

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Mémoire en vue de l'obtention de Master :

Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème :

Evaluation de l'activité fongicide des extraits d'*Origanum glandulosum* L. vis à vis de *Fusarium* spp. de l'orge

Présenté par : **CHABANE Aicha**

Soutenu le: 9 / 07/2020

Devant le jury composé de :

Mme Amad F.	M.C.A	USDB1	Président
Mme Faidi H.	M.A.A	USDB1	Examinatrice
Mme Moumene S.	M.C.A	USDB 1	Promotrice

Année universitaire: 2019/2020

Remerciement :

*Tout d'abord je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la foi,
et qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail,
et de m'avoir permis d'en arriver là.*

*Je remercie ma promotrice madame moumen .S, pour son aide, sa
disponibilité ; patience, ces conseils, et ces encouragements tout au long de
ce travail.*

*Je tiens également à exprimer mon sincère remerciement à la présidente
de jury Mme Amad*

F, maitre assistante à l'Université SAAD DAHLEB de Blida.

Je remercie également à Mme Faïdi.

*H, maitre assistante à l'Université SAAD DAHLEB de Blida d'avoir
accepté d'examiner ce travail.*

*Je remercie à tous les membres du laboratoire de recherche des plantes
Aromatiques et Médicinales de l'université de Blida 1.*

*Enfin je remercie, toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin,
afin que ce travail puisse terminer.*

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon dieu Allah.

A la mémoire de mes grands-parents.

A ma mère pour tous ces sacrifices.

A mon père pour tous ces encouragements

A ma promotrice Mme moumen

A mes frères et sœurs

A toutes mes amies

Surtout hadjer

A mon mari Fodil Ahmed Sif eddine

Résumé :

Evaluation de l'activité fongicide des extraits d'*Origanum glandulosum* L. vis à vis de *Fusarium* spp. de l'orge fourrager

Notre travail vise l'évaluation du pouvoir antifongique des extraits de plants d'*Origanum glandulosum*, récoltés en période de floraison dans région de Beni Kinaa, wilaya de Blida et testés sur trois souches de *Fusarium* spp. Prélevés d'un échantillon d'orge cultivé en hydroponie et altéré par les moisissures.

Les extraits sont représentés par l'émulsion d'huile essentielle à 1%, les extraits éthanoliques (I,II,III) obtenus par méthode d'épuisement des extraits éthanoliques, l'hydrolat pur et celui dilué à 5% ,et l'extrait aqueux pur préparé par décoction et celui dilué à 5% .

Les rendements en huile essentielle et en extraits éthanoliques sont évalués respectivement à 1,43% et 6,30% alors que, les teneurs sont estimées à 580,91mg EAG /g MS pour les polyphéols et de 29,03mg EC /g MS pour les flavonoïdes.

Il en ressort de l'étude antifongique des extraits de la plante étudiée vis-à-vis des isolats de *Fusarium* spp. un important potentiel inhibiteur de l'huile essentielle à 1% et, des extraits éthanoliques I et II sur la croissance mycélienne (81% et 100%), la sporulation (88 et 100%) ainsi que sur la germination. Les composants chimiques de ces extraits sont responsables de la lyse, et la digestion du contenu cellulaire des isolats fongiques étudiés, ce qui explique la potentialité de réduction de leur inoculum particulièrement l'huile essentielle. En revanche la reprise de la croissance mycélienne des trois isolats fongiques étudiés préalablement inhibés par les extraits précités explique leur survie après repiquage sur milieu PDA frais. Malgré la confirmation du potentiel fongistatique, ces extraits restent toujours intéressants comme solutions biologiques vis-à-vis de ces moisissures car, la culture hydroponique de l'orge fourragère a une durée de sept jours, alors que la survie n'a été notée qu'après trois semaines d'incubation.

Mots clés: *Fusarium* spp. , Huile essentielle, Inhibition, *Origanum glandulosum*, les extraits éthanoliques

Abstract:

Evaluation of the fungicidal activity of *Origanum glandulosum* L. extracts with respect to *Fusarium* spp. of forage barley.

Our study aims to assess the antifungal power of extracts prepared from *Origanum glandulosum* plants, harvested during the flowering period in the Beni Kinaa region, wilaya of Blida and tested on three isolates of *Fusarium* spp. taken from the fungal spoilage of barley grown hydroponically.

The extracts are represented by an essential oil emulsion of 1%, the ethanolic extracts (I, II, III) obtained by exhaustion method ethanolic extracts, Pure hydrosol and one diluted to 5%, and pure aqueous extract prepared by decoction and that diluted to 5%.

The essential oil yields and ethanolic extracts are estimated at 1.43% and 6.30% respectively, while the contents are estimated at 580,91mg EAG / g DM in polyphenols and 29,03mg EQ / g DM in flavonoids.

It appears from the study on the antifungal power of plant extracts against the three isolates of *Fusarium* spp., a significant inhibitory potential of essential oil at 1% and the ethanolic extracts I and II (81% et 100%) on mycelial growth, on sporulation (88 et 100%) and on germination. The chemical components of these extracts are responsible for the lysis and digestion of the cell content of the fungal studied isolates studied, which explains the potential for reducing their inoculum, particularly the essential oil. However the resumption of mycelial growth of three studied fungal isolates previously inhibited by the above plant extracts explains their survival after transplant on fresh PDA medium. Despite the confirmation of the fungistatic potential, these extracts are still interesting as biological solutions against these molds because the hydroponic culture of feed barley lasted seven days, while survival was only noted after three weeks of incubation.

Keywords: *Fusarium* spp., Essential oil, Inhibition, *Origanum glandulosum*, Ethanolic extracts

الملخص:

Fusarium spp فيما يتعلق بالفطر الشعير *Origanum glandulosum L* تقييم نشاط مبيدات الفطريات لمستخلص

Origanum glandulosum تهدف دراستنا إلى التقييم لقوة المضادات للفطريات من المستخلصات المحضرة من نبتة *Fusarium spp* التي تم قطفها خلال فترة الإزهار في منطقة بني قينع ولاية البليدة واختبارها على ثلاث عزلات من مأخوذة من التلف الفطري للشعير المزروع في الزراعة المائية .

يتم تمثيل المستخلصات بمستحلب الزيت العطري بنسبة 1% و المستخلصات الايثانولية (I، II، III) التي تم الحصول عليها عن طريق استنفاد المستخلصات الايثانولية، المستخلص المائي المركز و المخفف الى 5% و المستخلص المائي المركز المحضر بواسطة النقع و الذي تم تخفيفها الى 5%.

تقدر محاصيل الزيوت العطرية و مستخلصات الايثانوليك بنسبة 1.43% و 6.30% على التوالي بينما تقدر المحتويات S.M في مركبات البولي فينول و الفلافونويد ب 580.91 مغ/EAG و 29.03 مغ/EC

يبرز من الدراسة المضادة للفطريات لمستخلصات النبتة المدروسة ضد عزلات *Fusarium spp* قوة مثبطة مهمة بالنسبة للزيت العطري 1% و مستخلصات الايثانوليك الأولى والثانية (I، II) على النمو الفطري (81% و 100%) و التبوغ (88 و 100%) وكذلك بالنسبة للإنبات .

المكونات الكيميائية لهذه المستخلصات مسؤولة عن تحلل و هضم محتويات الخلية في العزلات الفطرية المدروسة و هو ما يفسر إمكانية تقليل اللقاح و خاصة الزيت العطري.

ومع ذلك، فان استنفاف النمو الفطري لثلاث عزلات فطرية مدروسة تم تثبيتها سابقا بواسطة المستخلصات النباتية

الطازج، على الرغم من تأكيد الإمكانات الفطرية لاتزال هذه PDA المذكورة أعلاه يفسر بقائها بعد زرعها على وسط

المستخلصات مثيرة للاهتمام كمحلول بيولوجية ضد هذه القوالب لان الزراعة المائية لشعير الأعلاف استمرت سبعة أيام في حين لوحظ البقاء فقط بعد ثلاث أسابيع من الحضانة.

الكلمات الدالة:

زيت اساسي، تثبيط، مستخلصات الايثانوليك، *Fusarium spp*، *Origanum glandulosum*

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

sp	Espèce
spp	Espèces
HE1%	Huile essentielle
HP	hydrolat pure
H5%	hydrolat à 5%
EAP	extrait aqueux pure
EA5%	extrait aqueux à 5%

Liste des figures

Liste des Figures :

Figure1 : Morphologie générale de la plante feuillue, des inflorescences et pièces florales d'*Origanum vulgare* (<http://www.branche-rouge.org/>)

Figure2 : Quelques principaux flavonoïdes présents chez le genre *Origanum* (Skerget et al., 2005).

Figure3 : structure des proanthocyanidines (Derbel et Ghedira, 2005).

Figure4 : Morphologie des conidies de diverses espèces de *Fusarium* spp. (Nelson et al., 1992)

Figure5 : Cultures d'isolats de *Fusarium* spp. âgées de 7 jours et, développées sur milieu PDA à 25°C ((Moumene et al., 2017; Moumene et al., 2018).

Figure6 : Morphologie des plantes d'*Origanum glandulosum* Desf. développées dans la région montagneuse de Béni Kinaa, wilaya de Blida (original, 2019)

Figure7 : Variabilité culturale des trois isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum* étudiés selon la technique de contact direct

Figure8 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. étudiés sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum*

Figure9 : Inhibition de la sporulation des trois isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet des extraits de la plante étudiée (G : X 125).

Figure 10 : Inhibition de la sporulation des trois isolats de *Fusarium* spp. selon les extraits de la plante étudiée

Figure 11 : Modifications morphologiques des isolats de *Fusarium* spp. étudiés sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum* (Gr × 500)

Figure12 : Survie des isolats de *Fusarium* spp. préalablement inhibés par l'effet de l'huile essentielle et des extraits éthanoliques I et II extraits d'*Origanum glandulosum*

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau1 :Principaux acides phénoliques présents chez *Origanum glandulosum*

(Spiridon et *al.*, 2011).

Tableau2 :Classement des extraits d'*Origanum glandulosum* dans l'ordre croissant selon les taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Tableau3 :Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F3

Tableau4 :Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F4

Tableau5 : Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F5

Tableau6 : Taux de germination des spores sous l'effet de l'huile essentielle et les extraits éthanoliques (I, II)

Sommaire

Sommaire

Introduction :	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I.1. Les métabolites secondaires	12
I.1.1. Généralités	Erreur ! Signet non défini.
I.1.2. Huiles essentielles	12
I.1.3. Les polyphénols	5
I.2. Activité antifongique des extraits de plantes en agriculture	11
I.2.1. Introduction	11
I.2.2. Méthodes d'étude de l'activité antifongique des extraits végétaux	11
I.3. Généralités sur l'origan	12
I.3.1. Histoire et étymologie	12
I.3.2. Description botanique	12
I.3.3. Systématique	14
I.3.4. Ecologie	14
I.3.5. Composition chimique	14
I.3.6. Domaines d'application	17
I.4. Généralités sur <i>Fusarium</i> spp	18
I.4.1. Classification	18
I.4.2. Morphologie	18
I.4.3. Biologie	19
I.4.4. Les mycotoxines	20
I.4.5. Conditions de développement	20
I.4.6. Méthode de lutte contre la fusariose	21
I.4.7. Utilisation des extraits de plantes dans le bio contrôle et la conservation	22
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES	35
II.1. Introduction	35
II.2. Matériel biologique	35
II.2.1. Matériel fongique	35
II.2.2. Matériel végétal	35

Sommaire

II.3. Méthodes d'études	36
II.3.1. Préparation des extraits	36
II.4. Etude de l'activité antifongique <i>in vitro</i> des extraits de la plante étudiée	39
II.4.1. Préparation des boîtes de Pétri à base d'extraits de plante préparée	39
II.4.2. Inoculation des boîtes préparées	40
II.4.3. Paramètres d'études	40
II.5. Analyse statistique	42
III. RESULTATS ET DISCUSSION	43
III.1. Rendement et dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et huile essentielle	43
III.1.1. Rendement et teneur en composés phénoliques	43
III.1.2. Teneur en flavonoïdes	43
III.1.3. Rendement en huile essentielle	43
III.2. Evaluation de l'activité antifongique <i>in vitro</i> des extraits d' <i>Origanum glandulosum</i> ...	46
III.2.1. Inhibition de la croissance mycélienne	46
III.2.2. Inhibition de la sporulation	50
III.2.3. Inhibition de la germination	56
III.3. Modifications structurales induites par les extraits d' <i>Origanum glandulosum</i> sur la morphologie des isolats de <i>Fusarium</i> spp.	57
III.4. La survie	58
III.5. Discussion	59
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	63
Références bibliographiques	67
<i>Annexes</i>	79

Introduction

Introduction :

La culture des céréales est antérieure à tout manuscrit sur l'histoire de l'Homme .Les graines, issues des plantes de leur cultures telles que le froment, le riz, l'avoine et l'orge, constituent l'un des aliments de base de l'humanité depuis des milliers d'années(EUFIC,2009).

En Algérie la culture de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) occupe une place importante parmi les autres céréales comme le blé (dure et tendre). Elle est destinée à l'autoconsommation humaine et à l'alimentation animale (Rahal Bouziane, 2015).

Cependant, elle peut être sujette à de nombreuses maladies engendrant d'importantes pertes de récoltes et de graves dégâts sur la culture. Environ 70%des maladies des plantes cultivées sont causées par des champignons (Graniti, 1992).

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des plus importantes contraintes pour la production de l'orge. Parmi celles- ci, on retrouve particulièrement, la fusariose, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains.

Aussi, l'homme pour protéger sa production agricole s'appuie sur l'utilisation des produits chimiques (tels que les fongicides) qui restent le seul moyen efficace à ce jour mais leur utilisation massive et répétée a induit la résistance et a augmenté l'agressivité des agents pathogènes, d'où la recherche d'autres méthodes de lutte alternatives plus respectueuses de l'environnement et de la santé humaine et animale.

Dans ce sens, notre présente étude a été basée sur la recherche des moyens de lutte biologique contre les espèces de *Fusarium* inféodées à la culture hydroponique de l'orge et, s'est orientée vers la valorisation d'*Origanum glandulosum*. Elle vise l'évaluation des potentialités fongicides de ses extraits, vis-à-vis de trois isolats de *Fusarium* spp. de l'orge fourager «*Hordeumvulgare* L.» cultivé en hydroponie.

Synthèse
Bibliographique

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les métabolites secondaires

I.1.1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisés et accumulés en petites quantités par les plantes autotrophes. Ils sont distingués principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007) :

Les substances phénoliques ou Composés aromatiques tels que, les flavonoïdes, les tanins, la lignine et, les coumarines.

Les terpènes représentent, la plus grande catégorie de métabolites secondaires avec plus de 22000 molécules. Cette catégorie contient les hormones végétales, les pigments, les stérols, les hétérosides et une grande partie d'huiles essentielles.

Les alcaloïdes, par exemple la morphine, la caféine, la nicotine, la cocaïne et l'atropine.

Notre travail portera sur l'utilisation de l'huile essentielle et des Composés polyphénoliques dans l'activité antifongique.

I.1.2. Huiles essentielles

I.1.2.1. Définition

Les huiles essentielles sont définies comme étant des liquides concentrés, très complexes et hydrophobes. Ce sont des extraits volatils et odorants qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques (fleur, feuille, bois, racine, écorce ou fruit). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie: l'aromathérapie (Möller, 2008).

L'association Française de Normalisation (AFNOR, 2000) définit les huiles essentielles comme étant « des produits obtenus à partir de matières naturelles végétales soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.». A ce jour, 3000 huiles essentielles sont connues, seulement 300 d'entre elles sont commercialisées (Burt, 2004).

I.1.2.2. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs, en particulier les sommités fleuries (lavande, menthe, bergamotier, tubéreuse) mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), dans les écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal, camphrier), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruits (tout-épices, anis, badiane), les graines (muscade) et les boutons floraux (clou de girofle) (Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981).

Leur synthèse et leur accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Bruneton, 1999 ; Baser et Buchbauer, 2010) :

- Cellules à huiles essentielles, regroupant les cellules épidermiques et celles situées au niveau du parenchyme cortical, du liber et du bois. Structures spécifiques des Lauracées ou des Zingibéracées ;
- Organes sécréteurs, regroupant : les poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées ; les canaux sécréteurs des Apiécées ou des Astéracées et les poils sécréteurs des Lamiacées (Ghestem et *al.*, 2001 ; Baser et Buschbauer, 2010).

I.1.2.3. Composition chimique

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes (Buchanan et *al.*, 2000). Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou de cette même technique mais, couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM). Cette technique est la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile (Salzer, 1977). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (Tomi et *al.*, 1995 ; Platzer, 2002).

I.1.2.4. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une

unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale $(C_5H_8)_n$ reconnue par Wallach dès 1887 (Lamarti et al., 1994).

Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (Lamarti et al., 1994). Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène (Baser et Buchbauer, 2010).

Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone: les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15), et moins fréquemment les diterpènes (C 20), les triterpènes (C 30) et les tétraterpènes (C 40). Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999) et leurs confèrent un caractère volatil et des propriétés olfactives (Pibiri, 2006).

I.1.2.5. Variabilité de la composition

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions telles que l'environnement, le génotype et l'origine géographique la période de récolte, le séchage, lieu de séchage et le choix de la méthode d'extraction (Burt, 2004 ; Bozin et al., 2006 ; Möller, 2008).

En effet une même espèce végétale aromatique, synthétise une huile essentielle biochimiquement différente en fonction de son biotope. Ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes et, son composant chimique le plus dominant est appelé : composé majoritaire et c'est lui qui définit le chémotype de cette huile (Cosentino et al., 1999).

I.1.2.6. Procédés d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais, deux seulement sont admis par la pharmacopée française ainsi que par l'AFNOR :

L'extraction par entraînement à la vapeur (distillation) et celle, par expression (pressage).

I.1.2.6.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau.

Son principe repose sur la propriété des huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

Synthèse Bibliographique

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe. La différence entre elles, réside dans le degré de contact entre l'eau et le matériel végétal.

I.1.2.6.2. Extraction par hydrodistillation

C'est la méthode d'extraction des huiles essentielles la plus utilisée. La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité.

Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées.

I.1.2.7. Pouvoir antifongique

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires ainsi que dans le traitement des infections fongiques touchant l'homme (Sokmen et *al.*, 1999 ; Serrano et *al.*, 2008 ; Kotan et *al.*, 2010).

Elle est liée à la composition chimique des huiles essentielles. Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antifongique le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol) et des aldéhydes (néral, gèranial). En général, l'activité décroît selon le type de fonction chimique, on distingue d'après Benjilali et *al.*(1986): phénol > alcool > aldéhyde > cétone > ester > hydrocarbure.

I.1.3. Les polyphénols

I.1.3.1. Définition

Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques spécifique du règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux (Bravo, 1998). Le terme phénolique est utilisé pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte, à l'heure actuelle, pas loin de 8000 composés (Bravo, 1998 ; Mompon et *al.*, 1998). La structure des composés phénoliques

naturels varie depuis les molécules simples comme les acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisées comme les tanins condensés (Macheix et *al.*, 2005).

I.1.3.2. Localisation dans la plante

Les polyphénols sont majoritairement présents dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles et les écorces de bois de tous les végétaux (Boizot et Charpentier, 2006). Les principales sources alimentaires sont les fruits et les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café, jus de fruits), les céréales, les graines oléagineuses et les légumes secs. Les fruits et les légumes contribuent environ à la moitié de notre apport en polyphénols. Les boissons telles que jus de fruits et surtout café, thé ou vin apportent le reste (Middleton et *al.*, 2000).

I.1.3.3. Principales classes des polyphénols

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes dont la plupart ont des représentants chez de nombreux végétaux. Les premiers critères de distinction entre ces classes concernent le nombre d'atomes de carbone constitutifs et la structure de base du squelette carbone (Macheix, 1996).

I.1.3.3.1. Les acides phénoliques

On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique. Les acides hydroxybenzoïques (acides phénoliques en C6-C1) sont à la base de structures complexes comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues, et les fruits rouges comme les fraises, les framboises ou encore les mûres (Manach et *al.*, 2004). Les acides hydroxycinnamiques (acides phénols en C6-C3) sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement composés d'acide p-coumarique, acide caféique, acide férulique et acide sinapique. L'acide caféique se combine avec l'acide quinine pour former l'acide chlorogénique, que l'on retrouve dans de très nombreux fruits et à forte concentration dans le café (El Gharras, 2009).

I.1.3.3.2. Les coumarines

Les coumarines qui sont aussi des dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus des benzopyrones (O'Kennedy et Thornes, 1997) et toutes sont substituées en C7 par un hydroxyle. Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l'acide p-coumarique. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien

combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

I.1.3.3.3. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6. Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, le soja et les arachides (Crozier et *al.*, 2006). Le plus connu d'entre eux est le resvératrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (El Gharras, 2009).

I.1.3.3.4. Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons tels le thé et le vin rouge (Tsimogiannis et Oreopoulou, 2006). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes peuvent se trouver sous forme d'hétérosides (C- ou Oglycosides) (Ghestem et *al.*, 2001; Bruneton, 1999) et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose ou l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères. Mais de façon générale les flavonoïdes se trouvent à l'état libre et ils sont dits aglycones (Dacosta, 2003). Les flavonoïdes peuvent être eux-mêmes divisés en plusieurs sous-classes, en fonction du type de l'hétérocycle impliqué, dont les plus importantes sont: flavonols (kaempferol, quercétine: l'oignon, les brocolis, les poireaux et les myrtilles), flavones (lutéoline, apigénineglycosylés : le persil et le céleri), flavanes, flavanols (catéchine : pomme, thé), flavanones (naringénine, hespéridine, ériodictyol : pamplemousse, Orange, citron) et auronnes (Manach et *al.*, 2004 ; Leonard et *al.*, 2008).

I.1.3.3.5. Les lignanes

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane (C6-C3). Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins (El Gharras, 2009).

I.1.3.3.6. Les tanins

Cette classe désigne le nom du groupe des substances phénoliques polymériques. Ils sont caractérisés par une saveur astringente. On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

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

Les tannins condensés ou tannins catéchiques ou proanthocyanidols : sont fondamentalement différents des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur édifice moléculaire et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Prieur et *al.*, 1994 ; El Gharras, 2009).

I.1.3.4. Extraction des composés phénoliques

L'extraction est influencée par la méthode choisie en fonction des composés phytochimiques à étudier. D'autres facteurs, comme le pH, la température, le rapport quantité de matière / volume du solvant, le temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans cette procédure (Muanda, 2010).

L'extraction solide-liquide est la procédure la plus couramment utilisée. En effet, ces techniques sont pratiques et très efficaces. Les solvants d'extractions les plus communément utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther éthylique et l'acétate d'éthyle. Cependant, pour les composés très polaires tels que les acides phénoliques ne pouvant être extraits complètement avec les solvants organiques purs, les mélanges d'alcool-eau ou acétone-eau sont recommandés (Naczki et Shahidi, 2004).

Les solvants moins polaires (dichlorométhane, chloroforme, hexane, benzène) sont utilisés pour éliminer les composés apolaires (cires, huiles, chlorophylle).

En effet, de nombreuses techniques d'extractions solide-liquide sont utilisées mais, les trois premières suscitées sont les plus faciles à appliquer, on distingue: l'infusion, la macération, la décoction, l'extraction au Soxhlet, l'extraction par sonication et l'extraction assistée par microondes.

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement porté à ébullition que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes et le thé.

Synthèse Bibliographique

La macération est similaire à l'infusion mais, elle s'effectue à une température ambiante. Elle convient donc, pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur.

La décoction consiste à réaliser l'extraction à température d'ébullition du solvant. Cette opération s'oppose à la macération dans laquelle le solvant d'extraction est à la température ambiante (Muanda, 2010).

I.1.3.5. Rendement en extrait de plante

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

I.1.3.6. Caractérisation des composés phénoliques

L'identification et la quantification des polyphénols consistent à déterminer la composition chimique des extraits par différentes méthodes analytiques spectroscopique et/ou chromatographique. L'étude de la composition chimique d'un mélange naturel complexe peut être réalisée par couplage d'une technique chromatographique : la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) pour les substances peu ou pas volatiles, permettant l'individualisation et la quantification des constituants, avec une technique spectroscopique (UV, SM, IRTF, ...), qui permet leur identification par combinaison de leurs données spectrales avec celles de produits connus (Sutour, 2010).

D'autres techniques de dosage sont fréquemment utilisées tels que les méthodes colorimétriques et spectrométriques).

Ainsi, le contenu en poly phénols totaux des extraits, est estimé par la méthode décrite par Singleton & Rossi (1965) in Wong *et al.* (2006), basé sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu. Ce produit préparé à base du mélange de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit en présence de poly phénols totaux en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux des poly phénols totaux présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968; Lapornik et *al.*, 2005).

Par ailleurs, le contenu en flavonoïdes des extraits est déterminé selon la méthode décrite par Lamaison et Carnet, (1990) citée par Bahri_Sahloul (2009).

I.1.3.7. Propriétés biologiques des polyphénols

Chez les végétaux, les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes seraient impliqués dans un certain nombre de fonctions:

Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les insectes et les oiseaux pollinisateurs et disperseurs de graines. Ils interviennent aussi dans la qualité alimentaire des fruits en déterminant leur saveur. Ainsi, les flavanones sont responsables de l'amertume des Citrus (Dubois et al., 1977) et les tannins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs. Ils sont aussi responsables de la lignification (El Gharras, 2009).

Les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique représentant un système de défense contre les microorganismes pathogènes par interactions moléculaires avec les bactéries, les champignons, les parasites et les insectes (Bahorun, 1997). Chez l'homme, les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et Shui, 2002).

I.1.3.8. Pouvoir antifongique

Plusieurs études ont été faites sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols. Les composés appartenant aux acides phénoliques les plus représentatifs de ces effets sont les acides cinnamiques et caféïques et sont particulièrement efficaces contre les champignons phytopathogènes (Cowan, 1999 ; Cheng et al., 2008). Les flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (Dixon et al, 1983), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (Cowan, 1999 ; Daglia, 2012).

En effet, grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, il est possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (Daglia, 2012).

I.2. Activité antifongique des extraits de plantes en agriculture

I.2.1. Introduction

De nombreux travaux ont fait l'objet d'étude de l'activité antifongique des extraits préparés à partir des plantes médicinales rapportée par la bibliographie. Dans ce sens, Si Moussa et al. (2010) ont testé l'activité antifongique des extraits aqueux, des huiles essentielles et des poudres de dix plantes médicinales :

Anacyclus valentinus, Artemisia herba alba, Eucalyptus sp, Inula viscosa, Laurus nobilis, Mentha piperita, Rosmarinus officinalis, Salvia officinalis, Tetraclinis articulata et Thymus vulgaris vis-à-vis de Fusarium oxysporum, agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier. Les résultats ont identifié les huiles essentielles d'Artemisia herba alba, Anacyclus valentinus, Inula viscosa, Mentha piperita et Thymus vulgaris à meilleur pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne et de la germination des microconidies de l'agent pathogène. Cette étude comporte également l'étude de l'effet de leurs poudres et, de leurs huiles essentielles additionnées au substrat sur la densité de population de Fusarium oxysporum présente dans le sol. Les résultats de ces essais ont confirmé l'efficacité de ces méthodes dans la réduction du taux d'inoculum présent dans le sol, et par conséquent la maladie de la fusariose vasculaire.

L'effet des extraits végétaux sur la densité de population des agents pathogènes a été également par Belabid et al. (2010).

I.2.2. Méthodes d'étude de l'activité antifongique des extraits végétaux

L'étude de l'activité antifongique d'un extrait végétal signifie l'évaluation de son pouvoir potentiel d'inhiber, ou de réduire le développement d'un champignon pathogène. Cela de manière sélective et avec un minimum d'effets secondaires sur l'hôte (Lion, 2017).

Deux techniques d'étude ont été largement utilisées et rapportées par les chercheurs :

I.2.2.1. Technique de contact direct

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

I.2.2.2. Technique de micro-atmosphère

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

I.3. Généralités sur l'origan

I.3.1. Histoire et étymologie

Originnaire d'Europe, l'origan a été exporté au moyen _Orient .Il est connu et reconnu par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé, et ses vertus médicinales (**Dauzart et al., 1971**) .

Le terme origan provient du latin *origanum*, lui-même issu du grec *origanon*. Le terme français apparaît au XIIIème siècle. En décomposant étymologiquement, on trouve *oros*, la montagne, et *ganos*, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». En effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté (**Dubois et al ., 2006**).

I.3.2. Description botanique

Le nom botanique « *Origanum* » est connu par les noms vernaculaires suivants :

En Arabe : زعتر, en Français : Origan et en Anglais : Oregano.

Les espèces végétales de ce genre sont des plantes frutescentes appartenant à la famille des lamiacées qui comporte environ 38 espèces, répandues dans les régions méditerranéennes, Euro-Sibérienne et Irano- Sibérienne dont, plus de 75% se trouvent autour des régions de l'Est-méditerranéen (Sahin et *al.* 2004).

L'origan est une herbacée ou sous ligneuse vivace de 30 à 60 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher et *al.*, 2004). Les tiges dressées, souvent rougeâtres et velues, portent les feuilles ovales opposées et espacées. Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes. Les fleurs blanches ou rose sont groupées en inflorescences. Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, et dépassant

Synthèse Bibliographique

le calice. Ce calice est lui-même en tube gamosépale et persistant. La corolle, plus grande que le calice, est quant à elle bilabée à tube saillant à la base et gamopétale. Le fruit est constitué d'akènes. La floraison se prolonge de mai à octobre (Baba Aissa, 1990 ; Teuscher et al., 2004 ; Figueredo, 2007).

D'après Quezel et Sanata (1963), 3 espèces d'origan existent en Algérie :

- *Origanum majorana* L.
- *Origanum glandulosum* Desf.
- *Origanum floribundum* Munby.

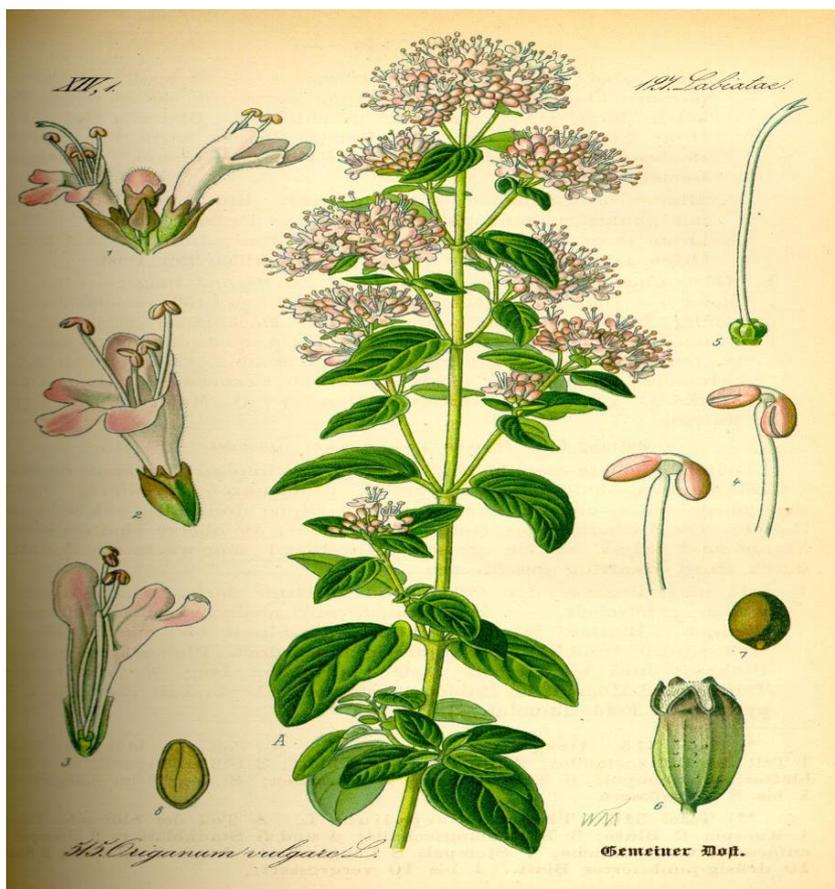


Figure 01 : Morphologie générale de la plante feuillue, des inflorescences et pièces florales d'*Origanum vulgare* (<http://www.branche-rouge.org/>)

I.3.3. Systématique

La classification de l'Origan établie par (**Ietswaart, 1980**) est comme suit :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Lamiidées
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiacée (Labiatae) ou Labiées
Genre :	<i>Origanum</i>
Espèce 1 :	<i>Origanum glandulosum</i>

I.3.4. Ecologie

L'Origan colonise les terrains secs et chauds, les broussailles, les garrigues et les pâturages, surtout en montagne (Quezel et Santa, 1962-1963). En outre, ce genre de plante est essentiel à la protection de l'environnement en zones susceptibles de désertification et sous une précipitation légère contre les risques d'érosion, assurant ainsi la couverture végétale.

Il préfère les sols légers, riches et bien drainés, et tolère les pH compris entre 4,5 et 8,7. Sa période de récolte au stade floraison est vers le début de l'été pour qu'il soit utilisé à l'état sec en hiver (Ernest et *al.* 2001 ; Roberto et *a l.* 2002).

I.3.5. Composition chimique

Parmi les métabolites secondaires les plus importants chez l'origan figurent les terpènes (Dellile, 2007) les flavonoïdes et les tanins (Belhattab et al., 2004).

