, 2006).



Figure 2 : Compost en phase de maturation (originale, 2018)

1.1. Les extraits de compost (EC)

Un EC est un mélange de compost et d'eau (1 : 5 à 1 : 10 (volume : volume) qui macère de 1 heure (h) à 2 semaines avant d'être filtré et appliqué sur les cultures. La solubilisation des éléments nutritifs du compost est l'objectif principal de la production de l'EC (Diver, 2002). L'EC diffère du «thé de compost» (Brinton et al., 1996) par l'absence de fermentation induite par l'ajout d'une source de carbone soluble (Scheuerell et Mahaffee, 2002).

1.2. Intérêt comme biofertilisant

En agriculture, les EC sont surtout appliqués sur les feuilles des plantes. Les EC pourraient donc agir comme un fertilisant foliaire. Il est intéressant d'avoir recours à la fertilisation foliaire pour corriger rapidement une carence en cours de croissance (Duval, 1991 ; Estevez, 2006).

1.3. Capacité de stimulation des défenses naturelle des plantes

L'application de compost dans le sol ne permet pas seulement de protéger les plantes contre les maladies telluriques, mais peut également permettre de renforcer l'état sanitaire global des plantes. Par exemple, **Zhang et al. (1997)** ont montré que des plantes d'*Arabidopsis* croissant dans un substrat contenant du compost étaient nettement moins attaquées par *Pseudomonas syringae* que des plantes cultivées dans de la tourbe.

2. Généralité sur le vermicompostage

Le terme vermicompostage ou lombricompostage se réfère à l'utilisation de vers de terre pour composter les résidus organiques. Les vers de terre peuvent consommer pratiquement tous les types de matière organique (généralement des déchets) et peuvent absorber l'équivalent de leur propre poids par jour. Les excréments (turricules) des vers de terre sont riches en nitrates et en forme disponible de phosphore, potassium, calcium et magnésium (**Misra et al., 2005**). Le vermicompost est une composition organique qui est légère, inodore et exempte de graines de mauvaises herbes (**Huerta-Cepas et al., 2010**).



Figure 3 : vermicomposteur à compartiments verticales (originale, 2018)

(a) Vermicomposteur à quatre compartiments (b) Bac de déchets frais (avec carton pour maintenir l'humidité) (c) Bac percé de petits trous permettant aux vers de se déplacer du bac de nourriture (au dessus) au bac de vermicompost – bac de terreau mur- (au dessous)

2.1. Composition de vermicompost

Il est affirmé par **Edwards (1999)** que le lombricompost est 1000 fois plus actif que le compost classique sur le plan de l'activité microbienne. **Atiyeh et al. (2000)** ont découvert que le compost a une teneur plus élevée en ammonium, alors que le

lombricompost est plus riche en nitrates, forme d'azote la plus assimilable par les végétaux.

Visvanathan et al. (2005) signalent que seulement 5 à 10% du matériel digéré est absorbé par le corps du lombric. Le reste est excrété sous la forme d'un fin mucus lié des agrégats granulaires, riches en NPK (nitrates, phosphates et potassium), micronutriments et de microorganismes bénéfiques pour le sol. Il s'agit de microorganismes beaucoup plus aptes à transformer les éléments nutritifs et à les rendre plus facilement assimilables par les végétaux que ceux que l'on trouve dans les engrais conventionnels (**Edwards ,1999**). De plus, le lombricompost présente des niveaux de contamination en microorganismes pathogènes bien plus faibles que le compost conventionnel (**Santos oliveira et al., 1976**)

2.2. Intérêts comme bio fertilisant et inducteur du système de défense chez les plantes

L'utilisation de différentes doses de bio fertilisant entre autre le lombricompost, permet de mieux comprendre le rôle de cette substance naturelle sur la performance de la production de la phytomasse et dans l'induction de la résistance contre les ennemis naturels en particulier. Des études ont également montré que le traitement foliaire des plantes avec du vermicompost était associé au développement de certaines réponses défensives dans les tissus des plante hôtes (**Pajot, 2010**).

2.3. Capacité à stimuler la croissance des végétaux

De nombreux travaux ceux d'**Atiyeh et al. (2002)**, ont pu démontrer que le vermicompost stimule la croissance des plantes, qu'ils soient utilisés comme amendements ou qu'ils entrent dans les milieux d'horticulture hors sol. Les lombricomposts ont améliorés la germination, la croissance et le développement des semis à plusieurs reprises, et accru la productivité des plantes .De plus **Arancon (2004)**, précise qu'un apport bénéfique de lombricompost est obtenu à des proportions de 10à 40% du substrat de culture. Il est à noter qu'au-dessus de 40%, l'apport de lombricompost n'est plus bénéfique et qu'il peut même se traduire par une baisse de la croissance ou du rendement. L'application du vermicompost a eu comme conséquence une augmentation significative et cohérente de la croissance de plantes en plein champs et en cultures protégées (**Edward et al., 2004**).

2.4. Effet du vermicompost sur la fertilité de sol

Selon **Lim et al. (2015)**, le lombricompost peut améliorer la fertilité physique, chimique et biologique du sol. En outre, le vermicompost possède également une texture plus fine et faible teneur en métaux lourds par rapport à la le compost, ce qui le rend approprié pour être utilisé comme engrais de culture. (**Wu et al., 2014 ; Lim et al., 2016**).

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Objectifs du travail

Notre étude a pour objectif d'étudier les potentialités antifongiques des huiles essentielles du romarin *Rosmarinus officinalis* L. issue de différentes régions organiques (thé de compost et de vermicompost).

2. Situation géographique de la région d'étude

La région d'étude fait partie de la plaine de la Mitidja. C'est la plus vaste plaine sublittorale de l'Algérie, elle s'étend sur une longueur de 100Km, et une largeur de 5 à 20 km, sa superficie est de 140 000 hectares. Elle est limitée au nord par la ride de sahel, qui l'isole de la mer méditerranéenne, au nord-ouest par djebel Chenoua, et la retombe de la chaîne de ben Mraade, avec le djebel Zaccor formant ainsi la plaine. Au sud par l'atlas mitidjien, constitué de chaînons de Zaccor (800m), et l'atlas bliidienne proprement dit avec 160m au pic de Mouzaya et 1692m au djebel de Guerroumen. A l'est ce sont les hauteurs et les collines de basses Kabylie qui forment la plaine. La plaine ne s'ouvre directement sur la mer que sur quelques kilomètres séparant l'oued Reghaia et l'oued Boudouaou, elle constitue une vaste carène dissymétrique sur fond incliné **Loucif et Bonafonte (1977)** (Fig. 04).

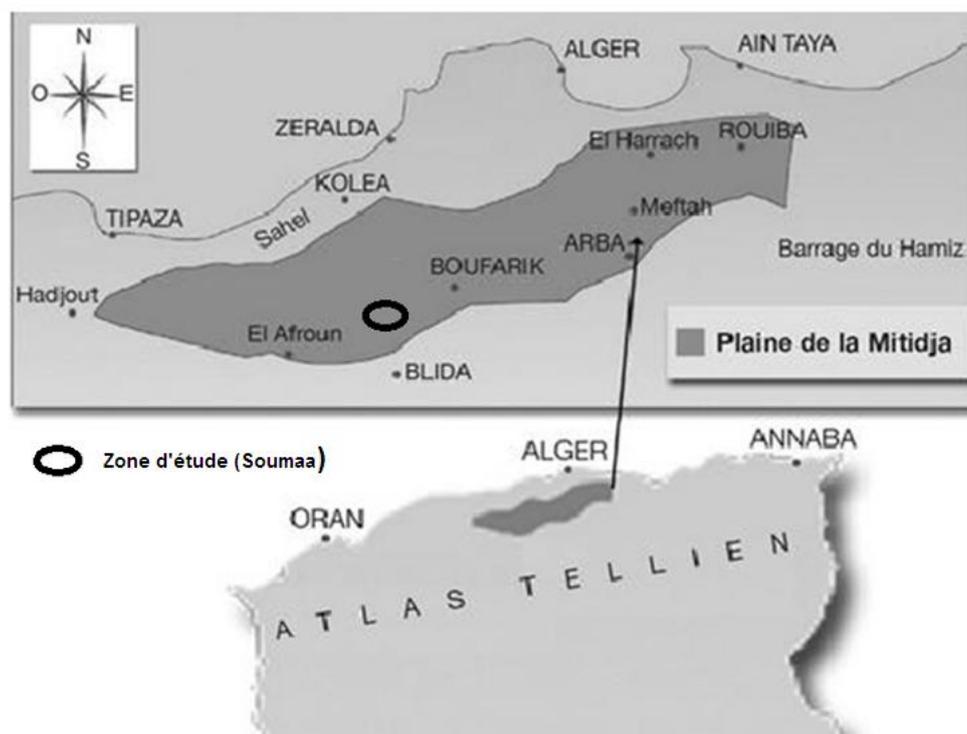


Figure 4 : Limites géographiques de la Mitidja (Loucif et Bonafonte ,1977)

3. Caractéristiques climatiques

Le diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN et le climagramme pluviométrique d'EMBERGER dégagent certaines caractéristiques de climat de la région d'étude. Le diagramme Ombrothermique établie pour la période (1995 à 2013) se caractérise par deux périodes fondamentales : l'une humide de sept mois s'étalant de janvier à avril puis de octobre à décembre, l'autre sèche d'un intervalle de cinq mois de mai à septembre. Sur le plan thermique, Les mois les plus froids sont janvier et février avec des températures moyennes minimales respectives de 4,49 °C et 4,48 °C, et une température moyenne maximale de 20,31 °C et 22,56 °C, tandis que les mois les plus chauds sont juillet et août avec des températures moyennes maximales respectives de 37,2°C et 37,00°C et de 20,54°C suivie de 22.01°C comme température moyenne minimales. En Mitidja, les précipitations sont caractérisées par une grande variabilité en fonction des années, et aussi en fonction des mois de la même année. Dans un intervalle de plus de 380 mm et moins de 787,88 mm et ont lieu durant l'hiver et le printemps, le mois le plus humide est décembre et le plus sec est juillet (Aroun, 2015).

