

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université BLIDA -1-**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Biologie des Populations et des Organismes**



**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie**

**Option : Génomique et Biotechnologie Végétale**

**Thème**

**Evaluation de quelques activités biologiques  
de l'huile essentielle de l'Eucalyptus radié  
( *Eucalyptus radiata* L.)**

**Présenté par**

**Melle AHMED SERIER Asma**

**Date de soutenance**

**21/09/2016**

**jury**

<b>Mme BENMANSSOUR N .</b>	<b>MAA</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme FAIDI H .</b>	<b>MAB</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme BENASSEL N .</b>	<b>MAA</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Promotrice</b>

**Année universitaire 2015-2016**

# Remerciements

---

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'**ALLAH** qui m'a donné la force et le courage afin de l'accomplir.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à ma promotrice, Mme **Benassel N.** Maître assistante A à l'Université de Blida -1-, qui m'a fait l'honneur de m'encadrer et qui a su me conseiller et m'orienter dans la réalisation de ce travail.

Je remercie vivement les membres de jury :

- Madame **Benmansour N.**, Je suis très honorée que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et soyez assurée de ma profonde gratitude.
- Madame **Faidi H.**, votre venue en tant qu'examinatrice m'honore, je vous suis très reconnaissante et je vous adresse mes vifs remerciements.

Ce travail a été entièrement réalisé à l'Institut Nationale de la Protection des Végétaux (I.N.P.V) station régionale de Boufarik, laboratoire de myco-bactériologie et entomologie. Nombreux sont ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail. Mes remerciements vont en particulier à :

Madame **Ababsia A.**, pour m'a fait l'honneur de m'avoir accueillie dans leur laboratoire, guidé et encouragé scientifiquement tout au long de ce travail.

Melle **Bencheikh khadidja** et Melle **Saddek Dounia** pour leur aide, leur soutien, conseils précieux et leurs critiques qui m'ont aidés durant toute la période d'expériences au laboratoire. Sans oublier **Tazount N** pour son aide et sa disponibilité affichée, vous trouvez ici toutes mes expressions respectueuses.

Un immense merci à tout le personnel du S.R.P.V de Boufarik.

Un remerciement spécial est destiné à tous mes enseignants du département de biologie de l'Université de Blida.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin m'ont apportés leur soutien, leur conseil et leur contribution dans l'édification de ce mémoire, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.

## *Dédicaces*

---

*A ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par leurs prières et leurs sacrifices : Mes chers parents.*

*A mon père, en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et les efforts qu'il m'a témoigné tout le long de mes études.*

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

*Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.*

*À Mes chers frères : Oussama et Wassim.*

*Mes chères sœurs : Wissem, Ichrack et Tasnim.*

*À Tous mes oncles, mes tantes chacun par son nom.*

*Et spécialement tata Faiza, tata Bochra et Amina*

*Que vous trouvez le témoignage de ma profonde admiration et qu'Allah vous protège et vous prête la bonne santé et une longue vie.*

*Ainsi que pour toutes mes amies "Ahlem", "Akila", "Karima", "Nassima", "Meriem", "Fatima".*

*Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion de Master II Génomique et Biotechnologie Végétale, pour les sympathiques moments que nous avons passés ensemble.*