I.3.5.1. Les huiles essentielles

Depuis l'antiquité, les huiles essentielles d'origan sont connues pour leurs propriétés antiseptiques assez importantes. Selon Bakkali et *al.* (2008), elles sont utilisées dans divers domaines :

- Pharmacologique : agents antimicrobiens, analgésiques

Synthèse Bibliographique

- sédatifs, anti -inflammatoires, spasmolytique (Bendahou et *al.*, 2008).
- Cosmétique (déodorants),
- Agro-alimentaire : agents d'emballlements et, conservateurs de nourriture (Bendahou *etal.*, 2008).

L'importante activité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* Desf. Réside dans sa richesse en phénols (carvacrol et thymol.....) (Bendahou et *al.*, 2008).

L'étude faite par Sari *et al.*(2006) sur la variabilité chimique de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté de différentes régions de l'Est d'Algérie (23 échantillons) a montré qu'il existe trois chémotypes : chémotype à thymol, chémotype à carvacrol, et chémotype à thymol et à carvacrol. Les composés majoritaires identifiés sont : le thymol, le carvacrol, le *p*-cymène et le γ - terpinène. Comme, il a également souligné des chémotypes variables pour les huiles essentielles de la région de Béjaia. En revanche, l'huile essentielle de l'échantillon de la même plante récolté de la région de Tlemcen est de chémotype à thymol (Bekhechiet *al.*,2008; Bendahou et *al.*, 2008).

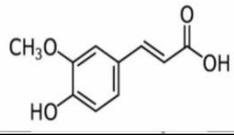
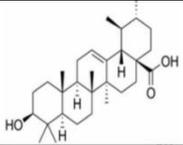
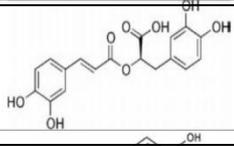
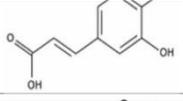
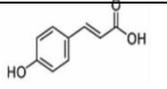
I.3.5.2. Les polyphénols totaux

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandues dans les plantes médicinales, leurs teneurs sont variables selon les différentes espèces. Ils s'avèrent comme de potentiels agents antimicrobiens (Xia et *al.*, 2010). Les polyphénols sont réputées par leurs propriétés antioxydante et antibactérienne (Sagdic et Ozkan, 2003 ; Capecka et *al.*, 2005). Ceux identifiés chez cette espèce végétale sont résumées dans le tableau 2.

Les plus importants *sont* représentés essentiellement par les flavonoïdes libres, la quercetine, l'acide caféique et l'acide rosmarinique qui sont liés à 3- et 5- flavonoïdes hydroxylés d'après, Belhattabet *al.* (2004).

Synthèse Bibliographique

Tableau 1: Principaux acides phénoliques présents chez *Origanum glandulosum* (Spiridon et al., 2011).

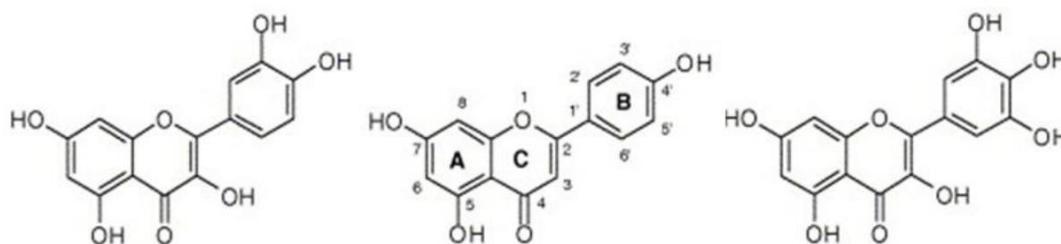
Nom des composés phénoliques	Type	Structure
Acide ferulique	Phénols acide	
Acide ursolique	Phénols acide	
Acide Rosmarinique	Phénols acide	
Acide caféique	Phénols acide	
Acide p-Coumarique	Phénols acide	

I.3.5.3. Les flavonoides

Les flavonoïdes sont très importants pour leurs activités médicinales et biologiques. Ce sont des agents antioxydants et antimicrobiens (Granados–Covarrubias et Maldonado, 2009). Selon Skerget et al., (2005), le genre *Origanum* possède des flavonoïdes avec des teneurs variables. Les trois principaux composés suivants ont été identifiés et quantifiés à savoir, la quercétine (219 mg /kg), l'apigénine(17 mg /kg)et, la myricétine (21 mg /kg) (Figure02).

Quercetine Apigénine Myricétine

Figure 02 : Quelque principaux flavonoïdes présents chez le genre *Origanum* (Skerget et al., 2005).



Quercetine

Apigénine

Myricétine

I.3.5.4. Les tanins

Les tanins présentent un grand intérêt médical, plus particulièrement les proanthocyanidines, en raison de leur puissant pouvoir antioxydant (Oszmianski et *al.*, 2007). *Origanum vulgare* L. contient des tanins dont la teneur est estimée à 2,53 mg / g de proanthocyanidines (Figure 03) (Hadi, 2004).

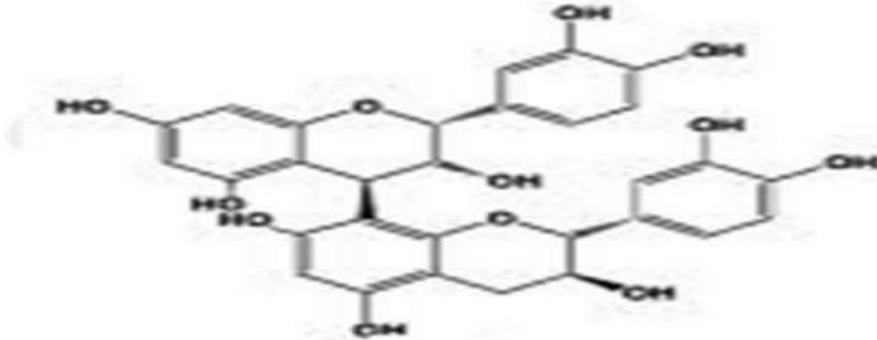


Figure 03 : structure des proanthocyanidines (Derbel et Ghedira, 2005).

I.3.6. Domaines d'application

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Bendahou et *al.* 2008). Ces espèces végétales sont recommandées en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme, d'absence de règles. Elles possèdent plusieurs activités importantes telles que, l'action antalgique, et parasiticide, utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007). Les préparations à base d'origan sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies en tant que substances antispasmodiques, antimicrobiennes, expectorantes (fluidifiant les sécrétions bronchiques), elle sont également efficaces contre les troubles digestifs et les problèmes menstruels (Sahin et *al.*, 2004). L'origan est considéré comme un antitussif, aromatique, calmant et sédatif, il excite d'abord, puis calme le système nerveux. Il est aussi utilisé dans la plupart du temps comme plante médicinale contre la coqueluche, la toux, la fièvre et les bronchites (Belyagoubi, 2006 ; bendahou et *al.*, 2008).

I.4. Généralités sur *Fusarium* spp

La fusariose de l'épi affecte toutes les céréales à paille, mais touche principalement les productions de blé et d'orge, Environ 17 espèces de *Fusarium* sont associées à la maladie. Celle qui cause le plus de dommage est *Fusarium graminearum*. Les *Fusaria* qui infectent les fleur set les grains des graminées se disséminent dans les tissus tels les enveloppes florales, le rachis des épis et les tiges à la sénescence de la plante (Le RAP, 2017).

I.4.1. Classification

Le genre *Fusarium* appartient au phylum Ascomycota, classe Ascomycètes, ordre Hypocreales, tandis que , les téléomorphes des espèces de *Fusarium* sont principalement classés dans le genre *Gibberella*, et pour un plus petit nombre d'espèces, *Hémonectrie* et genre *Albonectria*(Leslie et Summerell. 2006)

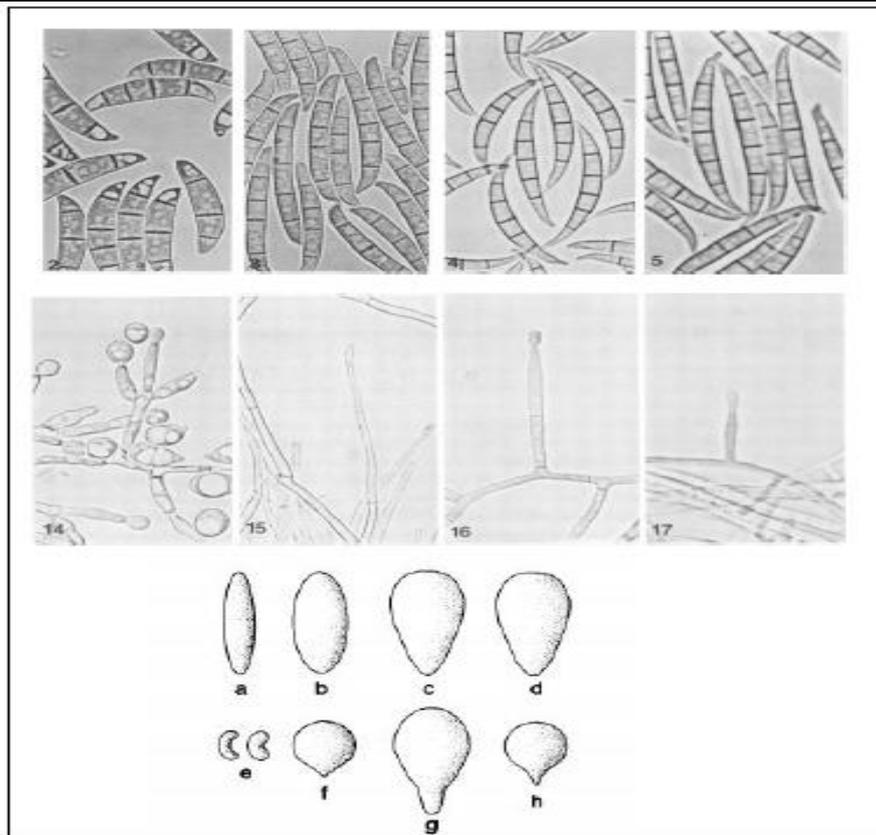
Règne :	Fungi
- Division :	Ascomycota
- Classe :	Sordariomycetes
- Sous-classe :	Hypocreomycetidae
- Ordre :	Hypocreales
- Famille :	Nectriaceae
- Genre :	<i>Fusarium</i>

I.4.2. Morphologie

Les espèces de *Fusarium* peuvent produire trois types de spores : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores qui représentent les structures de résistance (Figure 4) (Nelson et al., 1983).

Les macroconidies sont produites dans une structure spécialisée appelée un sporodochium dans lequel la masse de la spore est soutenue par une masse superficielle de monophialides (Hawksworth et al., 1983). Par contre, les microconidies sont produites dans le mycélium aérien mais, pas dans le sporodochium. Elles sont de diverses formes et de tailles différentes. Elles peuvent être produites uniquement en fausses têtes ou en fausses têtes et chaînes.

Les chlamydospores peuvent être portées seules, par paires, en touffes ou dans des chaînes et, leur paroi externe peut être lisse ou rugueuse. (Nelson et al... 1992)



(2) : *F. culmorum*. (3) : *F. solani*, (4) : *F. equiseti*, (5) : *F. graminearum*,

(14) : *F. poae*, (15) : *F. solani*, (16) : *F. moniliforme*, (17) : *F. oxysporum*.

(a) : fusiforme, (b) : ovale, (c) : obovoïde, (d) : obovoïde avec une base tronquée indiquant que les microconidies ont été formées dans une chaîne, (e) : allantoïde, (f) : napiforme, (g) : piriforme, (h) cornet.

Figure 4: Morphologie des conidies de diverses espèces de *Fusarium* spp. (Nelson et al., 1992).

I.4.3. Biologie

Le mycélium attaque les grains à travers les glumes, pénètre dans les péricarpes, l'albumen, voire l'embryon. Cette source d'inoculum permet à la maladie de se développer dès l'automne. Pendant la germination, le mycélium reprend son activité et selon le degré de pénétration initial, il ralentit ou inhibe la germination, entraînant des manques à la levée et la fonte des semis. La maturation des spores dépend des interactions avec les facteurs de l'environnement. Elle est favorisée par l'humidité, la température et la lumière (Gunther.2005) mais, inhibée par la sécheresse et le froid de l'hiver. Les spores germent ensuite en surface des tissus de l'hôte lorsque les conditions y sont favorables. Ces conditions regroupent une forte

Synthèse Bibliographique

humidité (>90%) pendant 48 à 72h en conditions contrôlées et 4 à 5 jours en condition naturelles, et des températures comprises entre 15 et 30 °C (Bai, 1994).

I.4.4. Les mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (Prandini et al., 2007).

Le *Fusarium* est connu pour son aptitude à synthétiser certaines mycotoxines dans la plante, certaines toxines varient selon les souches de *Fusarium* présents sur les plants, aujourd'hui, la déoxynivalénol (DON) est l'une des principales mycotoxines produites par *Fusarium graminearum*, responsable des contaminations des graines de blé, d'orge, d'avoine ou de maïs (Guenther, 2005).

Ces métabolites nocifs peuvent être produit avant la récolte dans les épis et donc retrouvés dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales (Ichinoe et al., 1983).

I.4.5. Conditions de développement

Le développement de la fusariose est sous l'influence de plusieurs conditions telles que :

I.4.5.1. Facteurs climatiques

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial puisqu'ils vont conditionner la germination et l'infection des champignons. Les individus de la même espèce mais ayant des origines géographiques différentes vont également avoir des optimums différents, en référence avec le climat de leurs régions d'origine (Doohan et al., 2003). Pour *M. nivale* et *Fusarium pulmorum*, cet optimum est obtenu à 18°C et 26°C respectivement. *Fusarium pulmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium avenaceum* et *Microdochium nivale* sont retrouvés dans des régions plutôt fraîche. Durant tout le cycle cultural, l'humidité et le vent favorisent également la survie et la dispersion de l'inoculum primaire (Alvarez et al., 2009).

Le *Fusarium* est connu pour son aptitude à synthétiser certaines mycotoxines dans la plante, certaines toxines varient selon les souches de *Fusarium* présents sur les plants, aujourd'hui, la déoxynivalénol (DON) est l'une des principales mycotoxines produites par *Fusarium graminearum*, responsable des contaminations des graines de blé, d'orge, d'avoine et du maïs (Guenther, 2005).

I.4.5.2. Facteurs nutritifs

Comme source de carbone et d'énergie le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentent les sucres les plus utilisés par les moisissures. Ces hydrates de carbones sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme aérobie. Le cuivre, le magnésium, le sodium, le zinc et le molybdène sont des micronutriments. Les peptides et les protéines ne sont utiles pour les moisissures qu'après leurs dégradations (Alvarez et al., 2009).

I.4.5.3. Le pH

Les moisissures peuvent se développer dans une large gamme de pH, elles se développent à des pH compris entre 3 et 8 avec une croissance optimale à un pH compris entre 5 et 6 (Keller et al., 1997).

I.4.5.4. Facteurs physiologiques

Le développement des champignons dépend aussi des caractéristiques physiologiques de la plante comme la taille et la densité d'épillets. Son état de stress, son stade de développement et le niveau de résistance de la variété (Champeil et al., 2004).

I.4.6. Méthode de lutte contre la fusariose

Il existe plusieurs méthodes de luttés contre la fusariose :

I.4.6.1. Lutte chimique

En effet, les travaux de Simpson et al., (2004) soulignent la sensibilité des champignons du genre *Fusarium* aux triazoles et ceux du genre *Micordochium* aux strobilurines. Depuis, des résistances sont apparues limitant l'intérêt des strobilurines dans cette lutte. De nouvelles solutions ont été récemment développées combinant plusieurs familles chimiques comme l'activité dutriazolinthione avec le triazol qui ont montré une réduction jusqu'à 70% de la maladie au champ.

I.4.6.2. Lutte biologique

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano et al., 2006).

I.4.7. Utilisation des extraits de plantes dans le bio contrôle et la conservation

La plante et ses produits dérivés sont utilisés pour la protection et la conservation des récoltes et des plantes en végétation. L'utilisation de leurs extraits est prouvée comme étant une méthode alternative dans le bio contrôle de plusieurs agents phytopathogènes.

Avec le coût élevé des pesticides et leur non disponibilité sur les marchés, les produits biodégradables issus des végétaux constituent une bonne alternative qui permet aux producteurs de pouvoir assurer la protection de leurs cultures à un coût relativement faible (Bouda et al., 2001). La réduction de l'utilisation des pesticides et leur substitution par les extraits de plantes contribue énormément à la préservation de l'environnement contre la pollution et à l'amélioration de la santé publique des populations. Les biofongicides à base de plantes sont très prometteurs compte tenu de leurs efficacités et de leur innocuité sur l'environnement (Weaver et Subramanyam, 2000). Plusieurs espèces végétales telles que, *Hyptissuaveolens* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam., *Anarcadium occidentale* L., *Azadiracthaindica* A. Juss., *Ocimumamericanum* L. ont prouvé leur effet conservateur sur les produits agricoles (Nebié, 2005). Il a été confirmé que les plantes utilisées à faible doses ne présenteraient pas de toxicité pour l'homme, puisqu'elles sont pour la plupart utilisées en molécules bioactives utiles pour le domaine agroalimentaire (Fatope et al., 1995).