4. Site d'étude

La conduite des différents régimes de nutrition organique et la cueillette du matériel végétal a été réalisée au niveau de la station expérimental de la faculté des Science de la Nature et de la Vie de l'Université de Blida 1 (Fig. 05). Cette dernière se situe au piedmont de l'atlas blidienne, elle est limitée à l'est par la commune de Soumaa, à l'ouest par la commune d'Ouled Yaïch, au nord par la commune de Guerouaou, au sud par le mont de Chrea.



Figure 5 : Image satellite de la station expérimentale de l'université de Blida1 (google map ,2018)

5. Matériel d'étude

5.1. Matériel végétale

Les échantillons ont été récoltés au niveau du département des Sciences Agronomiques de l'Université Saad DAHLEB (Blida 1), ils ont été séchés à l'air libre et à l'ombre pendant quelques jours, seule la partie aérienne (feuilles, fleurs et jeunes tiges) qui a été collectée après chaque pulvérisation (pendant 10 jours) avec l'eau et des traitements à base de compost et de vermicompost.



Figure 6 : Peuplement de romarin du site d'étude (Originale, 2018)

5.2. Matériel fongique

L'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. étudiées a été réalisée au niveau de Laboratoire de physiologie végétale, Département des Biotechnologie, Faculté des Sciences de lanature et de la Vie, Université de Blida 1. La souche utilisée fait partie du genre *Fusarium*. Il s'agit de *Fusarium oxysporum fsp lycopersisi*. Selon **Lansing et al., (2003)**, **Moretti (2009)** et **Lepoivre (2003)**, le champignon attaque principalement la plante au début de la floraison. La plante attaquée présente des symptômes de flétrissement et de jaunissement partiel, puis total du feuillage.

5.3. Milieu de culture

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieux de culture le PDA (Potato Dextrose Agar, 200g : 20g :15g :1L :pH 5±0,2). Le PDA est le milieu de culture utilisé pour l'entretien des souches fongiques et la réalisation des tests antifongiques (**Davet et Rouxel, 1997**).

6. Méthode d'extraction et de caractérisation des huiles essentielles

6.1. Extraction de l'huile essentielle hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée par hydrodistillation de type Clevenger (Fig. 7). Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon de 1L, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4°C et à l'ombre. Le principe de cette méthode est basé sur un entrainement des constituants volatiles de l'huile essentielle par la vapeur d'eau. Cette dernière chargée des produits volatils est condensée dans un réfrigérant pour donner de l'huile essentielles après décantation



Figure 7: Dispositif d'hydrodistillation type Clevenger (originale, 2018)

50g des échantillons séchés de *Rosmarinus officinalis* sont mises dans un ballon, additionné de 600 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par un condensateur, fixé par un support approprié en position verticale pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ deux heures et demi. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule

à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. En fin, le distillat est recueilli dans un tube à essai et l'huile essentielle des fleurs de *Rosmarinus officinalis* sera par la suite récupérée dans un flacon approprié.

6.2. Analyse des huiles essentielles par CG/MS

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a été effectuée à l'aide d'un chromatographe de type Thermo Electron: Trace GC Ultra équipé d'une colonne capillaire HP-5 (5% diphényl- 95% diméthyl-siloxane) (30 m x 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 µm). L'appareil est équipé d'un injecteur PVT (Température de Vaporisation Programmée) de type split-splitless. Le mode d'injection est split. Le volume injecté est de 1 µl. La programmation de température va de 50 à 300°C avec un gradient de 3°C/min. La spectrométrie de masse est réalisée avec un chromatographe en phase gazeuse de type Thermo Electron Trace MS system. La fragmentation est effectuée par impact électronique d'intensité 70eV. La colonne capillaire est de type HP-5MS (5% diphényl- 95% diméthyl-siloxane) (30 m x 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 µm). La température de la colonne est programmée de 50 à 300°C à raison de 3°C/min. Le gaz vecteur hélium a un débit de 1,0 ml/min. L'injection est faite en mode split (rapport de fuite : 1/70, débit ml/min). L'appareil est relié à un système informatique gérant la bibliothèque de spectres de masse du National Institute of Standards and Technology (NIST 98). Les composés de l'huile essentielle sont identifiés par les spectres de masse. L'identification des composants individuels est fondée sur la comparaison des indices de rétention (I_r) calculés, avec ceux de composés authentiques ou des données de la littérature (National Institute of Standards and Technology, 2008), et des bibliothèques commerciales, et par l'analyse de chaque spectre de masse des composés constitutifs.

7. Calcul du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (MH) et la masse de la matière végétale utilisée (MV). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante (Boussaada et Chemli, 2007) :

$$\text{RHE}\% = (\text{MH} / \text{MV}) \times 100$$

Avec :

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

MH : Masse d'huile essentielle en gramme.

MV : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme

8. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

Pour mettre en évidence l'activité antifongique de *Rosmarinus officinalis* L. nous avons utilisé la méthode de diffusion par disques.

8.1. Préparation du milieu de culture

Le PDA est stérilisé à l'autoclave pendant 20min à 120°C, ensuite couler aseptiquement dans les boîtes de pétri à 4mm d'hauteur et laisser refroidir et se solidifier (Harrar, 2012).

8.2. Préparation des dilutions

La formulation consiste à additionner à l'huile essentielle un adjuvant afin de faciliter sa conservation et d'homogénéiser son étalement et son absorption par le substrat. Nous avons préparé la formulation à partir de l'HE de Romarin, comme suit : les huiles essentielles ont été mélangées avec le DMSO. Le témoin est réalisé dans même condition sans HE. Un gradient de dilution a été retenu 3200µl/ml, 1600 µl/ml, 800 µl/ml, 400 µl/ml et 200 µl/ml selon le protocole établi par Kucukbay et al. (2011)

8.3. Préparation des disques

Les disques sont préparées à partir du papier wattman de 6 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 20 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante.

8.4. Ré-isolément des souches microbiennes

On a prélevé quelque colonie fongique à l'aide d'une anse de platine puis disposées sur le centre d'une boîte de pétri préalablement coulée du milieu de culture spécifique pour les champignons (PDA) puis incubés à 27°C pendant 5 à 6 jours.

8.5. Préparation des disques mycéliens

Après incubation des disques mycéliens de 8mm de diamètre issu d'une culture âgée de 7 jours de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* ont été prélevé avec un emporte-pièce et inoculés au centre de chaque boîte de pétri précédemment coulé avec 15ml de PDA (1disque/boîte).

8.6. Application des disques

Les disques sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bun zen, et à l'aide d'une micropipette on imbibe chaque disque par 10 μ l de dilution préconisée (Fig. 08).



Figure 8 : Disposition des disques sur la gélose (originale, 2018)

8.7. Incubation

Les boîtes sont fermées avec le parafilm et incubées à température ambiante pendant 20 min, ensuite dans une étuve à 25°C pendant 7 jours. Après diffusion de l'HE durant 1 heure les boîtes ont été incubées à l'obscurité à une température de 27 C°, durant 7 jours.

9. Expression des résultats

L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, déterminée par les différentes concentrations. La Cinétique de la croissance mycélienne correspond aux variations dans le temps, du diamètre du champignon avec différentes concentrations. La cinétique de croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de cinq diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins dans les mêmes conditions et en utilisant le logiciel Digimizer avec un support pour respecter le même pixel. La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience, à savoir au bout de 168h (7 jours) d'incubation, en mesurant la moyenne de cinq diamètres sans prendre en compte le diamètre du disque. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins ayant démarré le même jour et dans les mêmes conditions.

10. Analyse statistique des données

Les résultats sont rapportés comme valeurs de trois répétitions (moyennes \pm SE) sur la base d'un C.V. $<15\%$. L'analyse de la variance (type GLM et type ANOVA) suivie du test de post-Hoc a été utilisée pour établir l'effet de l'activité antifongique des dilutions et des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issues des différentes régions de nutrition organique, les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$. Les données ont été déroulées par le logiciel XLSTAT ver. 9, et par le logiciel SYSTAT ver. 12.

Chapitre 3 : Résultats

Les résultats relatifs à l'effet de différentes régies de nutrition organique sur la composition chimique et l'activité antifongique de l'huile essentielle du romarin sont exposés dans ce chapitre.

1. Estimation du rendement en huiles essentielles

Le pourcentage des rendements en huile essentielle du Romarin de différentes régies est représenté dans la Figure 09. L'analyse de la variance exprime un écart très significatif en rendement des huiles essentielles des différentes régies (Test On-way ANOVA, $F=5986$, $p=2,6 \times 10^{-19}$). La comparaison par paires nous a permis d'annoncer une graduation négative en rendement selon un gradient de conduite nutritionnelle ; vermicompost (A), compost (B), non irrigué (C) et irrigué à l'eau courante (D).