# Introduction



# Chapitre I

## Etude bibliographique



# Chapitre II

## Matériel et méthodes



# Chapitre III

## Résultats et discussion



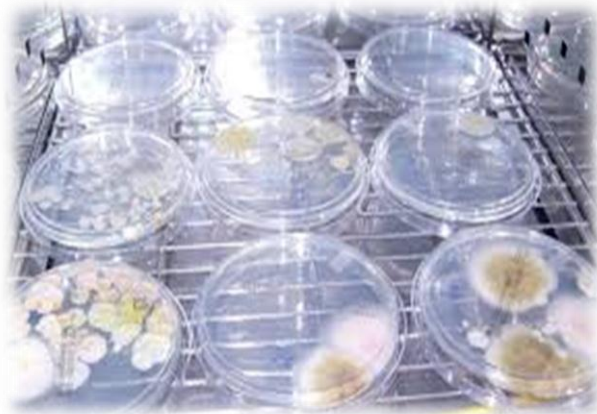
# Conclusion





# Références bibliographiques

# Annexes



## *Liste des abréviations*

---

**AGP** : Angiosperms Phylogeny Group.

**ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé.

**C.M.I** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CPG-SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

**dC** : Diamètre de colonies dans les boîtes.

**Dh** : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'HE.

**DL50** : Dose Létale pour 50 % des animaux.

**HE** : huile essentielle.

**I.N.P.V** : Institut Nationale de la Protection des Végétaux.

**M** : Pourcentage de morts dans la population traitée.

**MC** : Mortalité corrigée.

**Mt** : Pourcentage de morts dans la population témoin.

**N.A.S** : Agar Nutritif Saccharose.

**NP** : Nombre des spores dans les boîtes contenant l'HE.

**NS** : Nombre des spores dans les boîtes.

**P.D.A** : Potato Dextrose Agar.

**Probit**: Probability unit.

**SM** : Le spectromètre de masse.

**S.R.P.V** : Station Régionale de la Protection des Végétaux.

**TI** : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

**TICM** : Taux d'Inhibition de la Croissance Mycélienne.

**TINS** : Taux d'Inhibition de la Sporulation.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b>	Souches bactériennes soumises au test antibactérien.	P 13
<b>Tableau 02</b>	Souches fongiques soumises au test antifongique.	P 14
<b>Tableau 03</b>	Transformation des pourcentages de mortalité en probits.	Annexe 03
<b>Tableau 04</b>	Résultats de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i> de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> par la méthode de l'Aromatogramme.	Annexe 04
<b>Tableau 05</b>	Résultats du test de pouvoir antifongique en fonction du temps et de la concentration de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	Annexe 05
<b>Tableau 06</b>	Résultats du test de pouvoir antifongique en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	Annexe 05
<b>Tableau 07</b>	Résultats du test de sporulation en fonction des doses et concentration de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	Annexe 06
<b>Tableau 08</b>	Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des <i>Aphis spireacola</i> en fonction de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle d'Eucalyptus radié.	Annexe 07
<b>Tableau 09</b>	Analyse de la variance des moyennes de la mortalité des <i>Tuta absoluta</i> en fonction de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle d'Eucalyptus radié.	Annexe 07

## Liste des figures

<b>Figure 01</b>	Feuilles, fleurs et fruits de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 03
<b>Figure 02</b>	Chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 04
<b>Figure 03</b>	Insectes ravageurs observés sous la loupe binoculaire	P 14
<b>Figure 04</b>	Test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle par la méthode de l'Aromatogramme	P 16
<b>Figure 05</b>	Les étapes de la réalisation du test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 17
<b>Figure 06</b>	Test de l'activité antifongique de l'huile essentielle par la méthode de l'Aromatogramme	P 18
<b>Figure 07</b>	Diagramme expérimentale du test antifongique de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 21
<b>Figure 08</b>	Test d'activité bio insecticide de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i> vis-à-vis les insectes d' <i>Aphis spiraecola</i>	Annexe 02
<b>Figure 09</b>	Test d'activité bio insecticide de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i> vis-à-vis les mineuses des tomates <i>Tuta absoluta</i>	Annexe 02
<b>Figure 10</b>	Schéma représentatif de l'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> sur les deux insectes	P 23
<b>Figure 11</b>	L'effet inhibiteur de l'huile essentielle sur <i>Pectobacterium carotovorum</i> (S1)	P 24
<b>Figure 12</b>	Les zones d'inhibition en fonction des doses et concentration en huile essentielle testées vis à vis des souches bactériennes par la méthode de l'aromatogramme	P 25