*Matériel et
Méthodes*

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Introduction

Cette expérimentation a duré 3 mois. Elle été réalisée depuis le mois de février 2019 jusqu'au mois de Mai 2019, au niveau du laboratoire de recherche sur les plantes Médicinales et Aromatiques du département de biotechnologies, Faculté SNV de l'université de Blida 1.

II.2. Matériel biologique

Notre étude a nécessité l'utilisation d'un matériel biologique composé d'un matériel fongique et d'un matériel végétal.

II.2.1. Matériel fongique

Le matériel fongique est représenté par trois isolats pathogènes du genre *Fusarium*, isolés d'une culture hydroponique de l'orge fourrager en 2016. Ils ont été purifiés et conservés à l'abri des contaminations dans la mycothèque de Mme Moumene ., enseignante chercheur au département de Biotechnologies, de la Faculté SNV de l'université de Blida 1 (Figure 5). Ils ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche (Moumene et *al.*, 2017; Moumene et *al.*, 2018).



a : F5, b : F4 et, c : F3 : isolats de *Fusarium* spp.

Figure 5: Cultures d'isolats de *Fusarium* spp. âgées de 7 jours et, développées sur milieu PDA à 25°C ((Moumene et *al.*, 2017; Moumene et *al.*, 2018).

II.2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par des plantes feuillues portant quelques inflorescences d'*Origanum glandulosum* Desf., dont un échantillon a été récolté en période de floraison au mois d'avril de l'année 2019, dans la région de Beni Kinaa, wilaya de Blida.



a et b: plantes feuillues avec inflorescences

Figure 6: Morphologie des plantes d'*Origanum glandulosum* Desf. développées dans la région montagneuse de Béni Kinaa, wilaya de Blida(original,2019)

Les plants récoltés d'*Origanum glandulosum* ont été débarrassées de la poussière et d'autres impuretés, puis mises à sécher à l'aire libre pendant dix jours, et à l'abri de la lumière jusqu'à la stabilité du poids sec (Owen et Jhons, 1999). Les feuilles et les inflorescences récupérées des plants séchés ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et ensuite conservée dans un bocal en verre, hermétiquement fermé et stocké à l'abri de la lumière pour des utilisations ultérieures (Diallo et *al.*, 2004).

II.3. Méthodes d'études

Le matériel végétal collecté a servi pour l'extraction et la préparation de différents extraits tels que, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, l'extrait aqueux, huile essentielle et, l'hydrolat.

L'ensemble des extraits préparés à partir de la plante étudiée ont fait objet de l'étude de l'activité antifongique, vis-à-vis des moisissures du genre *Fusarium*, agents responsable de l'altération de l'orge au cours de la conservation et en hydroponie .

II.3.1. Préparation des extraits

II.3.1.1. Extraction et dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes

L'extraction des polyphénols totaux à partir de la matière végétale a été réalisée par macération dans l'éthanol (Venturini, 2010) selon la méthode d'épuisement décrite par Romani et *al.* (2006).

Matériel et Méthodes

Cette technique consiste à introduire 30 g de poudre végétale dans un erlenmeyer contenant 200 ml d'éthanol à 96°. Le mélange est soumis à une agitation à l'aide d'agitateur magnétique pendant 24 h à température ambiante et à l'abri de la lumière puis, laissé précipiter pendant 2h. L'extrait est récupéré après filtration à travers un entonnoir renfermant le papier filtre (wathman N°1). La macération est répétée 3 fois en renouvelant le solvant chaque 24 heures. Les trois extraits polyphénoliques éthanoliques (I, II et II) ainsi obtenus seront concentrés à sec à l'aide d'un rotavapeur. Ces extraits secs seront conservés à 4°C et à l'obscurité jusqu'à leur utilisation ultérieure.

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule décrite par Falleh et *al.* (2008) :

$$R(\%) = \frac{m(E)}{m(S)} \times 100$$

Où :

R : Rendement en %.

m(E) : masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg .

m(S) : masse sèche de l'échantillon végétal en mg.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits secs d'*Origanum glandulosum*, sont estimées par la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) in Wong et *al.* (2006). Elle consiste à ajouter un volume de 200µl d'extrait 1000µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10^{ième}. On complète par verser 800µl de carbonate de sodium (7,5%) au mélange. Après une incubation de 2h à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à l'aide de spectrophotomètre à UV-Visible à la longueur d'onde de 765nm.

Par ailleurs, les teneurs en flavonoïdes des extraits secs d'*Origanum glandulosum*, sont estimées par la méthode décrite par Lamaison et Carnet, (1990) citée par Bahri-Sahloul (2009). Elle consiste à ajouter séparément un volume de 1000µl de chacun des extraits au même volume de chlorure d'aluminium (Al Cl₃, 6H₂O) à 2%. Après une incubation de 10 minutes à la température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à l'aide de spectrophotomètre à UV-Visible à la longueur d'onde de 450nm.

Les concentrations en polyphénols et en flavonoïdes ont été estimées en se référant à une courbe d'étalonnage préparée respectivement avec l'acide gallique et la quercétine. Les résultats ont été exprimés respectivement en mg équivalent d'acide gallique (Mg EqAG/g MS) et en mg équivalent de quercétine (Mg Eq Q/g MS).

Matériel et Méthodes

Quatre tubes ont été préparés pour les solutions d'acide gallique aux concentrations suivantes: 0,2 g/l 0,4g/l 0,6 g/l et 0,8 g/l. et 4 autres pour la préparation des solutions de quercetine aux concentrations suivantes: 0,01g/l, 0,02 g/l, 0,03g/l et 0,04 g/l.

La concentration des poly phénols totaux est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue, en utilisant l'acide gallique comme standard et l'équation de la droite de régression est comme suit : $DO = 0,0069 \text{ concentration} - 0,0433$ avec ($R^2= 1$) (*Annexe 1*). La densité optique augmente linéairement avec la concentration du complexe (acide gallique / réactifs). Les résultats sont exprimés en mg EAG/g d'extrait sec.

La concentration des flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue, en utilisant la quercetine comme standard et l'équation de la droite de régression est comme suit : $DO = 0,032 \text{ concentration} - 0,024$ avec ($R^2= 1$) (*Annexe 2*). La densité optique augmente linéairement avec la concentration du complexe (quercetine/ réactifs). Les résultats sont exprimés en mg EAQ/g d'extrait sec.

II.3.1.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle *d'Origanum glandulosum* a été réalisée par hydrodistillation de la poudre de la plante à l'aide d'un appareil de type Clevenger selon la technique décrite par Lucchesi (2005).

L'extraction consiste à introduire 60g de la poudre de la plante sèche d'Origan dans un ballon à fond rond puis on y ajoute de l'eau distillée jusqu'à la moitié, ensuite on met ce dernier dans la chauffe ballon. La période d'hydrodistillation de l'huile essentielles est estimée par la période au cours de laquelle sera notée la formation de la première goutte d'huile essentielle et celle à partir de laquelle il n'y aura pas de formation d'HE.

L'huile essentielle est récupérée dans un tube Eppendorf préalablement stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20mn puis, recouvert par du papier aluminium, et conservé à une température de 4°C jusqu'à son utilisation. Il en est de même pour l'hydrolat qui est également récupéré dans un flacon ombré et conservé dans les mêmes conditions que les autres extraits.

Le rendement en huile essentielle *d'Origanum glandulosom* a été calculé par rapport à 245g de matière végétale sèche, suivant la formule rapportée par Ben Abdelkader (2012):

Où :

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M}{M_0} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle (en%).

M : masse de l'huile essentielle (en gramme).

M₀ : masse de la matière végétale sèche (en gramme).

II.3.1.3. Préparation de l'extrait aqueux

L'extrait aqueux a été préparé par décoction. Elle consiste à introduire 40g de poudre sèche d'*Origanum glandulosum* avec 200ml d'eau distillée dans un flacon ombré qui sera placé dans un autoclave jusqu'à la montée de la température à 110°C. Le flacon sera placé dans les mêmes conditions de conservation que les autres extraits durée une semaine.

II.4. Etude de l'activité antifongique *in vitro* des extraits de la plante étudiée

L'activité antifongique a été étudiée *in vitro* pour chaque type d'extrait d'*Origanum glandulosum* préparé vis-à-vis des trois isolats de *Fusarium* spp., selon la méthode de contact direct de Fandohan et al. (2004), qui consiste à incorporer séparément chacun des extraits végétaux, dans le milieu de culture PDA (annexe 3).

II.4.1. Préparation des boîtes de Pétri à base d'extraits de plante préparés

En premier lieu, plusieurs boîtes de Pétri ont été préparées à base des extraits suivant:

L'émulsion préparée par l'ajout de 200µl d'huile essentielle à 20 ml de la solution d'eau – agar préparée à 0,2%(annexe 4), après agitation au vortex. L'hydrolat pur et celui de 5% obtenu par dilution de 500µl d'hydrolat pur avec 10ml d'eau distillée après agitation au vortex. L'extrait aqueux pure et celui à 5% obtenu par la dilution de 500µl d'extrait aqueux pur avec 10ml d'eau distillée .Agiter la dilution vigoureusement au vortex.

Les solutions aqueuses polyphénoliques ont été préparées pour chaque type de polyphénol en ajoutant 6ml d'eau distillée séparément à chacun des concentrés secs des types de polyphénols (I,II et III) préalablement conservés. On complète par agiter chacune des solutions de polyphénols préparées à l'aide du vortex.

En second lieu, une étape commune a été réalisée pour l'ensemble des extraits à tester. Elle consiste à verser 300µl de chaque extrait de plante considéré dans la boîte de pétri puis, compléter par ajouter 13,5 ml du milieu PDA en surfusion (Remmal et al., 1993; Satrani et al. 2007; Bourkhiss et al., 2007; El Ajjouri et al., 2008). Faire des mouvements en 8 soigneusement pour homogénéiser le milieu et laisser refroidir avant inoculation. Cette préparation est répétée à raison de 5 répétitions pour chaque extrait et chaque isolat fongique étudié.

II.4.2. Inoculation des boîtes préparées

Les trois isolats fongiques ont été repiqués puis, incubés dans une étuve réglée à 25°C pendant 7 jours. Pour chaque isolat fongique, un témoin a été considéré. Ce qui consiste à prélever un disque mycélien de 5 mm de diamètre de chaque culture d'isolat de *Fusarium* sp. âgée de 15 jours et le placer séparément au centre d'une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant du milieu PDA frais. Cinq répétitions ont été prises en considération pour chaque extrait, chaque isolat et chaque témoin.

II.4.3. Paramètres d'études

La lecture des résultats est basée sur la détermination des taux d'inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation et de la germination. Par ailleurs, les modifications morphologiques induites par l'effet des différents extraits testés sont recherchées chez les trois isolats fongiques étudiés. De même, les potentialités fongicides ou fongistatiques de chacun des extraits préparés sont confirmés par la survie ou l'absence de croissance des isolats fongiques sous leur effet inhibiteur.

II.4.3.1. Inhibition de la croissance mycélienne

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

$$\text{IC}(\%) = \frac{(d_0 - dt)}{d_0} \times 100$$

Où :

IC : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en%.

d₀ : Diamètre moyen de la colonie fongique témoin en mm.

dt: Diamètre moyen de la colonie fongique développée sous l'effet des extraits testés en mm.

II.4.3.2. Inhibition de la sporulation

Après 15 jours d'incubation à la température de 25°C, des suspensions conidiennes ont été préparées pour chaque isolat de *Fusarium* sp., en raclant la colonie fongique développée sous l'effet des extraits testés de 15 ml d'eau distillée stérile. Les suspensions sporales de chacun des isolats témoins ou /et ceux développés sous l'effet des extraits testés ont été récupérées séparément dans des tubes à essai. Le comptage des spores a été réalisé par le prélèvement d'une goutte de chaque suspension dans la cellule de Malassez et observée sous le microscope

Matériel et Méthodes

photonique au grossissement (X 500). Ainsi les taux de sporulation ont été estimés en % selon la formule décrite par Pandey *et al.* (1982) et, rapportée par Sharma et Tripathi (2008) :

$$\text{IS (\%)} = \frac{(C_o - C_t)}{C_o} \times 100$$

Où :

IS: Taux d'inhibition de la sporulation en%.

Co : Concentration en spores de la colonie fongique témoin en X 10⁵ spores/ml de suspension.

Ct: Concentration en spores de la colonie fongique développée sous l'effet des extraits testés en X 10⁵ spores/ml de suspension.

II.4.3.3. Inhibition de la germination

Pour la confirmation de l'efficacité des extraits qui ont un résultat efficace de l'inhibition de la sporulation, des suspensions conidienne sont été préparées à partir de chaque culture témoin d'isolat de *Fusarium* sp. après 21 jours d'incubation à la température de 25 °C de la même manière que pour l'effet inhibiteur sur la sporulation décrite précédemment. 10 ml de chaque suspension conidienne préparée par de l'eau distillée stérile ont été placés dans des tubes à essai contenant séparément 12µl, 14µl, 16µl, 18µl pour chacun des trois extraits (extraits éthanoliques I et II, HE1%). Pour le témoin, 10ml de suspension conidienne préparée par l'eau distillée stérile ont été utilisées pour la mise en germination des conidies. Des lames microscopiques ont été préparées par prélèvement d'une goutte de suspension entre lame et lamelle pour voir les conidies germées (émission des tubes germinatifs) sous microscope au grossissement (X 500).

II.4.3.4. Variabilité morphologique des isolats de *Fusarium* spp. Sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum*

Les observations morphologiques des isolats fongiques ont été réalisées par prélèvement de chacun des isolats âgé de 7 jours et développé sous l'effet inhibiteur de chaque extrait testé, entre lames et lamelles en présence d'une goutte d'eau distillée, pour décrire les modifications structurales.

II.4.3.5. Etude de la survie

Les isolats fongiques de *Fusarium* sp. ayant montré une inhibition de la croissance complète ou intéressante sous l'effet des extraits de la plante étudiée après 15 jours d'incubation vont faire l'objet d'étude de leur survie, par le transfert du disque mycélien respectif, dans des

boîtes de Pétri contenant du milieu PDA frais. Le potentiel fongistatique et/ou fongicide des extraits testés est traduit respectivement par la reprise ou l'inhibition complète de leur croissance après 15 jours d'incubation à 25°C (Mahanta et *al.*, 2007).

II.5. Analyse statistique

Afin de vérifier l'efficacité des extraits préparés à partir d'*Origanum glandulosum*. vis-à-vis des isolats étudiés de *Fusarium* spp. et de comparer leur pouvoir inhibiteur *in vitro* sur les différents paramètres biologiques étudiés tels que, la croissance mycélienne, la sporulation, la germination, la survie, tout en considérant les isolats fongiques étudiés et, les différentes extraits testés.

Des analyses statistiques ont été effectuées sur les taux d'inhibition des paramètres étudiés au moyen du logiciel XLSTAT 2016, en déterminant la variance à l'aide de l'outil d'ANOVA et le test de Fisher et celui de Tukey HSD (Honestly Significant Different) pour classer les extraits préparés et les isolats fongiques en groupes homogènes selon les taux d'inhibition enregistrés. Les différences ont été considérées significatives pour $P \leq 0,05$ (Philippeau, 1989).

*Résultats et
Discussion*

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Rendement et dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et huile essentielle

III.1.1 Rendement et teneur en composés phénoliques

Le moyenne rendement de l'extraction dans l'éthanol est de 6,30% et le dosage des polyphénols totaux de l'extrait éthanolique a donnée une valeur de 580,91mg EAG /g MS.

III.1.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits d'*Origanum glandulosum* a été évaluée à 29,03mg EC Q /g.

III.1.3 Rendement en huile essentielle

L'extraction par hydrodistillation des parties aériennes d'*Origanum glandulosum* récoltée au stade floraison dans la région montagneuse de Béni Kinaa a fourni une huile essentielle dont, le rendement est de 1,43% . .