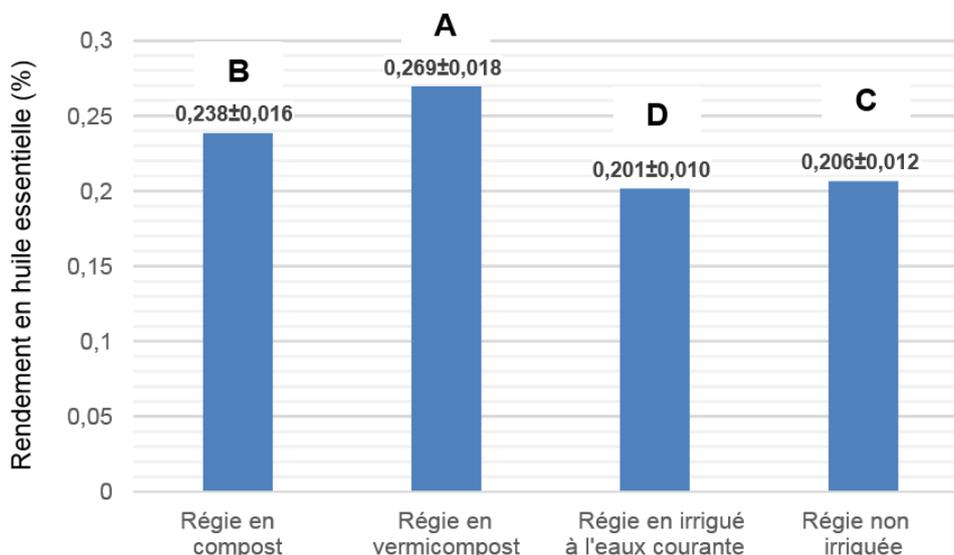


Figure 9: Effet des différentes régies sur le rendement en huiles essentielles

2. Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issues de différentes régies de nutrition organique

Les résultats d'analyse de la CG/SM font ressortir une richesse en molécules au profit de l'huile essentielle de Romarin issus de l'irrigation à l'eau courante (14 molécules) et par rapport à l'huile essentielle de Romarin non irriguée (13 molécules), l'huile essentielle de Romarin issus de la régie en vermicompost (11 molécules) et à l'huile essentielle issus de la régie en compost (12 molécules) (Fig. 10).

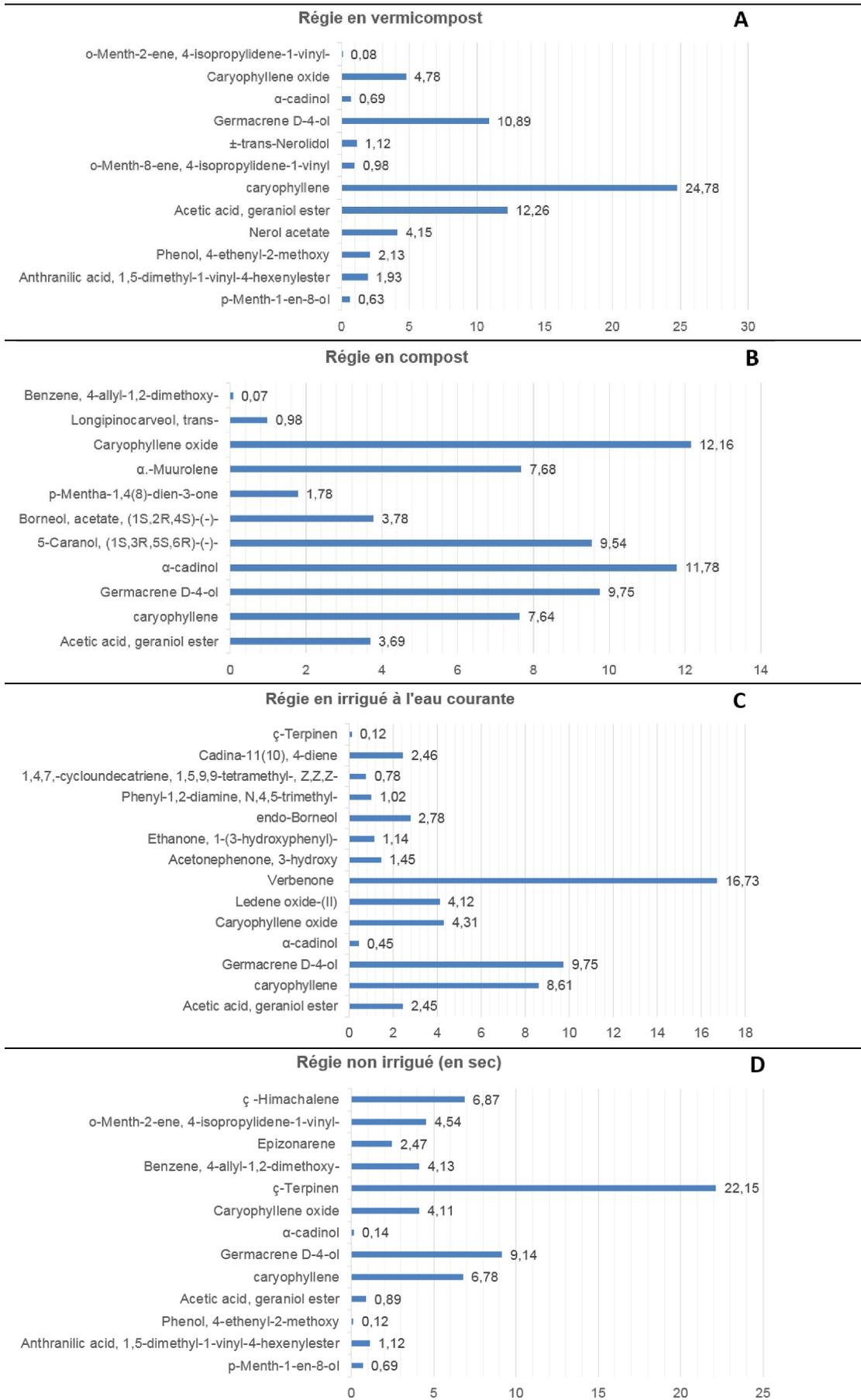


Figure 10: Composition des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* selon les types de régies

Les principaux composés chimiques qui constituent la fraction majoritaire de l'huile essentielle de Romarin issus de régie de vermicompost (Fig.08 A) sont, caryophyllene (24,78%), Acetic acid, geraniol ester (12,26%), Germacrene D-4-ol (10,89%), alors que la fraction minoritaire représente la Caryophyllene oxide (4,78%), Nerol acetate (4,15%), Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy (2,13%), Anthranilic acid, 1,5-dimethyl-1-vinyl-4-hexenylester (1,93%), \pm -trans-Nerolidol (1,12%), o-Menth-8-ene, 4-isopropylidene-1-vinyl (0,98%), α -cadinol (0,69%), p-Menth-1-en-8-ol (0,63%), o-Menth-2-ene, 4-isopropylidene-1-vinyl- (0,08%).

Concernant l'huile essentielle de la régie en compost (Fig.08 B) , les fraction majoritaire sont : Caryophyllene oxide (12,16%), α -cadinol (11,78%), Germacrene D-4-ol (9,75%), 5-Caranol, (1S,3R,5S,6R)-(-)- (9,54%), α -Muurolene (7,68%), caryophyllene (7,64%), alors que la fraction minoritaire chez les HE_de régie en compost contient Borneol, acetate, (1S,2R,4S)-(-)- (3,78%), Acetic acid, geraniol esterb (3,69%), p-Mentha-1,4(8)-dien-3-one(1,78%), Longipinocarveol, trans- (0,98%), Benzene, 4-allyl-1,2-dimethoxy- (0,07%).

Les principaux composés chimiques qui constituent la fraction majoritaire de l'huile essentielle du Romarin issus de l'irrigation à l'eau courante (Fig.08 C) est la Verbenone (16,73%), Germacrene D-4-ol (9,75%), caryophyllene (8,61%), alors que la fraction minoritaire est la Caryophyllene oxide (4,31%), Ledene oxide-(II) (4,12%), endo-Borneol (2,78%), Cadina-11(10), 4-diene (2,46%), Acetic acid, geraniol ester (2,45%), Acetonephenone, 3-hydroxy (1,45%), Ethanone, 1-(3-hydroxyphenyl) (1,14 %), Phenyl-1,2-diamine, N,4,5-trimethyl- (1,02%), 1,4,7,-cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z- (0,78%), α -cadinol (0,45%), ζ -Terpinen (0,12%).

Concernant la fraction majoritaire de l'huile essentielle de Romarin issus de régie non irrigué (Fig. 08 D) signale ζ -Terpinen (22,15%), Germacrene D-4-ol (9,14%), ζ -Himachalene (6,87%), caryophyllene (6,78%), alors que la fraction minoritaire chez les HE_NIRRI, il s'agit de la o-Menth-2-ene, 4 isopropylidene-1-vinyl- (4,54%), 4-allyl-1,2-dimethoxy- (4,13%), Caryophyllene oxide (4,11%), Epizonarene (2,47%), Anthranilic acid, 1,5-dimethyl-1-vinyl-4-hexenylester (1,12%), Acetic acid, geraniol ester (0,89%), Benzene, p-Menth-1-en-8-ol (0,69%), α -cadinol (0,14%), Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy (0,12%).