<b>Figure 13</b>	Résultat du test antifongique de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i> sur <i>Fusarium graminearum</i>	P 26
<b>Figure 14</b>	Effet de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne des souches fongiques testées par la méthode de l'aromatogramme	P 27
<b>Figure 15</b>	Cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques en fonction du temps et de la concentration de l'huile essentielle	P 28
<b>Figure 16</b>	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des souches fongiques testées en fonction de différentes doses et concentrations de l'huile essentielle	P 29
<b>Figure 17</b>	Taux d'inhibition de la sporulation des souches fongiques testées en fonction de différents doses et concentrations de l'huile essentielle	P 30
<b>Figure 18</b>	Taux de mortalité (%) d' <i>Aphis spiraecola</i> en fonction du temps (h) et des concentrations de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 31
<b>Figure 19</b>	Cinétique de la croissance du taux de mortalité des insectes ( <i>Aphis spiraecola</i> ) vis-à-vis de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 32
<b>Figure 20</b>	Régression linéaire de la mortalité des <i>Aphis spiraecola</i> en fonction des concentrations de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> après 48h d'exposition	P 33
<b>Figure 21</b>	Taux de mortalité (%) de <i>Tuta absoluta</i> en fonction du temps (h) et des concentrations de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 34
<b>Figure 22</b>	Cinétique de la croissance du taux de mortalité des <i>Tuta absoluta</i> vis-à-vis de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i>	P 35
<b>Figure 23</b>	Régression linéaire de la mortalité des <i>Tuta absoluta</i> en fonction des concentrations de l'huile essentielle de l' <i>Eucalyptus radiata</i> après 48h d'exposition	P 36



# Sommaire

Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Etude bibliographique</b>	
I-1 Le genre <i>Eucalyptus</i> .....	2
I-1-1 Généralités.....	2
I-1-2 <i>Eucalyptus radié</i> .....	3
I-2 Généralités sur les huiles essentielles.....	6
I-2-1 Définition .....	6
I-2-3 Activités biologiques et méthodes d'évaluations .....	6
I-3 Agents phytopathogènes et ravageurs.....	8
I-3-1 Phytopathogènes.....	8
I-3-2 Insectes ravageurs.....	11
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
II- Matériel et méthodes.....	13
II-1 Matériel.....	13
II-1-1- Matériel végétal .....	13
II-1-2 Les phytopathogènes .....	13
II-1-3 Les insectes ravageurs .....	14
II-2 Méthodes .....	15
II-2-1 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> ...15	
II-2-1-1 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	15
II-2-1-2 Evaluation de l'activité antifongique .....	18
II-2-2 Evaluation de l'activité bioinsecticide de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i> .....	22



## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III- 1 Résultats.....	24
III-1-2 Activité antimicrobienne .....	24
III-1-2-1 Activité antibactérienne.....	24
III-1-2-2 Activité antifongique.....	26
III-1-3 Activité bio-insecticide.....	31
III- 2 Discussion.....	37
<b>Conclusion</b> .....	40
<b>Références bibliographiques</b> .....	41
<b>Annexes.</b>	

## Résumé

---

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis quatre souches bactériennes (*Pectobacterium carotovorum* (S1), *Pectobacterium carotovorum* (S2), *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* et *Erwinia amylovora*) et trois souches fongiques (*Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum* et *Colletotrichum gloeosporioides*) fournies par le laboratoire de l'I.N.P.V de Boufarik , et d'évaluer l'activité bio-insecticide vis-à-vis deux insectes (*Aphis spiraecola* et *Tuta absoluta*) de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus radiata*.

Les résultats du test antimicrobien montrent que les bactéries testées sont sensibles à l'huile (avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 6.8mm et 14,6 mm) sauf pour *Pectobacterium carotovorum* (S1) et (S2) qui se montrent résistantes à la concentration 25% et la dose de 5µl, alors que le test antifongique a révélé une inhibition 86,26 % de la croissance mycélienne avec la dose 20 µl, ce qui montre que les souches fongiques sont très sensibles.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a montré une activité insecticide importante sur les deux insectes, avec un taux de mortalité élevé 89.46% à la concentration 0.8% en huile essentielle pour *Aphis spiraecola* et 77.77% pour *Tuta absoluta*. Les valeurs de la dose létale 50 rapportées respectivement sont de 20,58 µl et 19,47 µl.

**Mots clés :** *Eucalyptus radiata*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique, inhibition, taux de mortalité, activité insecticide.