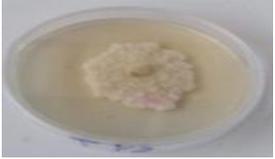
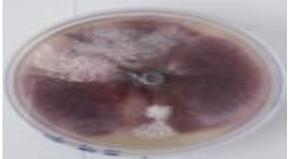
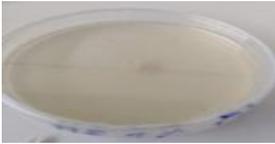
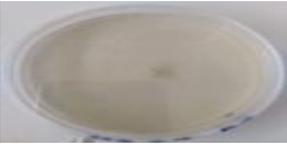
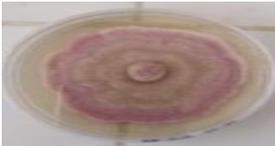
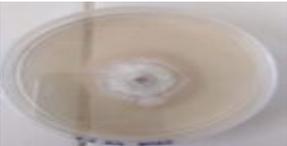
III.2. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des extraits d'*Origanum glandulosum*

III.2.1. Inhibition de la croissance mycélienne

Tableau 2: Classement des extraits d'*Origanum glandulosum* dans l'ordre croissant selon les taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Modalité	Moyennes estimées	Erreur standard	Groupes	
H5%	4.857	7.239	A	
EA5%	5.013	7.239	A	
EAP	10.490	7.239	A	
III	20.397	7.239	A	
HP	38.380	7.239	A	
II	81.013	7.239		B
I	86.833	7.239		B
HE1%	90.173	7.239		B

Résultats et Discussion

T			
HE1%			
HP			
H5%			
EAP			
EA5%			
I			

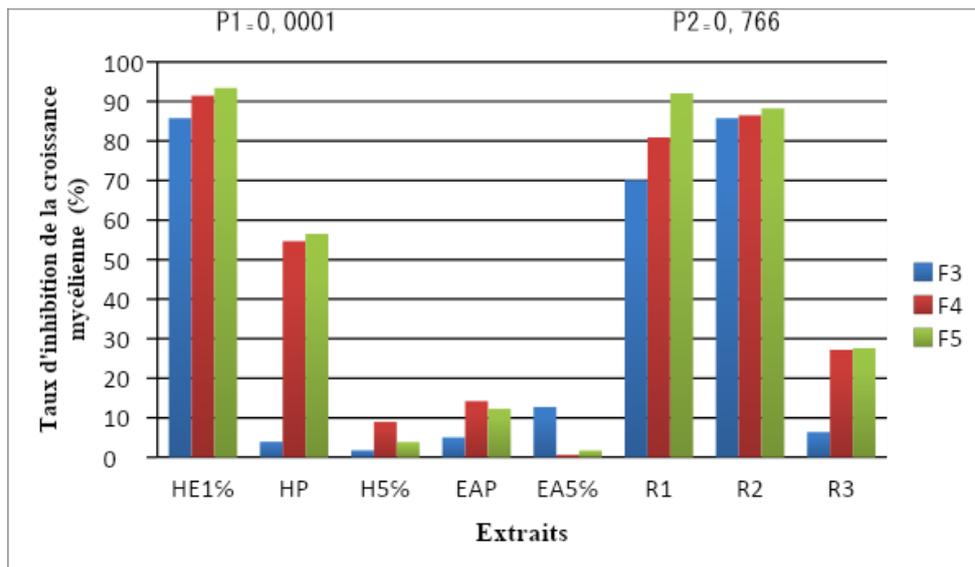
Résultats et Discussion

II			
III			
<i>Cultures d'isolats de Fusarium spp.</i>			
F3	F4	F5	

T: témoin, **HE1%** : Huile essentielle à 1%, **HP**: hydrolat pure, **H 5%**: hydrolat à 5%, **EAP** :extrait aqueux pure, **EA5%**:extrait aqueux à 5%, **I**: extrait ethanologique I, **II**: extrait ethanologique II, **III**: extrait ethanologique III

Figure 7: Variabilité culturelle des trois isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum* étudiés selon la technique de contact direct

Résultats et Discussion



HE1% : Huile essentielle, **HP** : hydrolat pure, **H5%** :hydrolat 5%, **EAP** : extrait aqueux pure, **EA5%** : extrait aqueux à 5%, **R1** :extrait ethanologique I, **R2** : extrait ethanologique II, **R3** : extrait ethanologique III, **F3**, **F4** et **F5** : Isolats de *Fusarium* spp.

Figure 8 : Inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. étudiés sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum*

Après 7 jours d'incubation, les extraits d'*Origanum glandulosum* ont montré une variabilité dans l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp. (F 3, F4 et F5) étudiés.

Une inhibition totale a été enregistrée sous l'effet de l'huile essentielle, alors qu'elle a régressé dans l'ordre décroissant selon les extraits éthanologiques I (86,833%) et II(81,013%), l'hydrolat pur (HP : 38,380%), l'extrait éthanologique III (20,397%), l'extrait aqueux pur (EAP :10,490%), l'extrait aqueux préparé à 5% (5,013%), l'hydrolat préparé à 5% (EA5% : : 4,857) (Figure7).

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon le test ANOVA a montré une différence très hautement significative entre les différents extraits de la plante étudiée ($P1=0.0001$ inférieure au seuil critique 5%) (Tableau en Annexe N° 5).

Le test de Tukey a mis en évidence le pouvoir inhibiteur le plus important chez les trois extraits efficaces, classés dans le même groupe (groupe B) (Tableau 2). On distingue dans l'ordre décroissant : HE1% (90.17 %), extrait éthanologique I (86.83%), et II (81.01%).

Résultats et Discussion

Cependant, une différence non significative a été enregistrée sur les taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon les isolats fongiques étudiés ($P_2 = 0.766$, supérieure au seuil critique 5%) (Tableau en Annexe N° 7).

III.2.2. Inhibition de la sporulation

Tableau 3: Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F3

Extraits/F3	Taux d'inhibition moyen de la sporulation	Erreur standard	Groupes		
EA5%	14.055	10.374	A		
H5%	23.620	10.374	A		
EAP	28.145	10.374	A	B	
III	32.160	10.374	A	B	
HP	37.255	10.374	A	B	
II	83.050	10.374		B	C
I	100.000	10.374			C
HE1%	100.000	10.374			C

Résultats et Discussion

Tableau 4 : Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F4

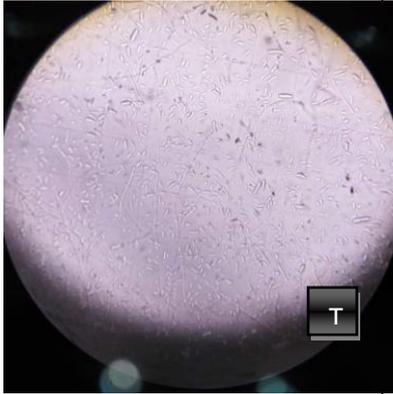
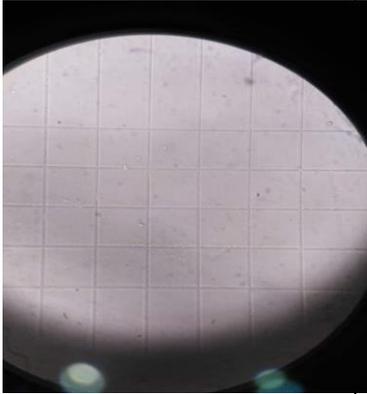
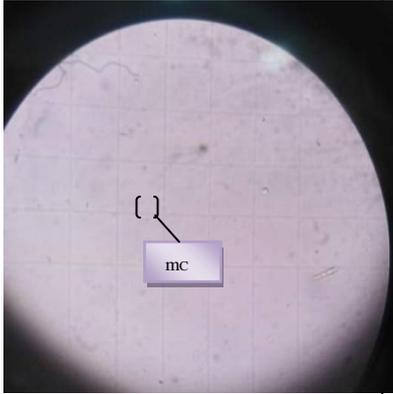
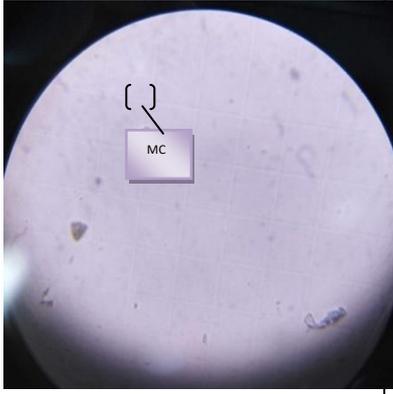
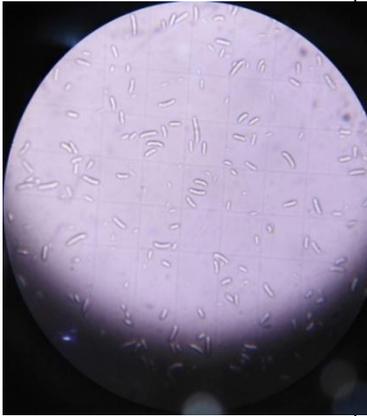
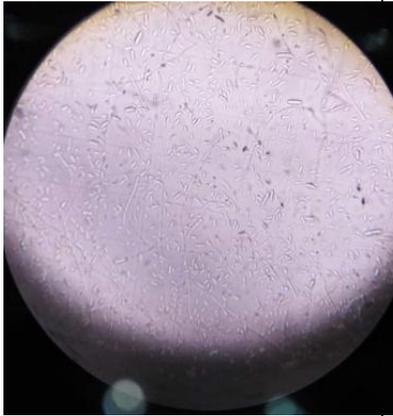
Extraits/F4	Taux d'inhibition moyen de la sporulation	Erreur standard	Groupes	
EA5%	13.215	9.393	A	
H5%	22.990	9.393	A	
EAP	26.320	9.393	A	
III	30.510	9.393	A	
HP	35.765	9.393	A	
II	97.295	9.393		B
I	99.930	9.393		B
HE1%	100.000	9.393		B

Résultats et Discussion

Tableau 5 : Classement des extraits de la plante étudiée par le test de Tukey selon les taux d'inhibition de la sporulation de l'isolat F5

Extraits/F5	Taux d'inhibition moyen de la sporulation	Erreur standard	Groupes		
EA5%	9.450	13.492	A		
H5%	19.065	13.492	A	B	
EAP	25.165	13.492	A	B	C
III	27.855	13.492	A	B	C
HP	69.710	13.492	A	B	C
II	88.035	13.492		B	C
I	88.895	13.492		B	C
HE1%	100.000	13.492			C

Résultats et Discussion

			
HE 1% I II			
EA P, III EA 5% , HP , H5 %			

Résultats et Discussion

Figure9: Inhibition de la sporulation des trois isolats de *Fusarium* spp. sous l'effet des extraits de la plante étudiée (G : X 125).

HE1% :huile essentielle 1%, **HP** :hydrolat pure, **H5%** :hydrolat à 5% , **EAP** :extrait aqueux pure, **EA5%** :extrait aqueux à 5% , **I** :extrait ethanologique I , **II** : extrait ethanologique II , **III**: extrait ethanologique III, **MC** :macroconidie, **mc**: microconidie, **T**: témoin

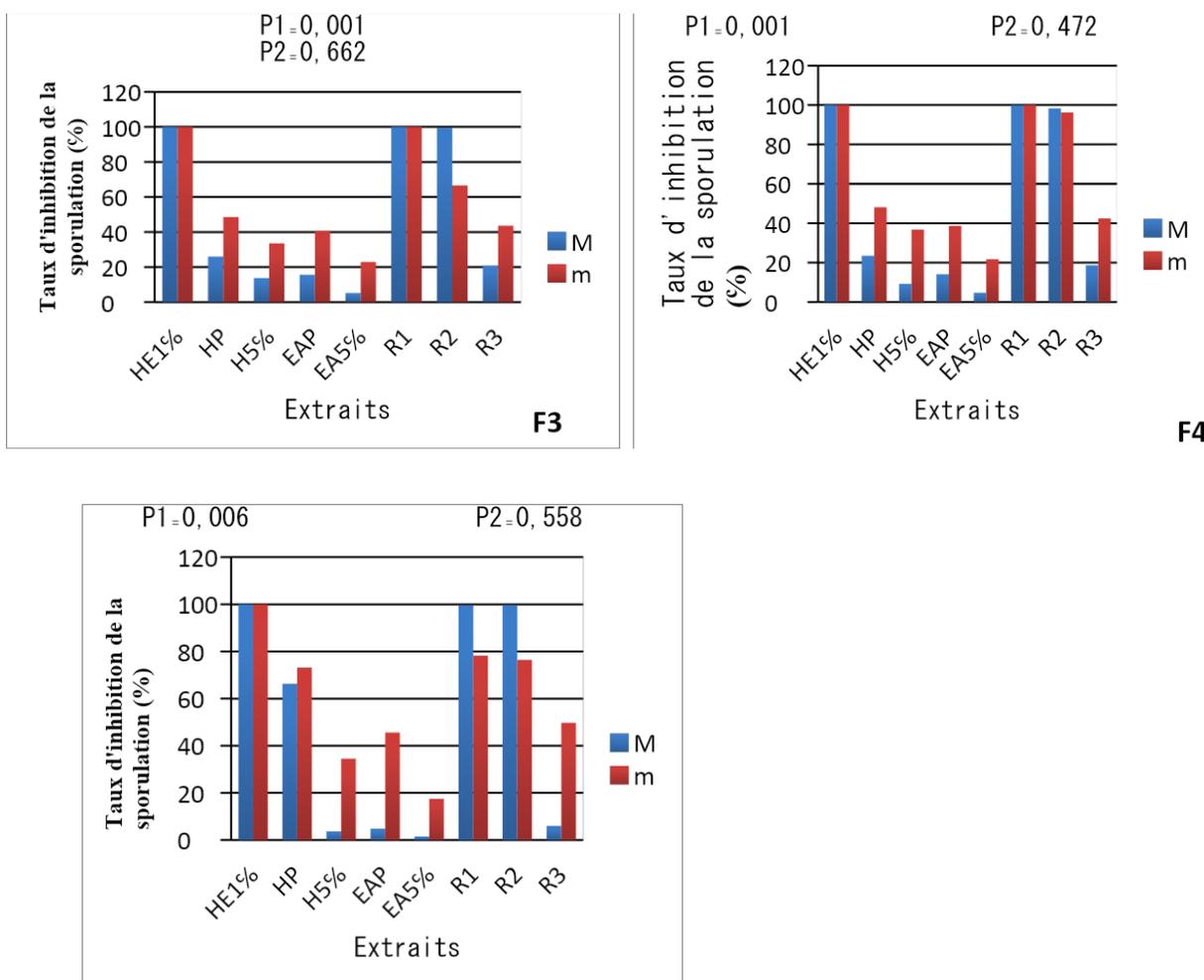


Figure 10 : Inhibition de la sporulation des trois isolats de *Fusarium* spp. selon les extraits de la plante étudiée

HE 1% :huile essentielle à 1%, **HP** : hydrolat pure, **H5%** :hydrolat à 5% , **EAP** :extrait aqueux pure, **EA 5%** :extrait aqueux à 5% , **R1**:extrait ethanologique I , **R2**: extrait ethanologique II , **R3**:extrait ethanologique III, **M** :macroconidie, **m**: microconidie, **F3, F4 & F5** : Isolats de *Fusarium* spp.

Résultats et Discussion

Les observations microscopiques des suspensions sporales de chaque isolat fongique étudié selon l'effet de chaque extrait testé ont révélé deux types de conidies : les macroconidies et les microconidies. Le comptage a révélé une variabilité sur la concentration des spores sur l'ensemble des trois isolats fongiques selon l'effet de l'extrait testé. une absence, une rareté ou une faible concentration de conidies ont été notées sous l'effet de l'huile essentielle, des extraits ethanologiques I et II. Contrairement, à la forte concentration en spores observée sous l'effet des extraits aqueux pur et dilué, l'hydrolat pure et dilué et l'extrait ethanologique III ainsi que, pour les isolats témoins (Figure9).

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le test ANOVA a révélé une différence hautement significative selon les différents extraits et respectivement pour les isolats F3 et F4 ($P_1 = 0.001$ inférieure au seuil critique 5%)(Tableau en Annexe N° 8 et 11)

Cependant, une différence non significative a été enregistrée selon les mêmes extraits testés sur la sporulation de l'isolat F5 ($P_1 = 0.006$ supérieure au seuil critique 5%)(Tableau en Annexe N° 14)

Par ailleurs, une différence non significative a été enregistrée sur les taux d'inhibition de la sporulation selon les types de conidies (Macroconidies et microconidies) pour l'isolat F3 ($P_2 = 0.622$)(Tableau Annexe N°10). l'isolat F4 ($P_2 = 0.472$)(Tableau en Annexe N° 13). et l'isolat F5 ($P_2 = 0.558$)(Tableau en Annexe N° 16).

Les extraits d'*Origanum glandulosum* testés ont été classés par le test de Tukey dans l'ordre croissant selon leur pouvoir inhibiteur de la sporulation des isolats de *Fusarium* spp., où l'on distingue:

Quatre groupes homogènes : A, AB, BC et C pour l'isolat F3, dont trois ont enregistré les plus importants taux d'inhibition: l'extrait ethanologique II (83.050%) classé dans le groupe BC, l'HE à 1% et l'extrait ethanologique I (100%) classés ensemble dans le groupe C (Tableau 3).

Deux groupes homogènes : A et B pour l'isolat F4, dont trois ont enregistré les plus importants taux d'inhibition: l'extrait ethanologique II (97.29%), l'extrait ethanologique I (99.93%) et l'HE à 1% (100%) classés ensemble dans le groupe C (Tableau 4).

Cinq groupes homogènes : A, AB, ABC, BC et C pour l'isolat F5, dont trois ont enregistré les plus importants taux d'inhibition: l'extrait ethanologique II (88.03%) et, l'extrait ethanologique I (88.89%), classés ensemble dans le groupe BC et l' HE à 1% (100%) classée dans le groupe C (Tableau 5).