Le Caryophyllene oxide, α -cadinol, Germacrene D-4-ol, caryophyllene et Acetic acid, geraniol ester étant des molécules communes pour les quatre huiles essentielles du Romarin étudiées. En revanche, le Caryophyllene oxide et α -cadinol sont caractéristiques de l'huile essentielle du Romarin issu de la régie en compost alors que Béta Germacrene D-4-ol, caryophyllene et Acetic acid, geraniol caractérisent l'huile essentielle du Romarin issu de la régie vermicompost (Fig. 11).

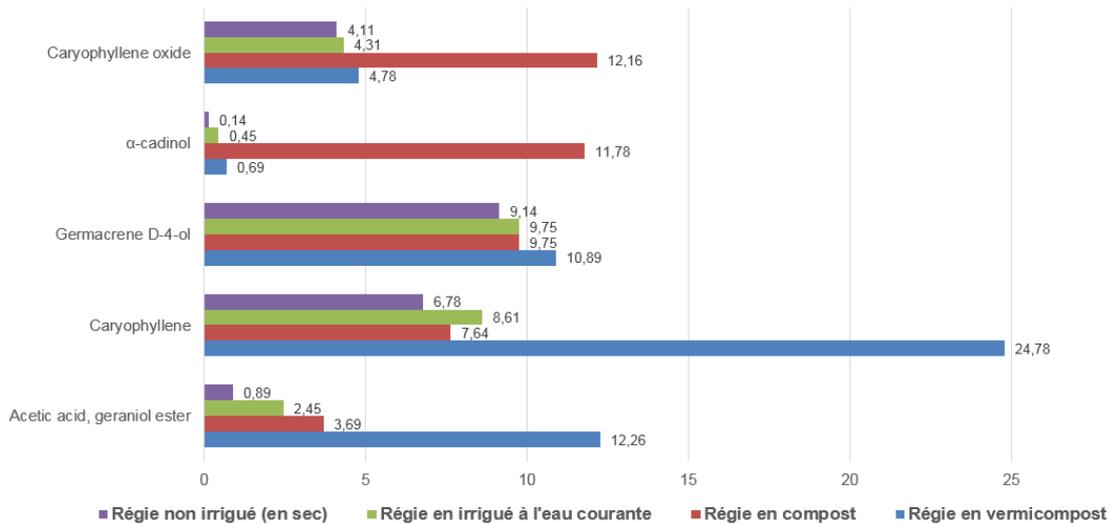


Figure 11 : Composés communs des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issues des différents types de régies

Les deux principaux composés spécifique de l’huile essentielle du Romarin issu de la régie non irrigué sont : ζ -Himachalene (6,87%), Epizonarene (2,47%). concernant les huit composants Verbenone (16,73%), Ledene oxide-(II) (4,12%), endo-Borneol (2,78%), Cadina-11(10),4-diene (2,46%), Acetonephenone, 3-hydroxy (1,45%), Ethanone, 1-(3-hydroxyphenyl) (1,14 %), Phenyl-1,2-diamine, N,4,5-trimethyl- (1,02%), 1,4,7,-cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z- (0,78%) sont issu de la régie en irrigué à l’eau courante. Ainsi que les cinq, 5-Caranol, (1S, 3R, 5S, 6R) (9,54%), α .-Muuroleone (7,68%), acetate, (1S,2R,4S)-(-)- (3,78%), Longipinocarveol, trans- (0,98%) sont spécifiques de l’huile essentielle de la régie en compost. Enfin, dans la régie en vermicompost deux composants qui sont spécifique \pm -trans-Nerolidol (1,12%) et o-Menth-8-ene, 4-isopropylidene-1-vinyl (0,98%) (Fig.12).

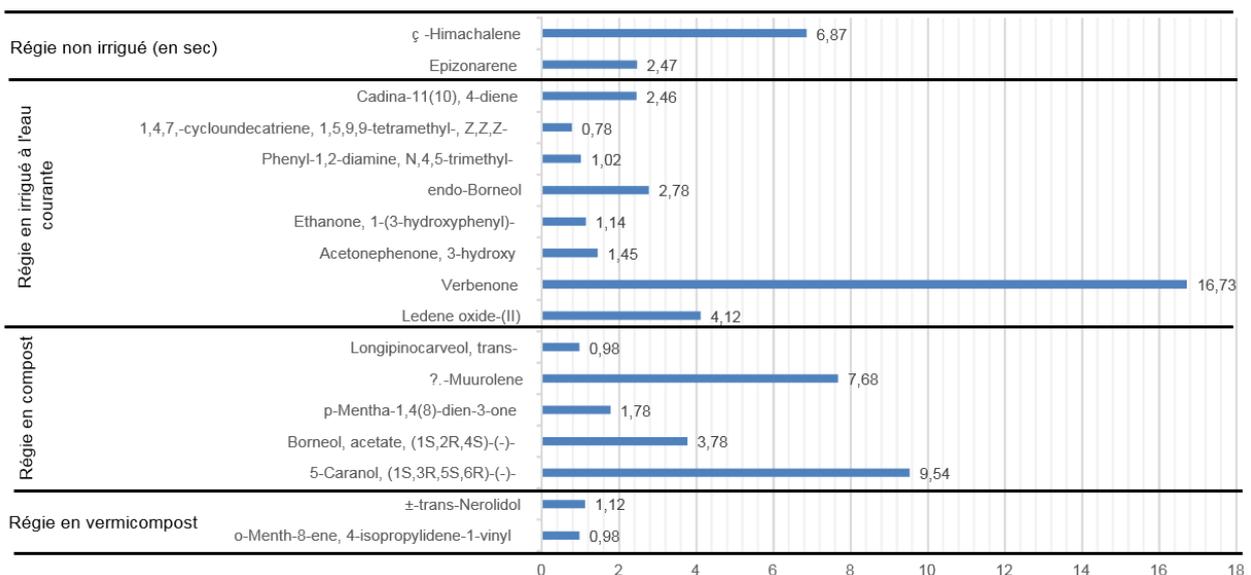


Figure 12: Composés spécifiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issues des différents types de régies

3. Variation de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* sous l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issues de différentes régions de nutrition organique.

3.1. Estimation de la croissance temporelle

Selon la figure (13 A) l'évolution temporelle de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* sous l'effet de l'huile essentielle issue de la région en compost montre un effet fongicide plus important selon les fortes concentrations obéissant à un gradient positive (D1>D2> D3).

La comparaison des croissances mycéliennes sous l'effet des fortes doses annonce une similarité d'effet entre la région non irriguée et la région irriguée à l'eau courante selon l'ordre de concentration des dilutions utilisées (D1>D2>D3>D4) (Fig. 13. E et G). En revanche, sous l'effet de l'huile essentielle de la région en vermicompost, l'activité antifongique présente une croissance mycélienne plus importante selon les fortes et les faibles concentrations obéissant toujours à un gradient positif (D1>D2>D3>D4>D5) (Fig. 13. C).

L'efficacité de l'huile essentielle de romarin issu de différents traitements (région en compost, vermicompost, irriguée à l'eau courante et non irriguée) apparaît dès le premier jour d'incubation du champignon pour l'ensemble des traitements. Tandis que la croissance s'accroît depuis le 2^{ème} jour jusqu'au 5^{ème} jour. Finalement, cette croissance évolue d'une manière graduelle jusqu'au 7^{ème} jour (Fig. 13. A, C, E, et G).

La présentation graphique en BoxPlot des données expérimentales est avancée dans le but d'apprécier la variation des croissances mycéliennes de *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* sous l'effet des différentes doses des huiles essentielles du Romarin (Fig. 13. B, D, F et H). Les BoxPlot observées sous l'effet de l'huile essentielle issue de la région en vermicompost annoncent une plus grande efficacité en terme d'inhibition de croissance mycélienne (D1:Q₁=2,87, Q₂=2,18, Q₃=0,20), (D2: Q₁=3,28 Q₂=2,45, Q₃=0,29), (D3=3,22, Q₂=2,47, Q₃=0,32), (D4: Q₁=3,24 Q₂=2,76, Q₃=0,48), (D5=3,35, Q₂=2,79, Q₃=0,52) (Fig. 13D). Alors que, les boîtes graphiques en BoxPlot montrent une similarité dans les taux de croissance mycélienne de la région en irriguée à l'eau courante (D1:Q₁=3,07, Q₂=2,52, Q₃=0,29), (D2: Q₁=3,35, Q₂=2,79, Q₃=0,35), (D3=3,37, Q₂=2,81, Q₃=0,45), (D4: Q₁=3,47 Q₂=2,84, Q₃=0,48); par rapport à la région non irriguée (D1:Q₁=3,07, Q₂=2,55, Q₃=0,25), (D2: Q₁=3,18, Q₂=2,66, Q₃=0,43), (D3=3,22, Q₂=2,88, Q₃=0,45), (D4: Q₁=3,38, Q₂=2,94, Q₃=0,48) (Fig. 13 F et H). En revanche, les boîtes graphiques en BoxPlot montrent que les taux de croissance se détachent clairement sous l'effet de l'huile essentielle de la région en compost (D1:Q₁=2,77 Q₂=2,23, Q₃=0,29), (D2: Q₁=2,93 Q₂=2,51, Q₃=0,31), (D3=3,20 Q₂=2,95, Q₃=0,38) (Fig. 13B).