III.2.3. Inhibition de la germination

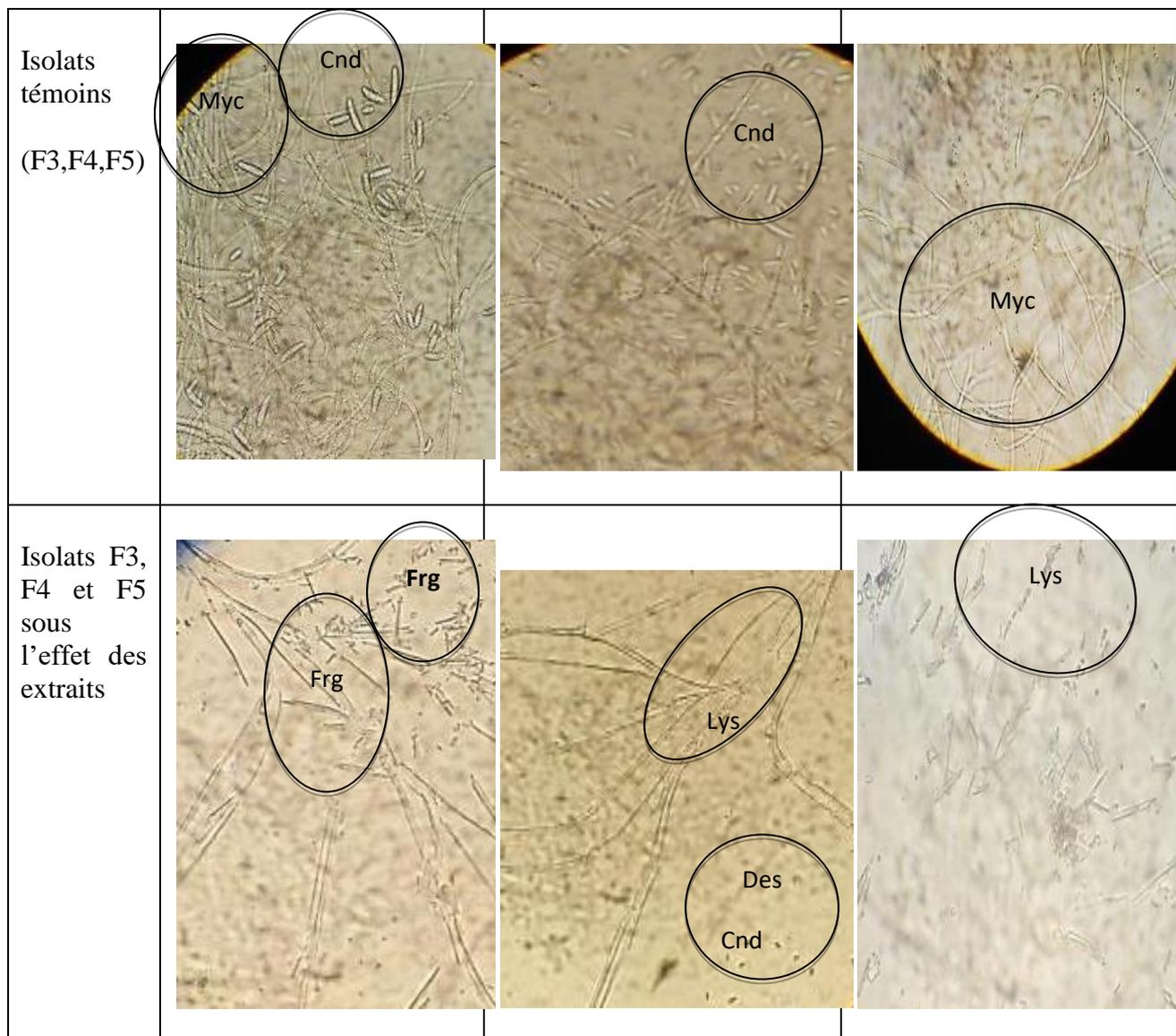
Tableau 6: Taux de germination des spores sous l'effet de l'huile essentielle et les extraits ethanoliques (I, II)

Extraits/ Isolats de <i>Fusarium</i> spp.	HE1%	I	II
F3	Pas de germination	Pas de germination	Pas de germination
F4	Pas de germination	germination	germination
F5	Pas de germination	germination	germination

HE1%: huile essentielle, I :extrait ethanolique I ,II :extrait ethanoliqueII

Les observations microscopiques vitales des conidies prélevées des cultures développées Après 21 jours d'incubation et mises à germer dans les différentes solutions préparées à base d'extraits de la plante d'origan étudiée ont montré une inhibition complète de la germination des conidies des trois isolats fongiques étudiés seulement sous l'effet de l'émulsion d'huile essentielle à 1% et également sur l'isolat F3 sous l'effet des extraits ethanoliques I et II (Tableau 6).

III.3. Modifications structurales induites par les extraits d'*Origanum glandulosum* sur la morphologie des isolats de *Fusarium* spp.



Myc : Mycélium, Cnd : Conidies, Des : Destruction, Frg : Fragmentation

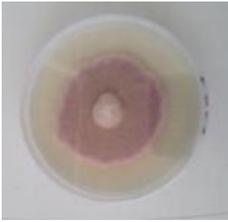
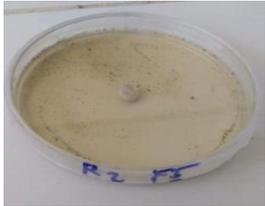
Figure 11: Modifications morphologiques des isolats de *Fusarium* spp. étudiés sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum* (Gr × 500)

Les observations microscopiques vitales des cultures après 7 jours d'incubation, ont montré des modifications morphologiques sur les trois isolats fongiques (F3, F4, F5) sous l'effet des extraits d'*Origanum glandulosum* en particulier l'émulsion d'huile essentielle à 1% ainsi que les extraits éthanoliques I et II. Cependant, leur morphologie demeure similaire à ceux des témoins sous l'effet de l'hydrolat pur et à la concentration de 5% ainsi que, sous l'effet de

Résultats et Discussion

l'extrait aqueux et extrait éthanolique III. Ces modifications se résument par une fragmentation ou lyse mycélienne, une réduction du diamètre du thalle, une digestion du contenu mycélien et sporale, et une déformation des conidies (Figure11). (Annexe 17)

III.4. La survie

Extraits	Inhibition de la croissance mycélienne	Survie
HE1%(F3)		
I(F3)		
II(F3)		
HE1%(F4)		
HE1%(F5)		

HE1%: huile essentielle, I:extrait éthanolique I ,II: extrait éthanolique II

Figure 12 : Survie des isolats de *Fusarium* spp. préalablement inhibés par l'effet de l'huile essentielle et des extraits éthanoliques I et II extraits d'*Origanum glandulosum*

Les isolats de *Fusarium* spp. (F3, F4, F5) préalablement inhibés par l'huile essentielle et, les extraits éthanoliques I et II après un mois d'incubation dans les mêmes conditions expérimentales citées précédemment ont montré une reprise de la croissance mycélienne après leur repiquage sur milieu PDA frais. Ce qui confirme l'effet fongistatique des extraits testés sur les trois isolats fongiques étudiés (Figure 12).

III.5. Discussion

Des études récentes ont montré que la quantité de polyphénols dans les plantes dépend de facteurs biologiques (génotype, organes et ontogénèse, agents pathogènes...), ainsi que de conditions édaphiques et environnementales (température, salinité, stress hydrique, Rayonnement U.V et l'intensité lumineuse). En outre, la solubilité des composés phénoliques est régie par le type de solvant utilisé, le degré de polymérisation des composés phénoliques, et leurs interactions (Macheix, 1996 ; Ksouri et al., 2008)

Dans une étude réalisée sur cette même espèce récoltée dans la région de Bejaia, la détermination de la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne de l'extrait méthanolique, a donné un taux de phénols totaux de 55.15 mg EAG/g d'extrait, ce qui est 10 fois moins que celui obtenu dans notre étude (Oukil et al., 2011).

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie étant donné que notre étude est la première à mettre en évidence le dosage de flavonoïdes en extrait Éthanoïques de cette plante endémique.

Belhattab et al. (2005) ont enregistré un rendement supérieur d'huile essentielle (2,7 %) avec la même espèce d'origan récoltée de la région de Sétif. Ruberto et al. (2002) ont à leur tour obtenu de meilleurs rendements allant de 2,3 à 5 % avec la même espèce récoltée de différentes stations de la région de Sétif. Dans le même sens, Bekhechi et al. (2008) et Bendahou et al. (2008) sont arrivés à des rendements supérieurs (3,53 % à 4,8 %) avec les échantillons récoltés de différentes stations de la région de Tlemcen. Par ailleurs, les échantillons récoltés de l'Est Algérien par Sari et al. (2006) ont montré des rendements en huile essentielle compris entre 0,8 et 3 %, se rapprochant donc de nos résultats.

Résultats et Discussion

En effet, les variations de rendement ont été élucidées par plusieurs travaux, les associant à de nombreux facteurs tels que : le stade de croissance de la plante, les conditions climatiques et, la technique d'extraction (Ruberto et al. (2002).

Les résultats ainsi obtenus ont révélé une variabilité du pouvoir antifongique des extraits d'*Origanum glandulosum* testées sur les trois isolats de *Fusarium* spp., et cela à travers les différents paramètres étudiés à savoir: la croissance mycélienne, la sporulation, la germination et la survie.

L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux et de l'hydrolat d'*O. glandulosum* s'avère une première étude. Dans l'ensemble, l'extrait aqueux pur et dilué, l'hydrolat pur et dilué et les polyphénols III ont tous présenté un faible potentiel antifongique alors que, l'huile essentielle et les extraits de polyphénols I et II se sont montrés plus inhibiteurs des paramètres de croissance étudiés vis-à-vis des isolats F3, F4 et F5 de *Fusarium* spp.

Quelques travaux de recherche antérieurs ont déjà confirmé les activités antifongiques de l'origan notamment son huile essentielle et ses extraits polyphénoliques. Ils ont démontré la capacité de l'huile essentielle de différentes espèces d'origan à retarder et inhiber la croissance de diverses souches fongiques d'origine alimentaire (Paster et al., 1995 ; Rahbar et al., 2012). Didry et al. (1993) in Belhatab et al. (2004), ont révélé l'important effet inhibiteur du carvacrol qui, est le composé majoritaire des plantes d'origan.

En effet, l'huile essentielle et les polyphénols de l'espèce d'origan étudiée possède une activité inhibitrice importante sur la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium* spp.

Cependant, l'étude portant sur l'activité antifongique des HE d'*Origanum* a confirmé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des champignons pathogènes suivants:

Alternaria alternata , *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*,

Aspergillus parasiticus, *Fusarium semitectum*, *Fusarium oxysporum*, et *Mucor racemosus*

(Korukluoglu et al ., 2009).

Il est important de signaler qu'aucun travail n'a été réalisé sur l'activité antifongique d'*Origanum glandulosum* sur *Fusarium* spp. Dans ce contexte, Belhatab et al. (2004) ont rapporté que l'huile essentielle d' *O. glandulosum* a montré son effet inhibiteur sur les levures et les moisissures isolées à partir de l'hôpital central de Sétif. Bendahou et al. (2008) ont étudié la même activité antifongique sur 2 levures et 4 champignons pathogènes selon la technique d'aromatogramme. Les résultats ont révélé des diamètres d'inhibition compris entre 20 et 34 mm, confirmant une importante inhibition et la haute sensibilité des souches.

Résultats et Discussion

Nos extraits d'origan ont également révélé un important effet inhibiteur sur la sporulation des isolats de *Fusarium* spp., les spores étaient parfois absentes ou rares sous l'effet des polyphénols et de l'huile essentielle. Nos résultats concordent donc, avec ceux prouvés par Oussalah en 2007 qui, a affirmé que les huiles essentielles agissent sur la biomasse et, la production des pseudomycélium. Comme, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

L'effet inhibiteur des mêmes extraits a été également confirmé sur la germination des trois isolats de *Fusarium* spp. étudiés. Dans le même contexte, Mebarki (2016) a souligné l'important effet inhibiteur des molécules extraites des plantes telles que: *Anvillea radiata*, *Bubonium graveolens* et *Cotula cinerea* sur la germination des conidies de *Fusarium oxysporum* (100%).

Les modifications structurales induites par les extraits d'*Origanum glandulosum* sur la morphologie des isolats de *Fusarium* spp. se résument par une fragmentation ou lyse mycélienne, une réduction du diamètre du thalle, une digestion du contenu mycélien et celui des conidies, ainsi qu'une déformation des conidies. Ces modifications expliquent le pouvoir inhibiteur des extraits sur les paramètres de croissance étudiés. Ces résultats concordent avec plusieurs travaux bibliographiques. Bouchra et al. (2003) ont révélé l'effet toxique des composants des extraits de plantes sur la fonctionnalité et la structure de la membrane cellulaire, traduites par la lyse du mycélium et la digestion du contenu des conidies empêchant ainsi leur germination et leur croissance.

Sharma et Tripathi (2006) ont également traduit la lyse et la vésiculation du mycélium par l'activité antifongique des huiles essentielles et des extraits polyphénoliques, conduisant à la sortie des inclusions cytoplasmiques, la perte de la rigidité de la paroi cellulaire, aboutissant à sa fragmentation et à la destruction du champignon.

A l'issue de cette étude, l'huile essentielle et les deux extraits polyphénoliques I et II de notre échantillon d'Origan ont présenté un potentiel antifongique intéressant vis-à-vis des trois isolats de *Fusarium* spp. étudiés mais, leur reprise de croissance mycélienne après repiquage sur milieu PDA a confirmé leur activité fongistatique. Ceci peut être expliqué par l'épuisement de la fraction volatile ou la production des structures de résistance aux extraits par les isolats.

Ces résultats coïncident avec ceux obtenus par Mohammedi et al. (2011) dont, l'effet fongistatique des extraits de plantes testés sur les moisissures telles que, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium* spp., *Aspergillus flavus* et, *Alternaria* sp. n'a duré que 48h.

*Conclusion et
Perspectives*

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail vise la recherche d'une méthode biologique alternative aux fongicides chimiques par les extraits préparés à partir d'une espèce d'origan «*Origanum glandulosum*», pour une meilleure conservation de l'orge au cours du stockage et en culture hydroponique comme fourrage, en termes de sécurité alimentaire et de durabilité.

Les extraits sont représentés par une émulsion, préparée à base du mélange de son huile essentielle extraite par hydrodistillation et une solution d'eau -agar à 0,2%, trois extraits éthanoliques I, II et III préparés par macération dans l'éthanol selon la méthode d'épuisement, l'hydrolat pur récupéré de l'hydrodistillation et un autre préparé par dilution aqueuse à 5% et l'extrait aqueux pur préparé par décoction et un autre dilué à 5%.

En effet, les rendements ont été calculés pour les huiles essentielles, les polyphénols totaux et les flavonoïdes. De même, les teneurs ont été également déterminées selon des méthodes appropriées pour les deux derniers extraits.

L'activité antifongique a été évaluée *in vitro* séparément pour l'ensemble des extraits de la plante étudiée selon la méthode de contact direct vis-à-vis de trois isolats de *Fusarium* spp. Décrits précédemment. Elle a porté sur le pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne, de la sporulation et, de la germination. Cette étude a été complétée par la recherche d'éventuels changements affectant la morphologie des isolats fongiques induits par les extraits testés ainsi que la survie des isolats préalablement par les extraits de la plante étudiée.

Les extraits éthanoliques de la plante étudiée ont enregistré en moyenne un rendement avoisinant 6,30% avec une teneur de 580,91mg EAG /g MS et 29,03mg EC Q /g de flavonoïdes. L'extraction par hydrodistillation a donné un rendement en huile essentielle avoisinant 1,43%.

Une variabilité dans l'inhibition de la croissance mycélienne a été enregistrée selon les isolats de *Fusarium* spp. (F3, F4 et F5) et selon les extraits préparés à partir de l'espèce d'Origan étudiée.

Le plus important pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne des trois isolats fongiques étudiés a été révélé respectivement par HE1% (90.17 %), les extraits éthanoliques II (86.83%), et I2 (81.01%).

Le pouvoir inhibiteur des extraits sur la sporulation des isolats de *Fusarium* spp. a fait ressortir d'importants taux d'inhibition enregistrés respectivement comme suit:

L'extrait éthanolique II (83.050%), l'HE à 1% et l'extrait éthanolique I (100%) vis-à-vis de l'isolat F3.

Conclusion et Perspectives

L'extrait éthanolique II (97.29%), l'extrait éthanolique I (99.93%) et l'HE à 1% (100%) vis-à-vis de l'isolat F4.

L'extrait éthanolique II(88.03%) et, l'extrait éthanolique I (88.89%), ainsi que l'HE à 1% (100%) vis-à-vis de l'isolat F5.

Les conidies prélevées des cultures développées Après 21 jours d'incubation et mises à germer dans les différentes solutions préparées à base d'extraits de la plante d'origan étudiée ont montré une inhibition complète de la germination des conidies des trois isolats fongiques étudiés seulement sous l'effet de l'huile essentielle à 1% et seulement sur l'isolat F3 sous l'effet des extraits éthanoliques I et II.