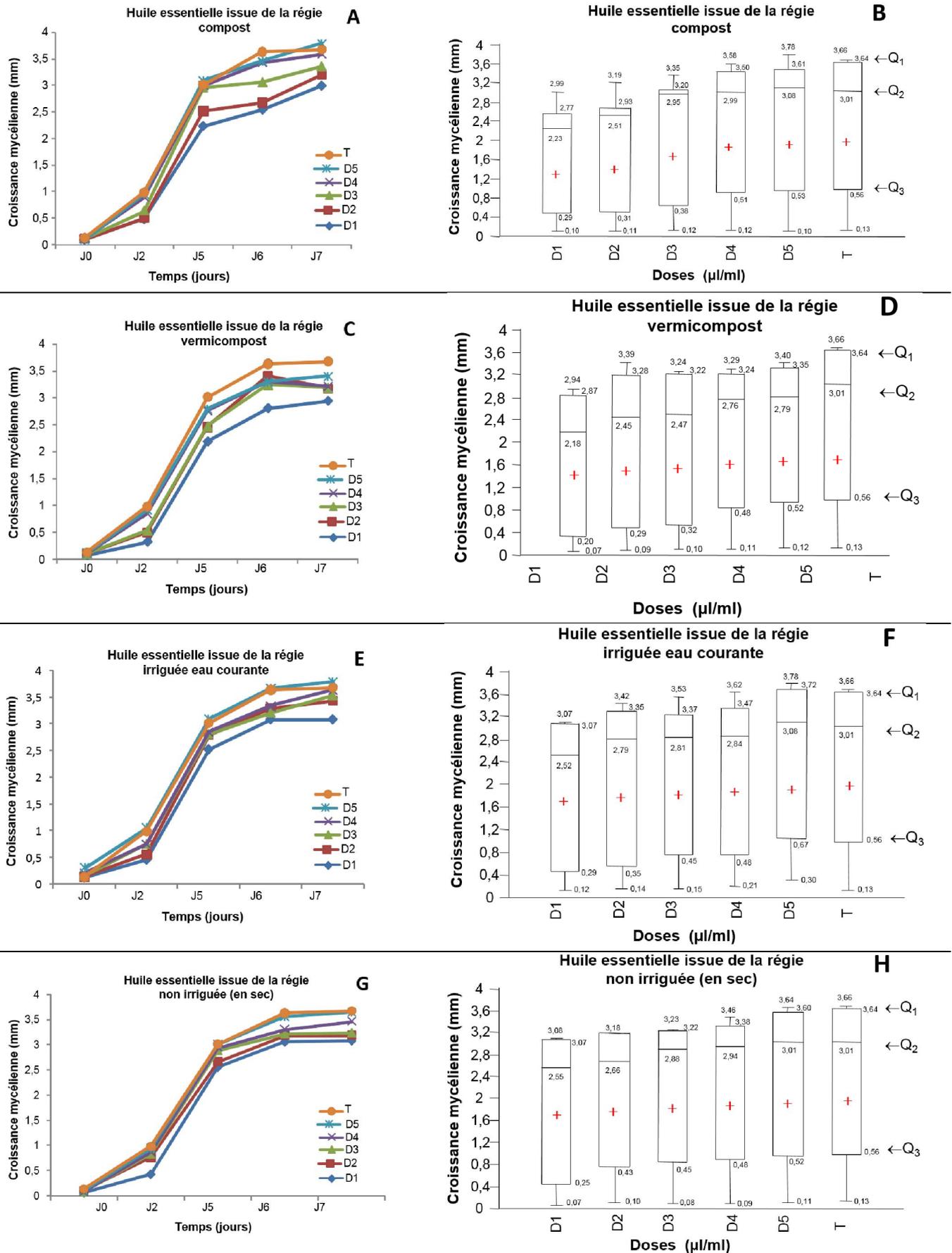


Figure 13: Variation de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*

3.2. Etude comparée de la croissance mycélienne sous l'effet des différentes régies

Une analyse type G.L.M a été utilisée pour chaque facteur étudié. Les résultats graphiques sont consignés dans la figure (Fig. 14).

À partir des résultats obtenus, nous remarquons que le temps d'incubation enregistre un effet très significative sur la croissance mycélienne pour le traitement compost ($p < 0,0001$) (Fig. 14. A, B et C). Le test de comparaison multiple Post-Hoc de Tukey, désigné par la régie compost présente 7 groupes homogènes relatifs aux paliers temporels d'activité antifongique. Alors que facteur dose indique la présence de trois groupes homogène A, B et C (Fig. 14C).

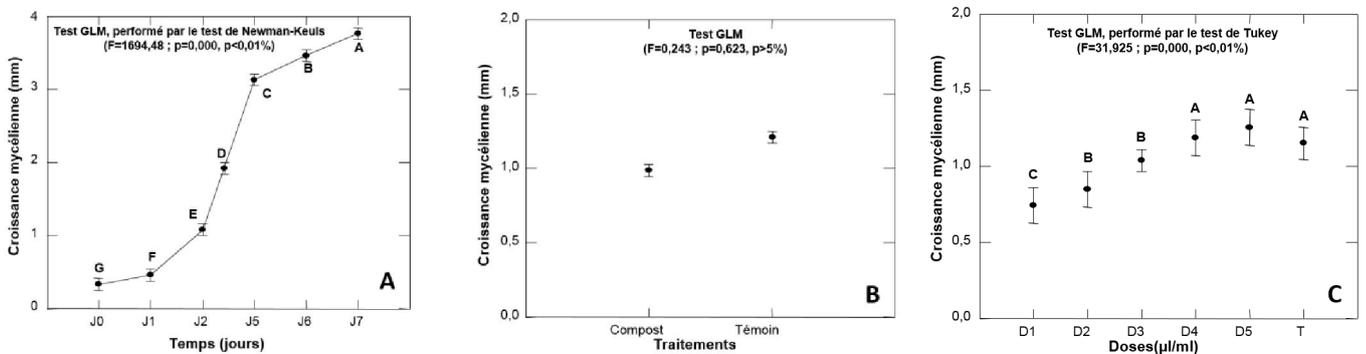


Figure 14: Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie compost

Le même test indique pour la régie en vermicompost, la présence de 5 groupes homogènes relatifs aux paliers temporels d'activité fongicide. Aussi, facteur dose indique la présence de quatre palier A, AB, B et C (Fig. 15C).

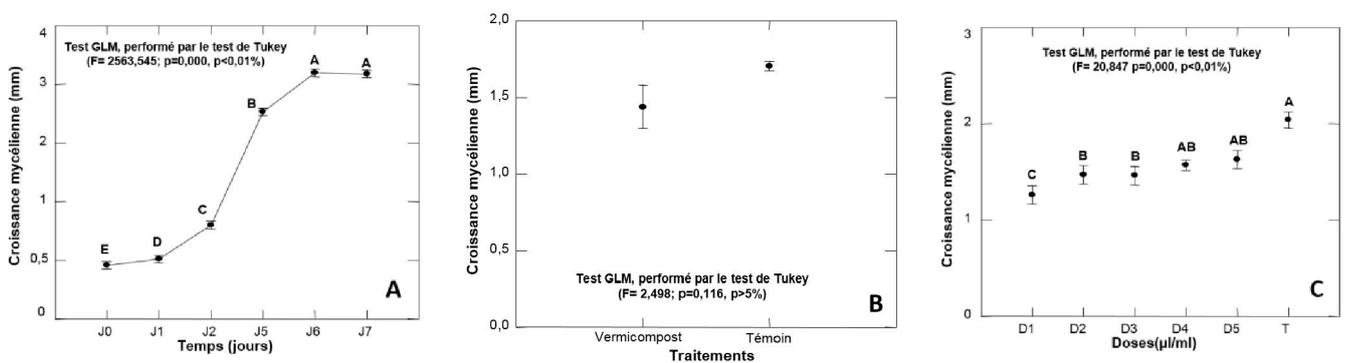


Figure 15 : Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie vermicompost

Par ailleurs, nous remarquons que le temps d'incubation enregistre un effet très significative sur la croissance mycélienne sous l'effet de l'huile de la régie irriguée à l'eau courante ($p < 0,0001$) (Fig.16B). Le test de comparaison multiple Post-Hoc de Tukey, désigné par la régie irriguée à l'eau courante présente 2 groupes homogènes A et B relatifs aux paliers des deux facteurs temporels et doses d'activité antifongique (Fig. 16 A et C).

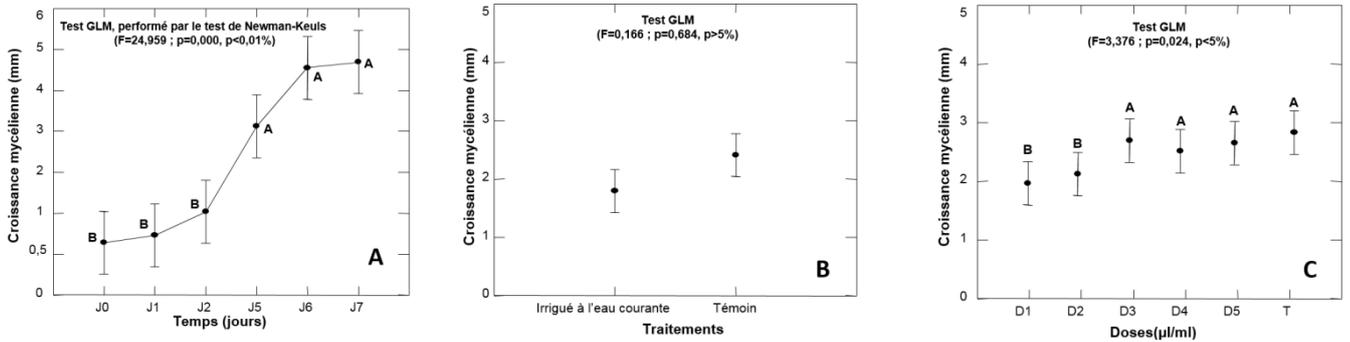


Figure 16 : Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie irriguée à l'eau courante

Enfin, pour la régie non irriguée le même test indique la présence de 4 groupes homogènes « A, B, C et D » relatifs aux paliers temporels d'activité fongicide. Bien que le facteur dose désigne la présence de quatre paliers A, AB, B et C (Fig. 17C).

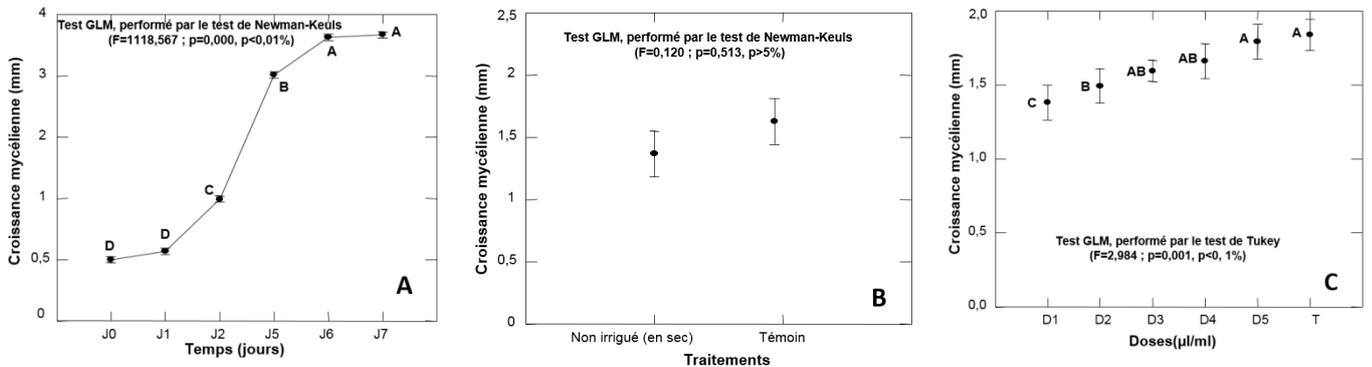


Figure 17 : Estimation de la croissance mycélienne sous l'effet de la régie non irriguée (en sec)

Chapitre 4 : Discussion

Les conditions environnementales le climat, la température, le stade végétatif et les conduites culturales peuvent influencer le métabolisme secondaire des plantes. Les régies de nutrition organiques engagées dans la présente étude nous ont permis de dégager les hypothèses suivantes :

1. Effet de nutrition organique sur le métabolisme secondaire des plantes

Les études ont montrés que les différent traitements ont un effet sur le développement de la plante, et la régie en vermicompost présente un rendement intéressant, il apparait aussi que l'effet de l'huile essentielle de cette régie est plus important que celui de compost et de l'eau. Ces variation en huile essentielle sont dues à l'enrichissement de la plante par des nutrition donc elle a activé son métabolisme et ce dernier nous présente un métabolite secondaire complètement différent. Les résultats obtenus nous permettent d'avancer l'hypothèse de potentialité des engrais sur le métabolite primaire. L'hypothèse avancée, rejoint l'étude de plusieurs recherches et parmi eux les résultats d'**Awono et al. (2002)** montrent que l'application des fumures organiques s'est traduite à des doses relativement élevées, par une augmentation sensible du rendement. En revanche, d'autres travaux d'**Atiyeh et al. (2002)** ont pu démontrer que le vermicompost stimule le métabolisme basal de la plante. La variation du rendement en huile essentielle peut être due à des facteurs génétiques, des stades de développement, de l'origine végétale, des méthodes de récolte, de séchage et de stockage et des méthodes culturales (**Burt, 2004**). La nutrition organique pourraient affecter de façon significative les rendements en huile essentielle des plantes médicinales et aromatiques, et par conséquent, les accumulations préférentielles en stade de floraison **Sangwan et al., (2001)**, alors que d'autre rapports, restituent que le plus faible rendement en huile essentielles été marqué en stade végétative. Les variations de la composition chimique des huiles essentielles de *Cytisus triflorus* L'Her ont été rénovées de façon spectaculaire sous l'effet d'une nutrition inorganique (NPK), dont on peut concevoir que ces variations étaient accompagnées aux modifications du métabolisme secondaire. L'hypothèse avancée corroborait avec une étude où il a été signalé que l'effet de différentes régies sur l'huile essentielle et sa composition peut être dû à son influence des éléments nutritifs sur l'activité enzymatique et le métabolisme de la production d'huile essentielle (**Telci et al., 2006**).

2. Effet des composés de l'huile essentielles sur l'activité antifongique

Les études ont montrés que les fortes concentrations des huiles essentielles ont un effet très apparent sur la croissance mycélienne et dans totalité des essais les doses D1 à D3 sévère les plus performantes. Les résultats obtenus nous permettent d'avancer l'hypothèse de l'efficacité de l'huile essentielle à forte dose peuvent contenir de fortes taux de composés majoritaire et par conséquent leurs activités

biologiques se trouvent améliorées. L'hypothèse avancée, rejoint l'étude de plusieurs recherches qui signale que la concentration des huiles essentielle influence l'activité inhibitrice, plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres d'inhibitions sont importants, cet état de fait a été constaté par **Karagoz et al. (2010)**. De plus, des études réalisées par **Burt (2004)**, ont également montré que pour l'obtention d'un effet antibactérien significatif, il est recommandé de préconiser des concentrations élevées de l'ordre de (5 – 20µl/g). D'autres études ont confirmés aussi que la différence dans les activités antibactériennes des huiles essentielles peut être liée à la concentration et à la nature et le contenu (**Oussalah et al., 2007**).

Egalement, les résultats signalent que le pourcentage de composés majoritaires et ses groupes fonctionnels augmentent avec l'augmentation de la concentration ce qui induit un effet fongique très important. Les résultats obtenus nous permettent d'avancer l'hypothèse que la présence des composés majoritaires exerce une efficacité sur la croissance mycélienne. L'hypothèse avancée, rejoint l'étude de **Pattnaik et al. (1997)**, l'activité antifongique d'une HE est à mettre en évidence avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpénique et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants.

Conclusion et perspective

Au terme de ce travail consacré essentiellement à la caractérisation et à l'évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles de Romarin issus de différents régies de nutrition organique, il nous a paru intéressant de relater les principaux résultats auxquels nous avons aboutis.

Les résultats d'analyse font ressortir une richesse en molécules au profit de l'huile essentielle de Romarin issus de l'irrigation à l'eau courante (14 molécules) et par rapport à l'huile essentielle de Romarin non irriguée (13 molécules), et par rapport à l'huile essentielle de Romarin issus de régie en compost (11 molécules) et à l'huile essentielle issus de régie en vermicompost (12 molécules).

Sur le plan phytochimique, les résultats montrent une composition en huile essentielle riche en fraction majoritaire notamment : caryophyllène (24,78%), Acetic acid, geraniol ester (12,26%), Germacrene D-4-ol (10,89%) pour la régie de vermicompost, Caryophyllène oxide (12,16%), α -cadinol (11,78%), Germacrene D-4-ol (9,75%), 5-Caranol, (1S,3R,5S,6R)-(-)- (9,54%), α -Muuroolène (7,68%), caryophyllène (7,64%) pour la régie en compost, Verbenone (16,73%), Germacrene D-4-ol (9,75%), caryophyllène (8,61%) pour la régie irrigation à l'eau courante et ζ -Terpinen (22,15%), Germacrene D-4-ol (9,14%), ζ -Himachalène (6,87%), caryophyllène (6,78%) pour régie non irriguée.

Les résultats obtenus nous montrent que les fortes concentrations des huiles essentielles (D1 à D3) ont un effet très significatif sur la croissance de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* mycélienne. L'activité antifongique des quatre huiles essentielles a été suivie par la méthode directe d'aromatogramme. L'huile essentielle de Romarin montre une bonne activité inhibitrice vis-à-vis le champignon utilisé. Cette activité varie d'une régie à une autre et diffère selon les concentrations.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il serait intéressant de : (i) De continuer ces travaux notamment sur d'autres champignons et d'autres bactéries, (ii) Comparer l'efficacité des huiles essentielles issu d'une même plante entre deux régions différents, (iii) Etudier d'autres propriétés biologiques de notre plante, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antibactérienne, antiparasitaires et insecticides, (iv) Cibler les molécules principales responsables de ces effets antimicrobiens.