Il en ressort de cette étude, un important potentiel inhibiteur enregistré par l'huile essentielle à 1% et, les extraits éthanoliques I et II sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination. Les composants chimiques de ces extraits sont responsables de la lyse, et la digestion du contenu cellulaire des isolats fongiques étudiés, ce qui explique la potentialité de réduction de leur inoculum particulièrement l'huile essentielle. En revanche la reprise de la croissance mycélienne des trois isolats fongiques étudiés (F3, F4, F5) préalablement inhibés par les extraits testés explique le développement des structures de résistance par les isolats fongiques étudiés, ce qui a permis leur survie après repiquage sur milieu PDA frais. Malgré la confirmation du potentiel fongistatique, ces extraits restent toujours intéressants comme solutions biologiques vis-à-vis de ces moisissures car, la culture de l'orge fourrager dans la chambre hydroponique dure sept jours, alors que la survie n'a été notée qu'après trois semaines d'incubation.

Ces résultats sont donc utiles et encourageants. Ils ouvrent plusieurs portes à la recherche et nous incitent à la connaissance d'autres perspectives de la plante pour explorer son potentiel dans la conservation des produits agro-alimentaires.

Il serait donc, intéressant de compléter ce travail par :

- Etude de la composition chimique de l'huile essentielle et des extraits polyphénoliques d'*Origanum glandulosom*,
- Identification des molécules bioactives sur les moisissures toxigènes de l'orge,
- Etude de l'activité antifongique *in vivo* de son huile essentielle et de ses polyphénols sur le pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* spp.,
- Rechercher leurs modes d'application les plus adéquats en vue de leur utilisation dans les lieux de stockage et dans les chambres hydroponiques,
- Rechercher d'autres plantes à potentialités biofongicides utiles pour la conservation et l'hydroponie.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

1. **Abderrazak M. et Joël R., 2007.** La botanique de A à Z. Ed. Dunod, Paris., 177 p.
2. **Alvarez C.L., Somma S., Moritti., et Fernandez – Pinto v .,2009** .agressivnesse of *Fusarium graminearum sensustrico* isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of phytopathology*, 158: 173-181.
3. **Arvy M.P. et Gallouin F., 2003.** Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p.
4. **Association française de normalisation (AFNOR), 2000.** Recueil des Normes Françaises «huiles essentielles ». Tome 2 : Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. AFNOR, Paris.
5. **Baba Aissa F., 1991.**Les plantes médicinales d’Algérie : identification, description, principes aetifs, propriétés et usage traditionnel des plants communes en Algérie.Ed. Bouchène et Ad. Diwan,Alger, 121p.

-B-

6. **Bahorun T., 1997.** Substances naturelles actives. La flore Mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius., 83- 94p.
7. **Bahri_Sahloul,R.,Annar,S.,Fredj , R.,Saguem,S.,Grec,S.,Trotin,F.,and Skhiri,F.(2009).**polyphenol contents and antioxi-dant activites of extracts from flowers of two *Crataegus azarolus* L.varieties."Pakistan journal of biological science,12(9). 660.
8. **Baser K.H.C. et Buchbauer G., 2010.** Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications.Ed. Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Forid, USA.
9. **Bekhechi C., Atik-Bekkara F. et AbdelouahidD., 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d’*Origanum glandulosum*d’Algérie. *Phytothérapie*,6 : 153-159.
10. **Belabid L., L. Si Moussaet B. Bayaa, 2010.** Effect of some plant extracts on the population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, the causal organism of lentil wilt. *Advances in Environmental Biology*, 4 (1): 95-100.
11. **Belaiche P., 1979.** Traité de phytothérapie et d’aromathérapie. Tome 1 : l’aromatogramme. Ed. Maloine, Paris.

Références Bibliographique

12. **Belhattab R., Larous L., Figueiredo, A. C., Santos, P. A. G., Barroso, J. G. et Pedro, L.G. (2005).** *Origanum glandulosum* Desf. grown wild in Algeria: essential oil Composition and glycosidic bound volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*. **2**:209_212.
13. **Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. and Exarchou V. (2004).** Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Food, Agriculture & Environment* Vol.2 (1), pp. 69-73.
14. **Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Boskou D. et Exarchou V., 2004.** Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Journal of Food Agriculture & Environment*, **1**: 69-73.
15. **Belyagoubi L, (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures des détériorations des céréales .Thèse de doctorat. P 41.
16. **Ben Arfa A., Combes S., Preziosi-Belloy L., Gontard N. and Chalier P., 2006.** Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology*, **43**(2): 149-154.
17. **Ben abdel kader T., 2012.** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de Doctorat : Biologie et Ecophysiologie Végétale. Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger / Université Jean Monnet de Saint Etienne, Alger et Saint Etienne, 259 p.
18. **Bendahou M., Muselli A., Dubois M.G., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F., Costa J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry* **106**: 132-139.
19. **Bendahou M., Muselli A., Grignon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert J-M., Bernardini A-F. et Costa J., 2008.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Des f. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, **106**: 132–139.
20. **Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaili-alaoui M. et Ayadi A., 1986.** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*. **20**: 155-167.
21. **Boizot N. et Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en Composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le cahier des techniques de l'INRA*: 79-82.
22. **Bouchra C., Achouri M., Idrissi Hassani L.M., Hmamouchi M., 2003.** Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils of Seven Moroccan Labiatae

Références Bibliographique

- Against *Botrytis cinerea* Pers: Fr.J. *Ethnopharmacol.*, 89(1):165-9. doi: 10.1016/s0378-8741(03)00275-7.
23. **Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L.M.I., Hmamouchi, M., 2003.** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea*. *Pers. J. Ethnopharm*, 89, 165–169.
24. **Bouda H., L.A. Taponjoui, D.A. Fontem , M.Y.D. Gumedzoe , 2001.** Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*. v.37
25. **Bourkhiss M., M. Hnach, B. Bourkhiss, M. Ouhssine and A. Chaouch, 2007.** Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique Science*, 03(2): 232-242.
26. **Bozin B., Mimica-Dukic N., Anackov G., Zlatkovic B. et Igic R., 2006.** Variability of content and composition of *Mentha aquatica* L. (Lamiaceae) essential oil in different phenophases. *J. Essent. Oil Bear. Pl.*,9(3):223-9.
27. **Bravo L., 1998.** Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*,56(11):317-333.
28. **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes Médicinales. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
29. **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, 623p.
30. **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
31. **Buchanan B.B., Gruissem W. et Jones R.L., 2000.** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, MD., 1367p.
32. **Burt S., 2004.** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods– a review. *Int. J. Food Microbiol.*,94: 223–253.

-C

33. **Capectka E., Mareczek A., Leja M. (2005).** Antioxydant activity of fresh and dry herbs of omelamiaceae species. *Food chemistry*,9:223-226.
34. **Cheng S.S., Liu J.Y., Chang E.H. et Chang S.T., 2008.** Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresour.Technol*,99(11):5145-5149.

Références Bibliographique

35. **Cosentino S., Tuberoso C.I., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. et Palmas F., 1999.** *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.*,29 (2):103-105.
36. **Cowan M.M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.*,12(4):564- 582.
37. **Crozier A., Clifford M.N. et Ashihara H., 2006.** Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Ed. Blackwell Publishing Ltd, UK

-D-

38. **Dacosta Y., 2003.** Les phytonutriments bio actifs: 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta. Paris.
39. **Daglia M., 2012.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.*,23(2):174- 181.
40. **Dauzart Albert., Dubois J., Mitter H., (1971).** Nouveau dictionnaire étymologique et historique, Librairie Larousse, France, 1971.

41. **Delille I. (2007).** Les plante médicinales d'Algérie. Berti édition. Alger p 179.
42. **Dellile L., 2007.** Les plantes médicinales d'Algérie. Berti, Alger, 240p.
43. **Derbel et Ghedira, (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé *.In phytothérapie et nutrition.1* : 28-34.
44. **Diallo,D.,Sanogo,R ., Yasambou, H.,Traoré, A., Coulibaly,R&Maiga.(2004).**Etude des constituants des feuilles de *Ziziphusmauritiana* Lam (Ramnaceae).Utilisées traditionnellement dans le traitement des diabètes au Mali.C.R.Chimie.7 : 1073-1080.
45. **Dixon R.A., Dey P.M. et Lamb C.J., 1983.** Phytoalexins: Enzymology and molecular biology. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*,55: 1-136.
46. **Doohan F., Brennan J. and cookie B., 2003.** influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journale of Plant Pathologie.*
47. **Dubios J., Mitterrand H., Danzat A., (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du Français. Larousse.

48. **Dubois G.E., Grosbay G.A. etSaffron P., 1977.** Non-nutritive sweeteners: Taste-structure relationships for some new simple dihydrochalcones. *Science.*,195: 397-399.

-E-

49. **El Gharras H., 2009.** Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *Int.J. Food Sci. Technol.*,44(12):2512-2518.

Références Bibliographique

50. **Ernest S., Grace D.(2001)**. Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid. *NRC RsearchPress*.193.
51. **EUFIC (2009)**. Fiche d'information : les céréales complètes. Version électronique disponible sur : <http://www.eufic.org/article/fr/expid/cereales-completes/>

-F-

52. **Fandohan P., Gbenou J. and Gnonlofin B. 2004-** Effet of essential oil on the growth of Fumonisin contamination in corn.*J. Agric. Food Chem.*; 52: pp. 6824-6829
53. **Fatope M.O., A. Mann , Y. Takeda, 1995.** Cowpea weevil bioassay: A simple pre-screenfor plants with grain protectant effects. *Int'J.Pest Management*.
54. **Figueredo G., 2007.** Etude chimique et statistique de la composition d'huiles esstntielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.

-G-

55. **Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A.M., 2001.** Le préparateur en pharmacie.Dossier 2 : Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec &Doc,Lavoisier, Paris.
56. **Granados –Covarrubias E.H. et Maldonado L.A.(2009).**A Wacker Cook synthesis of isoflavones : formononetine *Tetrahedro Letters* . **50**:1542 -1545.
57. **Graniti A., 1992.** Phytotoxins and their involvement, plant disease, 41:751-755
58. **Guenther J And F. Trail, 2005.** The developement and differntiation of Gibberellazeae (anamorph : *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat *Mycologia* 97(1) : 229- 237

-H-

59. **H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi,M. Boulaaba and C. Abdelly.** Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. *Compt. Rend.Biol. Vol. 331.* (2008). pp. 372-379
60. **Hadi M.(2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat. Option Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg.155 p.
61. **Hawksworth D. L., B. C. Sutton and G. C. Ainsworth, 1983.**Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi, 7th ed. Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England.

-I-

Références Bibliographique

62. **Ichinoe M., H. Kurata, Y. Sigiura and Y. Ueno, 1983.** Chemotaxonomy of *Gibberella zeae* with special reference to production of trichothecenes and zearalenone. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46: 1364-1369
63. **Ietswaart J. H., (1980).** A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae) These Doc. Leiden Botanical series 4, Leiden University Press, the Hague
64. **Inouye S., Tsuruoka T., Uchida K., Yamaguchi H., 2001.** Effect of sealing and tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. *Microbiol Immunol*, 45: 201-208.

-K-

65. **Keller S.E., Sullivan T.M. and Chirtel S., 1997.** Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1 : oxygen and pH. *Industrial Microbiology Biotechnology*, 19 : 305-309
66. **Korukluoglu ,M., Gurbuz ,O., SAHAN ,Y., (2009).** Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum Onites* L. Essential oils and extracts. *Journal of food safety*, 29 (1), 144-161.
67. **Kotan R., Cakir A., Dadasoglu F., Aydin T., Cakmakci R., Ozer H., Kordali S., Mete E. et Dikbas N., 2010.** Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. *J. Sci. Food Agric.*, 90:145–160.
68. **Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A. & Abdelly C., 2008.** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C. R. Biol.* **331**: 865–873.

-L-

69. **Lamaison, J., Carnat, A., and PETITJEAN-FREYET, C. (1990)** . "Teneur en Tanins et Activité inhibitrice de l'élastase chez les Rosaceae". et Annales pharmaceutiques françaises.
70. **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., et Carde J .P., 1994.** Biogénèse des monoterpènes, Localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 133:69-78.
71. **Lapornik, B., Prosek, M., et Wondra A.G., (2005).** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*. 71: 214-222

Références Bibliographique

72. **Leonard E., Yan Y. et Koffas M.A., 2008.** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.*,8:172-181.
73. **Leong L.P. et Shui G., 2002.** An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.*,76:69-75.
74. **Lion T., 2017.** Human fungal pathogen identification: Methods and protocols Vol 1508. Springer Science+ Business Media, New York, 453 p.
75. **Lucchesi M. E., 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72 p.
76. **Lutge U., Kluge M. & Bauer G., 2002.** Botanique 3 ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris., 211p.

-M-

77. **Macheix J.J., 1996.** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?. *Acta bot. Gallica.*,143 (6):473-479.
78. **Macheix J.J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses poly technologiques et universitaires romandes, Collection Biologie, Lausanne., 192p.
79. **Mahanta J.J., Chutia M., Bordoi M., Pathak M.G., Adhikary R.K., 2007.** *Cymbopogon citratus* L. essential oil as a potential antifungal agent against key weed moulds of *Pleurotus* spp. *Spawns. Flavour Fragrance Journal*, 22: 525-530.
80. **Manach C., Mazur A. et Scalbert A., 2005.** Polyphenols and prevention of Cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol.*,16:1-8.
81. **Middleton E., Kandaswami C. Et Theoharides T.C., 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.*,52: 673-839.
82. **Möller K., 2008.** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Ed. UNICO, Paris.
83. **Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbled M., 1998.** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. Ed. INRA, Paris.
84. **Muanda F.N, 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante Et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, université Paul Verlaine, Metz .France.

Références Bibliographique

-N-

85. **Nacz M. et Shahidi F., 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, 1054: 95-111.
86. **Nelson P. E., 1992.** Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *My copathologia* 117:29-36.
87. **Nelson P. E., T. A. Toussoun and W. F. O. Marasas, 1983.** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park.

-O-

88. **O’Kennedy R. Et Thornes R.D., 1997.** Coumarins: biology, applications and mode of action. Ed. John Wiley & Sons Inc., New York
89. **Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer –Zarawska E. et Swiader K. (2007).** Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry* .100: 579 –583.
90. **Oukil N., Bedjou F., Maiza-Benabdesselam F. & Chibane M., 2011.** Antioxidant activity and separation of phenolic compounds of *Origanum glandulosum* from north Algeria by high performance liquid chromatography (HPLC). *Afr. J. Biotechnol.* **10(17)**: 3451-3454.
91. **Owen P.L. and Johns, T., (1999).** Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnopharmacol.* **64**: 149-160.

-P-

92. **Pandey D. K., N.N. Tripathi, R.D. Tripathi and S.N. Dixit, 1982.** Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *H. suaveolens*. *The Journal of Plant Diseases and Protection*, 6: 344-349.
93. **Paris M. et Hurabielle M., 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1: généralités, monographies. Ed. Masson, Paris.
94. **Paster N., Menasherov M., Ravid U. & Juven B., 1995.** Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking store grain. *J. Food Protect.* **58**: 81–85.

Références Bibliographique

95. **Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès science. EPFL, Lausanne, Suisse.
96. **Platzer N., 2002.** Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier : P1092, vol. TA1.
97. **Prandini A., S. Sigolo, G. Tansini, N. Brogna and G. Piva, 2007.** Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 472–479
98. **Prieur C., Rigaud J., Cheynier V. et Moutounet M., 1994.** Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36(3):781-784.

-Q-

99. **QUEZEL, P. et SANTA, S., (1962-1963):** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques. Tome 2, *CNRS*, Paris. 1170 pages
100. **Quézel, p. et Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.
101. **Quizel P., Sania S. et Schotter O. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales tom III. Ed du centre national de la recherche scientifique. France. pp 767-770 ; 819-822.

-R-

102. **Rahal Bouziane H., 2015.** Caractérisation agro-alimentaire des orges (*Hordeum vulgare* L.) cultivé dans les oasis de la région d'Adrar, Algérie. Thèse de magister en science agronomique. Institut nationale d'Agronomie, Adrar Algérie, 114 p
103. **Rahbar N., Shafaghat A. & Salimi F., 2012.** Antimicrobial activity and constituents of the hexane extracts from leaf and stem of *Origanum vulgare* L. ssp. *Viride* (Boiss.) Hayek. growing wild in Northwest Iran. *J. Med. Plants Res.* **6(13):** 2681-2685.
104. **Remmal A., T. Bouchikhi, k. Rhayour, M. Ettayebi and A. Tantaoui-Elaraki, 1993.** Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2): 179-184.