Références bibliographiques

1. **AFNOR, 2000:** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles, p. 663.
2. **Aroun M.F., 2015.** Le complexe aphides et ennemis naturels en milieu cultivé et forestier en Algérie, thèse doctorat, Ecole Nat. Sup. Agro. El-Harrache, p.156.
3. **Anonyme, 2006.** Systèmes de production biologique, principes généraux et normes de gestion. Office des normes générales du Canada (ONGC), Gatineau, Canada. P.45.
4. **Arancon N.Q., 2004:** An Interview with Dr.Norman Arancon, Casting Call,Vol.9.N°2.
5. **Arnold et al., 1997,** Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr.from Algeria and *R.officinallis* L. from other countries. *J.essent.OilRes.* p.167-175.
6. **Atiyeh R.M Subler S.,Edwards C.A.,Bachman G.,Metzger J.D.et Shuster W.,2002:** Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil ,*pedo biologia* ,n°44 , p.579-590.*Biocycle.2001-Vermicompost as Insect Repellent*, p.19.
7. **Awono JPM, Boukong A, Mainam F, Yombo G, Tchoutang GN et Beyegue-D H, 2002.** Fertilisation des sols dans les monts Mandara à l'Extrême-Nord du Cameroun: du diagnostic aux recommandations. Colloque: Savanes africaines: des espaces en mutation, des acteurs face à de nouveaux défis. 27-31 mai 2002, Garoua, Cameroun: p.1-11.
8. **Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V-Agdal, Maroc, p.61.
9. **Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M.D., Biqiku, L., Bramucci, M., Caprioli, G., Lupidi, G.,Quassinti, L., Sagratini, G., Vitali, L.A., 2017.** *Rosmarinus eriocalyx*: an alternative to *Rosmarinus officinalis* a source of antioxidant compounds. *Food Chem.* 218, p.78–88.
10. **Boochird C & Flegel M.W.-In vitro antifungal activityof Eugenol and Vanillin against candida albicansand Cryptococcus neoformans.** *Can.J. Microbiol.*, 1982, 28 : p.1235-1241.
11. **BOUAMER A., BELLAGHIT M. et MOULAY O., 2005.** Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région de Ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla, p.41.
12. **Boullard H., 2010.** L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla.

13. **Boussaada O., et Chemli R., 2007.** Seasonal variation of essential oil composition of citrus Aurantium L. Var. amara. *Journal of essential oil Bearing plants*, 10(2), p.109-120.
14. **Brinton, W.F., Tränkner, A. et Droffner, M. 1996.** Investigations into liquid compost extracts. *BioCycle*, p. 68-70.
15. **Buochberg M.S. 1976,** Allegrini S., Bessiere C., Attisso M., Passet J. & Granger R. –Propriétés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotypes de *Thymus vulgaris* linnaeus. *Rivista. Italiana. E.P.P.O.S.* p.527-536.
16. **Caillet S., 2007.** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobienne et leurs application potentiels en alimentaire. Laboratoire de recherche en science appliqué a l'alimentation (RESALA) INRS-institut Armand-Frappier, université de Laval (Québec).
17. **Cavero S., Jaime L., Martin-Álvarez P.J., Señoráns F.J., Reglero G.Ibañez E., 2005.** In vitro antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from Rosmary.
18. **Chaker El Kalamounni, 2010.** Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 13 Décembre, p.22-38.
19. **Cox S.D. 2000,** Mann CM., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R & Wyllie S.G.- The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* p.170-175.
20. Déclaration **d'Alma-Ata** a été établie à l' issue de la Conférence internationale sur les soins de santé primaires, (**Alma-Ata, du 6 au 12 septembre 1978**).
21. **Del Baño M.J., Lorente J., Castillon J., Benavente-Gracia O., Marin M .P., Del Rio J.O., Ortuño A., Ibarra., 2004.** Flavonoid distribution during the developpement of leaves, flowers, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway *journal of Agricultural and Food Chemistry* ,n.16,vol.52, P.4987-4992.
22. **Delarras C., 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier (Editeur), p.476.
23. **Derwich, E., Benziane, Z., Chabir, R., 2011.** Aromatic and medicinal plants of Morocco: chemical composition of essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Juniperus phoenicea*. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* 2 (1), p.145–153.
24. **Devet P., Rouxel F. ,1997-** Détection et isolement des champignons du sol, Paris. cedex07, p.147.
25. **Diver, S. 2002.** Notes on compost teas: A Supplement to the ATTRA Publication. Compost teas for plant disease control. Pest management Technical note. National center for appropriate technology (NCAT) a publication of ATTRA - National sustainable agriculture information service. Disponible à: <http://www.attra.ncat.org/attra-pub/PDF/compost-tea-notes.pdf> (Page consultée le 25 juin 2009).

26. **Duval J. 1991.** La culture biologique du soya. Site du Ecological agriculture project (EAP) <http://eap.mcgill.ca/AgroBio/ab340-01.htm>_(Page consultée le 13 octobre 2008).
27. **Edwards C.A. et Lofty J.R., 1999.** Biology of earthworms. Chapman and Hall, London, p. 283.
28. **Edwards C.A., Dominguez J. et Arancon Q., 2004** – The influence of vermicomposts on plant growth and pest incidence. In Shakir S. H. and Mikhail W.Z.A. (eds.), Soil zoology for sustainable development in the 21st century. Self-Publisher, Cairo, Egypt. p. 397-420.
29. **El Omri A., Han J., Yamada P., Kawada K., Abdrabb Stefanovits-Bányai É., Tulok M.H., Hegedűs A., Renner C. et Varga I.S. (2003).** Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clones. *Acta Biologica Szegediensis*, p.111-113.
30. **El Omri A., Han J., Yamada P., Kawada K., Abdrabbah M.B., Isoda H., 2010.** *Rosmarinus officinalis* polyphenols activate cholinergic activities in PC12 cells through phosphorylation of ERK1/2. *J. Ethnopharmacol.* 131, p.451–458.
31. **Estevez B., 2006.** L'importance des éléments mineurs : des carences à la toxicité, une préoccupation en agriculture biologique? Publication rendue possible grâce au soutien du ministère de l'agriculture des pêcheries et de l'alimentation du Québec (MAPAQ) pour le Syndicat des producteurs de grains biologiques du Québec (SPGBQ). Disponible à : http://www.fabqbio.ca/meganet/media/docs/pdf/grains_elements_mineurs.pdf (Page consultée le 25 juin 2009).
32. **Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Scheffer, J.J.C., 2008.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance J.* 23, p. 213–226.
33. **Fouché J.G., A. Marquet, A. Hambuckers.,2008.** Les plantes médicinales de la plante au médicament conception et réalisation.
34. **Franchomme P.-L'aromatologie à visée anti-infectueuse. Phytomedicine. 1981, 1, p.25-47.**
35. **Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E., 2002.** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J. Food Protect.* 65, p.1545–1560.
36. **Gakuru S. et Foua-BI K., 1995.** Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus oryzae* L.). *Tropicultura* vol.13, N° 4, p.143-146.
37. **Gakuru S. et Foua-BI K., 1996.** Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* Fab. et le charançon du riz *Sitophilus oryzae* L. *Cahiers Agriculture*; vol. 5. T 1, p.39-42.
38. **Gliho I.A., Ketoh KG. et Koumaglo H.K., 1997.** Effets de quelques huiles essentielles sur l'activité reproductrice de *Callosobruchus maculatus* Fab. *Annales de l'Université de Ouagadougou Série B*, Vol. N° 5, p.174-185.

39. **Guinoisseau E., 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de Doctorat, Université de Corse, p.114.
40. **Gurusaravanan P., Pandiyarajan V. et Jayabalan N., 2010.** Effect of the seaweed liquid on growth and productivity of *Vigna radiata* L. *Wiliczek. Green Farming* 1(2), p.138–140.
41. **Harkenthal M., Reichling J., Geiss H.K. et Saller R.,** Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput, oil, niaouli oil, manuka oil, Kanuka oil, and eucalyptus oil. *Pharmazie.* 1999, 54(6), p.460-463.
42. **Harrar A.E.N., 2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie. p.73.
43. **Heinrich et al., 2006.** Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.
44. **Hostettman K., 1997.** Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse.
45. **[https://www.google.com/maps/place:université saad dahleb blidaouled yaich.com](https://www.google.com/maps/place:université+saad+dahleb+blidaouled+yaich.com)**
46. **Schauenberg O. and Paris F., 1977.** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
47. **Huerta-Cepas J., Marcet-Houben M., Pignatelli M., Moya A. et Gabaldon T., 2010.** The *pea aphid* phylome: a complete catalogue of evolutionary histories and arthropod orthology and paralogy relationships for *Acyrtosiphon pisum* genes. *J. Insect Molecular Biology.* Vol 19, 2, p.13- 21.
48. **Ibañez E., Cifuentes A., Crego A.L., Señoráns F.J., Caverro S., Reglero G., 2000.** Combined use of supercritical fluid extraction : Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol.48, n.9, p.4060-4065.
49. **Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F.J., Caverro S., Reglero G., Hawthorne S.B., 2003.** Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Rosemary plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol.51, n.2, p.375-382.
50. **Inckel, Smet, Tersmette et Veldkamp, 2005.** La fabrication et l'utilisation du compost. P.73.
51. **Iserin P., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. P. 143-225-226.
52. **Isman M.B., 2005.** Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.,* N° 51, p. 45-66.
53. **Jamshidi R., Afzali Z. et Afzali D., 2009.** Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other countries. *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 5(1), p.78–81.

54. **Kalembe D., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr.Med. Chem.* 10, p. 813-829.
55. **Kandil O., Radwan N.M., Hassan A.B., Amer A.M., el-Banna H.A. et Amer W.M, 1994.** Extracts and fractions of *Thymus Capitatus* exhibit antimicrobial activities. *J Ethnopharmacol.*,44(1), p.19-24.
56. **Karagoz, Jemis et Coskum, 2010.** Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oil on fresh growd beef patties. *Meat science*,86, p.283-286.
57. **Kucukbay F., Yildiz B., kuyumcu E. et Gunal s., 2011.** **Chemical composition and Antimicrobial Activities of the Essential oils of *Teucrium orientale* var. *puberulens*.** *Chemistry of natural Compounds*, 47(5), p.833-836.
58. **Lansing J.S.,cox M.P.,Downey S.S.,Janssen M.A et Schoenfelder J.M.,2003.** A robust budding model of baliness waler temple networks .*World Archaeology*,41 (1), p.112-13.
59. **Lepoivre P., 2003,** *phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des strategies de lutte.*Ed.de Boeck surérieur. P.432.
60. **Lim S. L., Wu T. Y., Lim P. N., and Shak K. P. Y., 2015.** The use of vermicompost in organic farming: Overview, effects on soil and economics. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95 (6), p.1143–56.
61. **Lim S. L., Lee L. H., and Wu T. Y., 2016.** Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: Recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. *Journal of Cleaner Production* 111, p.262–78.
62. **Loucif, Z. et Bonafonte, P., 1977.** Observation des populations du pou de Saint-José dans la Mitidja. *Revue Fruits* 4, p.253-261.
63. **Lucchesi M. E. et Chemat.F., 2004.** *Flavour And Fragrance Journal* *Flavour Fragr. J.*; 19, p.134–138.
64. **Lucchesi M. E., 2005.** *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles :* p.17- 23-52.
65. **Meyer et Warnod J., 1984.** Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, *Perfumer & Flavorist*, 9, p. 93-103.
66. **Misra R.V., Roy R.N.,Hiraoka H. et Bauangkok, 2005.** *Methodes de compostage au niveau de l'exploitation agricole ;Document de travail sur les terres les eaux .volum2. organisation des nations unies pour l'alimentation et agriculture.* Rome.
67. **Mohammedi Z., 2006.** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoide de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen, p.105.
68. **Moretti A.N., 2009.** Taxonomy of fusarium genus, Acontinuous fight between lumpurs and splitters. *Zbornik Matice srpske Za prirodne nauke/ proc. Nat. Sci., Matica srpska Novi Sad.* 117(2), p.7-13.

69. **Mostefai A., 2012.** Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen, [Mémoire Master 2], Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
70. **Navarrete A., Herrero M., Martín A., Cocero M. et Ibáñez E., 2011.** Valorization of solid wastes from essential oil industry. *J. Food Eng.* 104, p.196–201.
71. **NORMES AFNOR RECUEIL DES NORMES FRANCAISESE, 1992.** Huiles essentielles. AFNOR, Paris.
72. **NUTO Y., 1995.** Synergistic action of co-occurring toxins in the root bark of *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae) against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Thesis of Ph.D.S.U.N.Y. Syracuse, New York, p.107.
73. **Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K. et Yaghi A., 1994.** Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*. Vol.37, n.5, P.1463-1466.
74. **Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y. et Belbbas M. A., 2005.** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, phytothérapie, p.147-157.
75. **Oussalah M., Caillet S. et Lacroix M., 2007.** Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* 157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 96(5), p.1046-1055.
76. **Pajot E., 2010.** "Phytogard and DL-(Beta)-Amino Butyric Acid (BABA) Induce Resistance to Downy Mildew (*Bremia lactucae*) in Lettuce (*Lactuca sativa* L)." *European Journal of Plant Pathology* 107.9, p.861-869.
77. **Pattnaik S., and Bajpai V.K., 1997.** Antibacterial and antifungal activities of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*.89, p.39-46.
78. **Porte A., Godoy R., Lopes D., Koketsu M., Torquillo S.L. et Torquillo H., 2000.** Essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil. *J. Essent. Oil Res.*12, p.577–580.
79. **Quezel P. et Santa S., 1963.** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris. P.360-361.
80. **Rahbardar M.G., Amin B., Mehri S., Mirnajafi-Zadeh S.J. et Hosseinzadeh, H., 2017.** Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. *Biomed. Pharmacother.* 86, p.441–449.
81. **Raiciu A.D., Mihele D.E., Ionita C., Nistorica V. et Manea S., 2010.** Antimicrobial activity of *Ribes nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Betula pubescens*, *Salix alba*, *Vaccinium myrtillus* gemoderivatives. *Farmacia* 58, p.735–748.
82. **Ramirez P., Señoráns F.J., Ibáñez E. et Reglero G., 2004.** Separation of Rosmary antioxidants compounds by supercritical fluid chromatography on coated packed capillary columns. *Journal of Chromatography*. n.1057, p.241-245.

83. **Raul L. et Ochoa H., 2005.** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » D'origine végétale. Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse.
84. **Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F. et Sangwan R.S., 2001.** Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*. 34, p. 21-29.
85. **Santos Oliveira J. F., Passos de Carvalho J., Bruno de Sousa R. F. X. et Madalena Simão M., 1976.** The nutritional value of four species of insects consumed in Angola. *Ecology of food and nutrition*. vol.5-issue 2, p.91-97.
86. **Scheuerell S. et Mahaffee W. 2002.** Compost tea: principles and prospects for plant disease control. *Compost Sci. Util.* 10, p.313-338.
87. **Singh M. et Guleria N., 2013.** Influence of harvesting stage and inorganic and organic fertilizers on yield and oil composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in a semi-arid tropical climate. *Ind. Crops Prod.* 42, p. 37–40.
88. **Teixeira-Duarte M.C., Marafigueirag And Sartoratto A., 2005.** Anti condida activity of Brazilian medecinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, p.311.
89. **Telci I., Toncer O.G. et Sahbaz N., 2006.** Yield, essential oil content and composition of *Coriandrum sativum* cultivars (var. vulgare Alef. and var. microcarpum DC.) grown in two different locations. *J. Essent. Oil Res.* 18, p.189–193.
90. **Teuscher E., Anton R. et Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, éditions Tec et Doc, Paris.
91. **Tierto-Niber B., Hellenius J. et Varis A.L., 1992.** Toxicity of plant ex tracts tothree storage beetles (Coleoptera). *J. Appl. Ent.* N° 113, p.202-208.
92. **Tigrine-Kordjani N., Chemat F., Meklati B., Tuduri L., Giraudel J. et Montury M., 2007.** Relative characterization of rosemary samples according to their 390 G. Li et al. / *Industrial Crops and Products* 84 (2016) 381–390 geographical origins using microwave-accelerated distillation, solid-phase microextraction and Kohonen self-organizing maps. *Anal. Bioanal. Chem.* P.389,631–641.
93. **Visvanathan et al., 2005.** Vermicomposting as an Eco-tool in Sustainable Solid Waste Management, Asian Institute of Technology, Anna University, India.
94. **Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J. et Perez-Alvarez J.A., 2007.** Chemical composition of the essential oils obtained from some spices widely used in Mediterranean region. *Acta Chim. Slovenica* 54, p. 921–926.
95. **Wu T. Y., Lim S. L., Lim P. N. and Shak K. P. Y., 2014.** Biotransformation of biodegradable solid wastes into organic fertilizers using composting or/and vermicomposting. *Chemical Engineering Transactions* 39, p.1579–84.
96. **Yang R.Y., Lin S. et Kuo G., 2008.** Content and distribution of flavonoids among 91 edibles plant species. *Asia of pacific journal of clinical nutrition* n.17, P.275-279.

97. **Zaouali Y., Bouzaine T. et Boussaid M., 2010.** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis*L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48, p.3144-3152.
98. **Zaouali Y., Chograni H., Trimech R. et Boussaid M., 2012.** Genetic diversity and population structure among *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) varieties: var. *typicus* Batt. and var. *troglydytorum* Maire. based on multiple traits. *Ind. Crops Prod.* 38, p.166–176.
99. **Zhang W., Dick W.A., Davis K.R., Hoitink J., Duffy B., Rosenberger U. and Défago. G., 1997.** Systemic acquired resistance induced by compost and compost water extract in *Arabidopsis*. *Molecular approaches in biological control*. Delémont, Switzerland 21, p.129-132.

Annexe 01 : appareil utilisé pour le séchage (l'étuve)



Annexe 02 : les huiles essentielles de Romarin issus de différents régions



Annexe 03 : les déluions préparés des huiles essentielles de Romarin



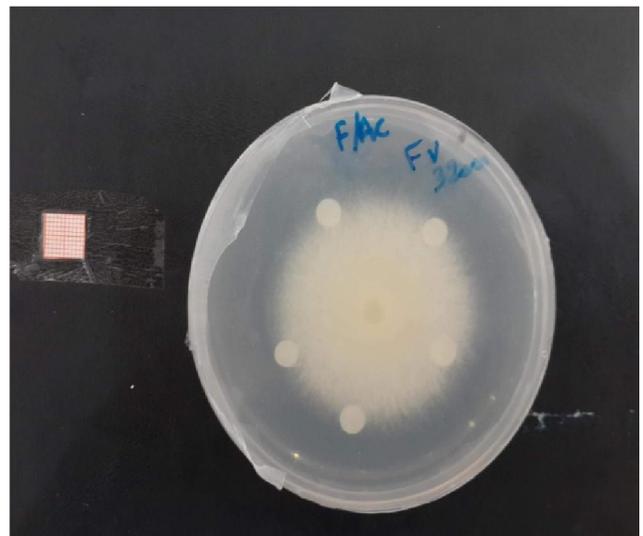
Annexe 04 : la réalisation de l'activité antifongique « photos de manipulation »



Annexe 05 : l'incubation de champignon dans l'étuve



Annexe 06 : la croissance mycélien de *Fusarium* traité par l'huile essentielle issu de la régie de compost et de vermicompost



Annexe 07 : la croissance mycélien de *Fusarium* traité par l'huile essentielle de la régie non irrigué et irrigué à l'eau courante