Références Bibliographique

- 105.Ribereau-Gayon. (1968).** Notions générales sur les composés phénoliques. In « Les Composés phénoliques des végétaux ». *Ed Dunod*, 1-27.
- 106.Roby M. H. H., M.A. Sarhan, K.A.H Selim and K.L Khalel, 2013.** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare*L.) and chamomile (*Matricariachamomilla*L.). *Industrial Crops and Products*, 44: 437-445.110.
- 107.Romani, A., Pineli, C., Cantini, A., Cimato, and D., Heimler., (2006).** Characterization of violetto di Toscana, typical Italian variety of artichoke (*Cynarascolymus* L). *J. Food Chem.* Vol. 95.pp: 221_225.
- 108.Ruberto, G., Tiziana Baratta, M., Sari, M. et Kaabeche M. (2002).** Chemical Composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Des f. *Flavour and fragrance journal.* **4**: 251-254.

-S-

- 109.Sagdicet Ozcan. (2003).** Antibacterial activity of turkish spice hydrosols. *Food control.* 14-141-143.
- 110.Sahin, F., Gulluce , M. , Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou M.Agar, G.et Ozer, H.(2004).** Biological activities of the essential oil and Methanol extract of *Origanum vulgare ssp. vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control.* **15** :549-557.
- 111.Salzer U.J., 1977.** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*,9:345-373.
- 112.Sari M., Biondi Daniela M., Kaabeche, M., Mandalari G., D'arrigo M., BisignanoG., Saija A., Daquino C. et Ruberto G., 2006.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Des f. *Flavour and Fragrance Journal.* **6**: 890-898
- 113.Satrani B., M. Ghanmi, A. Farah, A. Aafi, H. Fougrach, B. Bourkhiss et M. Talbi, 2007.** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 146: 85-96.
- 114.Sawai J. and Yoshikawa T., 2004.** Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *Journal of Applied Microbiology*, 96(4): 803-809.
- 115.Serrano M., Martinez-Romero D., Guillen F., Valverde J. M., Zapata P.J., Castillo S. & Valero D., 2008.**The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends Food Sci. Tech.*,19:464- 471.

Références Bibliographique

- 116. Sharma N. and A. Tripathi , 2008.** Effects of *Citrus sinensis*(L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*(L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, 163: 337-344.
- 117. Sharma N., Tripathi A. 2006.** Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6):587- 593.
- 118. Si Moussa L., L. Belabid, A. Tadjeddine , M. Bellahcene and B. Bayaa , 2010.** Effect of some Botanical Extracts on the Population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albiedinis*, the Causal Agent of Bayoud Disease in Algeria. *Arab Journal of Plant Protection*, 28: 71-79
- 119. Simpson D.R., G.F. Weston, J.A. Turner, P. Jennings, P. Nicholson, 2004.** Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and Consequences for mycotoxin contamination of grain. *European journal of plant Pathology*. 107:421-431
- 120. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144– 153.
- 121. Sokmen A., Jones B.M. et Erturk M., 1999.** The *in vitro* antibacterial activity of Turkish plants. *J. Ethnopharmacol.*, 67: 79–86.
- 122. Spiridon L., Bodirlau R., Teaca C A . (2011)** . Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biologie*. 8:388-396.
- 123. Sutour S., 2010.** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de Doctorat, université de Corse, France.

-T-

- 124. Teuscher E., Anton R. et Lobstein A., 2004.** Plantes aromatiques: Epices, aromates condiments et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- 125. Tomi F., Bradesi P., Bighelli A. et Casanova J., 1995.** Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.*, 1:25-34.
- 126. Tsai P.J., Tsai T.H. et Ho, S.H.(2007).** In vitro inhibitory effects of rosemary extract on growth and glycosyl transferase activity of *Streptococcus sotorinus*. *Food Chemistry*.

-V-

Références Bibliographique

127. **Venturini. N.; ChrKF .; Desjobert; J.M.; Karp; D.; Paolini, J.; (2010).**Chemo taxonomic investigations of peel and petit grain essential oils from 17citronncultivrs; chemistry and biodiversity: 736-751.

-X-

128. **Xia E.K.Deng G.F., Guo Y.J. et Li H .B.(2010).** Biological Activities of Polyphénols from Grapes .*International Journal of Molecular Sciences*. **11** : 622-646.

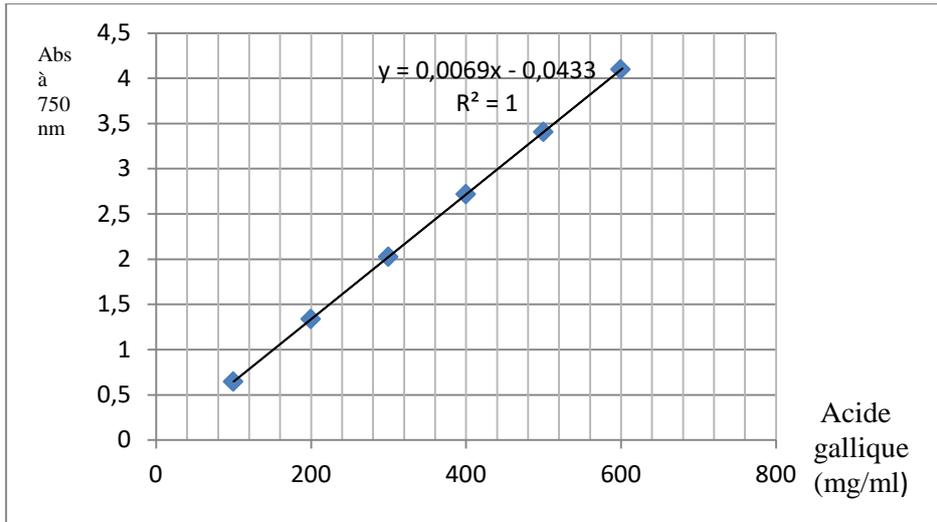
-Y-

129. **Yano E. M., L.A. Bastian, S.M. Frayne, A.L. Howell, L.R. Lipson et al., 2006.** Toward a VA women's health research agenda: Setting evidence-based priorities to improve the health and health care of women veterans. *Journal of General Internal Medicine*. 21 (Suppl. 3), S93–S101.
130. **Yuan Y., M. Huang, Y. X. Pang., F.L. Yu, C. Chen, L.W. Liu, Z.X. Chen, Y.B. Zhang, X.L. Chen and X. Hu, 2016.** Variations in essential oil yield, composition, and antioxidantactivity of different plant organs from *Blumeabalsamifera* (L.) DC. at different growthtimes. *Molecules*, 21(8): 1024-1032.

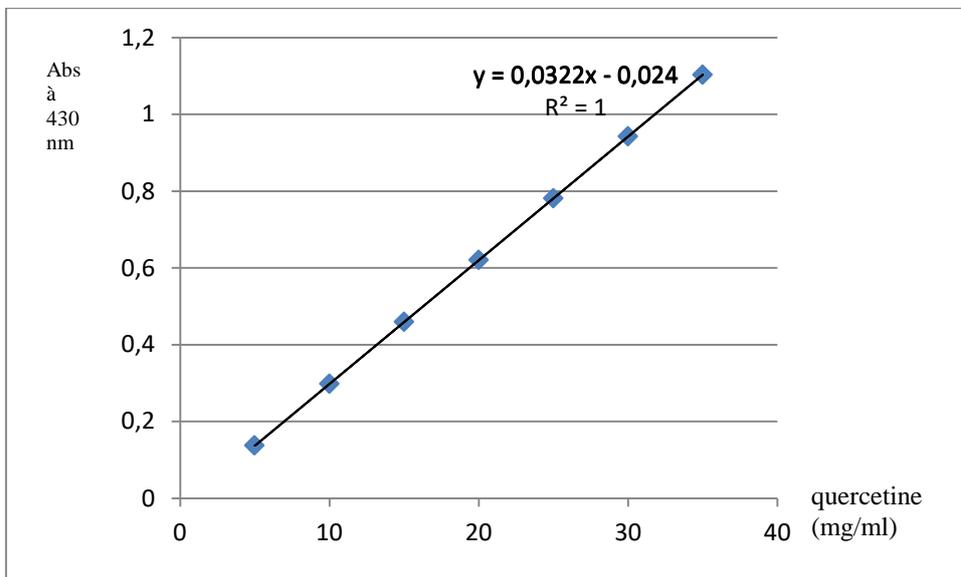
Annexes

Annexes

Annexe 1: courbe d'étalonnage des polyphénols



Annexe 2: courbe d'étalonnage des flavonoïdes



Annexe 3: Préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar, agar de dextrose de pomme de terre) selon Ismaili et al. (2014)

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

Annexes

Annexe 4: Préparation de la solution d'Agar-agar solution d'Agar-agar dans de l'eau à 0,2%, en pesant 2 g d'agar-agar auxquels est ajouté 1 L d'eau distillée. La solution est stérilisée à l'autoclave à 100 KPa pendant 20 minutes.

Annexe 5: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance par le test Test de fisher selon les isolats fongiques (P1)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	30218.700	4316.957	27.459	< 0,0001
Erreur	16	2515.395	157.212		
Total corrigé	23	32734.095			

Annexe6: Tukey HSD (Honestly Significant Different), Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (Taux d'inhibition des myciliennes)

Contraste	Différence	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
HE1% vs H5%	85.317	3.462	< 0,0001	Oui
HE1% vs EA5%	85.160	3.462	< 0,0001	Oui
HE1% vs EAP	79.683	3.462	< 0,0001	Oui
HE1% vs R3	69.777	3.462	< 0,0001	Oui
HE1% vs HP	51.793	3.462	0.002	Oui
R2 vs H5%	81.977	3.462	< 0,0001	Oui
R2 vs EA5%	81.820	3.462	< 0,0001	Oui
R2 vs EAP	76.343	3.462	< 0,0001	Oui
R2 vs R3	66.437	3.462	0.000	Oui
R2 vs HP	48.453	3.462	0.004	Oui
R1 vs H5%	76.157	3.462	< 0,0001	Oui
R1 vs EA5%	76.000	3.462	< 0,0001	Oui
R1 vs EAP	70.523	3.462	< 0,0001	Oui

Annexes

R1 vs R3	60.617	3.462	0.000	Oui
R1 vs HP	42.633	3.462	0.013	Oui
Valeur critique du d de Tukey :		4.896		

Annexe7: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance par le test de fisher selon les isolats fongiques(P2)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr> F
Modèle	2	819.086	409.543	0.269	0.766
Erreur	21	31915.009	1519.762		
Total corrigé	23	32734.095			

Annexe8: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par leTest de fisher selon l'isolat fongique F3 (P1)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr> F
Modèle	7	17993.598	2570.514	11.943	0.001
Erreur	8	1721.805	215.226		
Total corrigé	15	19715.403			

Annexes

Annexe9: Tukey HSD (Honestly Significant Different), Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (Taux d'inhibition des sporulations F3)

Contraste	Différence	Valeur critique	Pr> Diff	Significatif
EA5% vs HE1%	-85.945	3.957	0.005	Oui
EA5% vs R1	-85.945	3.957	0.005	Oui
EA5% vs R2	-68.995	3.957	0.020	Oui
H5% vs HE1%	-76.380	3.957	0.011	Oui
H5% vs R1	-76.380	3.957	0.011	Oui
H5% vs R2	-59.430	3.957	0.044	Oui
EAP vs HE1%	-71.855	3.957	0.016	Oui
EAP vs R1	-71.855	3.957	0.016	Oui
R3 vs HE1%	-67.840	3.957	0.022	Oui
R3 vs R1	-67.840	3.957	0.022	Oui
HP vs HE1%	-62.745	3.957	0.033	Oui
HP vs R1	-62.745	3.957	0.033	Oui
Valeur critique du d de Tukey		5.596		

Annexes

Annexe10: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le Test de Fisher selon l'isolat fongique F3 (P2)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	352.031	352.031	0.255	0.622
Erreur	14	19363.371	1383.098		
Total corrigé	15	19715.403			

Annexe11: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le Test de Fisher selon l'isolat fongique F4 (P1)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	20742.147	2963.164	16.794	0.001
Erreur	8	1411.560	176.445		
Total corrigé	15	22153.707			

Annexes

Annexe12: Tukey HSD (Honestly Significant Different), Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (Taux d'inhibition des sporulations F4)

Contraste	Différence	Valeur critique	Pr> Diff	Significatif
EA5% vs HE1%	-86.785	3.957	0.003	Oui
EA5% vs R1	-86.715	3.957	0.003	Oui
EA5% vs R2	-84.080	3.957	0.003	Oui
H5% vs HE1%	-77.010	3.957	0.006	Oui
H5% vs R1	-76.940	3.957	0.006	Oui
H5% vs R2	-74.305	3.957	0.007	Oui
EAP vs HE1%	-73.680	3.957	0.007	Oui
EAP vs R1	-73.610	3.957	0.007	Oui
EAP vs R2	-70.975	3.957	0.009	Oui
R3 vs HE1%	-69.490	3.957	0.011	Oui
R3 vs R1	-69.420	3.957	0.011	Oui
R3 vs R2	-66.785	3.957	0.013	Oui
HP vs HE1%	-64.235	3.957	0.017	Oui
HP vs R1	-64.165	3.957	0.017	Oui
HP vs R2	-61.530	3.957	0.022	Oui
Valeur critique du d de Tukey :		5.596		

Annexes

Annexe 13: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le Test de Fisher selon l'isolat fongique F4 (P2)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	833.621	833.621	0.547	0.472
Erreur	14	21320.085	1522.863		
Total corrigé	15	22153.707			

Annexe 14: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le Test de Fisher selon l'isolat fongique F5 (P1)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	7	18914.385	2702.055	7.422	0.006
Erreur	8	2912.657	364.082		
Total corrigé	15	21827.042			

Annexe 15: Tukey HSD (Honestly Significant Different), Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (Taux d'inhibition des sporulations F5)

Contraste	Différence	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
EA5% vs HE1%	-90.550	3.957	0.019	Oui
EA5% vs R1	-79.445	3.957	0.039	Oui
EA5% vs R2	-78.585	3.957	0.041	Oui
H5% vs HE1%	-80.935	3.957	0.035	Oui
Valeur critique du d de Tukey :		5.596		

Annexes

Annexe16: Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation par le Test de Fisher selon l'isolat fongique F5 (P2)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	1	547.911	547.911	0.360	0.558
Erreur	14	21279.131	1519.938		
Total corrigé	15	21827.042			

Annexes

Annexe17: Modifications structurales induites par les extraits d'*Origanum glandulosom* sur la morphologie des isolats de *Fusarium* spp.

	HE1%	HP	H5%	EAP	EA5%	R1	R2	R3	T
F3	Reduction du diamètre, Digitation du contenu, Lyse, déformation macro et micro conidie	Mycelium septé Présence des micro et macro conidie normal,	Mycelium septé Normal, déformation des micro conidie	Mycelium Septé, un peu Déformation Des Micro conidie	Mycelium Septé, Présence des Macro et micro conidie normal	Reduction Du diamètre, Lyse, Déformation Macro et Micro Conidie	Digitation Du contenu, Fragmentation, Déformation Des macro et un peu des Micro conidie	Mycelium septé un peu déformation des micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence Des macro et Micro conidie
F4	Fragmentation, Digitation du contenu, déformation des macro et micro conidie	Reduction du diamètre, Fragmentation, Un peu Déformation Des Micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des macro conidie, un peu déformation des micro conidie	Mycelium septé Normal, , un peu Déformation Des Micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des Macro et micro conidie normal	Reduction Du diamètre, Lyse, Déformation Macro et Micro Conidie	Fragmentation, Digitation du contenu, Déformation des macro et micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des Macro et micro conidie Normal Un peu déformation des micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des Macro et micro conidie normal

Annexes

F5	Fragmentation, Digitation du contenu, diformation des macro et micro conidie lyse	Reduction du diamètre, Digitation du contenu Déformation Des Micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des Macro conidie, un peu déformation des micro conidie	Mycelium Septé, un peu diformation des micro conidie	Mycelium Septé, Présence des Macro et micro conidie normal	Fragmentation, diformation des macro et micro conidie, Digitation du contenu	Digitation du contenu, Fragmentation, Reduction du diamètre diformation des macro et micro conidie	Mycelium septé Normal, déformation des micro conidie	Mycelium septé Normal, Présence des Macro et micro conidie normal
----	---	--	---	--	--	--	--	--	---

Annexe 18 :

Matériels et produit utilisés :

1. Produit chimique

Carbonate de sodium(Na_2CO_3)

Chlorure d'aluminium(AlCl_3)

Eau distillée

Éthanol 96%

Réactif Folin ciocalteu

Standards polyphenols : acide gallique, quercétine

2. Matériels

Agitateur magnétique

Autoclave,

Bain-marie (Memmert)

Balance de précision

Balance électronique

Bec bunsen,

Béchers

Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre

Broyeur électrique

Entonnoir

Entonnoirs en verre

Eppendorf

Erlenmeyers

Etuve

Flacons de 250 mL,

Hotte microbiologique

la cellule de Malassez

Micro pipette (2 μL , 10 μL , 100 μL et 1000 μL),

Milieu PDA,

Papiers filtres wattman

Pipettes

Pipettes Pasteur

Spatule métallique

Annexes

Tube à essais

Vortex.