## Summary

---

The aim of our study was to evaluate the antimicrobial activity by the method of aromatogramme vis-à-vis four bacterial strains (*Pectobacterium carotovorum* (S1), *Pectobacterium carotovorum* (S2), *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* et *Erwinia amylovora*), and three fungal strains (*Botrytis cinerea*, *Fusarium graminearum* et *Colletotrichum gloeosporioide*) provided by the laboratory of the I.N.P.V Boufarik, and to evaluate the activity bioinsecticide vis-à-vis two insects (*Aphis spiraecola* and *Tuta absoluta*) of the essential oil of *Eucalyptus radiata*.

The results of the antimicrobial test show that the tested bacteria are sensitive to oil (with inhibition diameters which vary between 6.8mm and 14.6mm), except for *Pectobacterium carotovorum* (S1), *Pectobacterium carotovorum* (S2) which appear resistant to the concentration of 25% and the dose 5µl, while the antifungal test showed 86,26 % inhibition of mycelia growth with the dose 20µl, which shows that the fungal strains are very sensitive.

The essential oil of *Eucalyptus radiata* showed significant insecticidal activity on both insects, with a high mortality rate 89.46% to 0.8% concentration of essential oil for *Aphis spiraecola* and 77.77% for *Tuta absoluta*. The values of the 50 reported lethal dose respectively are 20, 58 µl and 19, 47µl.

**Keywords:** *Eucalyptus radiata*, essential oil, antibacterial activity, antifungal activity, inhibition, mortality rate, insecticidal activity.

تهدف دراستنا الى تقييم النشاط ضد ميكروبي بواسطة طريقة الانتشار باستعمال اقراص ضد اربع سلالات من البكتيريا (*Pseudomona* , *Pectobacterium carotovorum* (S2) , *Pectobacterium carotovorum* (S1) ) , وثلاث سلالات من الفطريات (*Erwinia amylovora* و *savastanoi pv* , *Botrytis cinerea* ) التي قدمت من طرف المخبر I.N.P.V لبوفاريك , و تقييم النشاط ضد الحشرات ضد الحشرتين (*Tuta absoluta* و *Aphis spiraecola* ) للزيت الاساسي ل *Eucalyptus radiata* .

اظهرت نتائج التجربة ضد الميكروبات على ان الزيت الاساسي لهذا النبات يحتوي على نشاط مضاد بكتيري ضد هذه البكتيريا المجربة ( حيث قطر التثبيط يتراوح بين 6,8 مم و 14,6 مم ) عدا بالنسبة ل *P. carotovorum* (S1) و *P. carotovorum* (S2) التي ظهرت مقاومة بالنسبة للتركيز 25 % و الجرعة 5 ميكرو لتر , عكس النشاط ضد الفطري الذي اظهر نسبة تثبيط 86,26 % من النمو الفطري بالنسبة للجرعة 20 ميكرو لتر, هذا ما يؤكد بان السلالات الفطرية جد حساسة.

الزيت الاساسي ل *Eucalyptus radiata* اظهر نشاط ضد حشري هام ضد كل من الحشرتين , حيث معدل الوفيات هو 89,46 % لجرعة 0.8 % من الزيت الاساسي بالنسبة ل *Aphis spiraecola* و 77,77 % بالنسبة ل *Tuta absoluta* . القيم المستخرجة للجرعة الفاتلة 50 هي على التوالي 20,58 و 19,47 ميكرو لتر.

**الكلمات المفتاحية :** الزيت الاساسي , النشاط المضاد للبكتيريا , النشاط المضاد للفطريات , *Eucalyptus radiata* , التثبيط , نسبة الوفيات , النشاط المضاد للحشرات .

La quête constante de l'Homme pour l'amélioration de la productivité et la réduction des coûts des produits agricoles ont eu des incidences négatives et à plusieurs niveaux. La qualité de l'environnement a été particulièrement touchée : contamination de l'eau par une utilisation intensive de produits phytosanitaires et d'engrais de synthèse, présence dans les aliments de résidus nocifs pour la santé, appauvrissement des sols de même l'application excessive des bactéricide et fongicides synthétisés favorise le développement des souches résistantes (**Mezaache, 2012**).

Face à ces problèmes, la lutte contre les microorganismes phytopathogènes est orientée vers l'utilisation des méthodes de contrôle et de protection plus bénéfiques pour l'environnement, la santé humaine et pour la plante elle-même. Cette démarche s'inscrit dans le cadre de la lutte biologique.

L'utilisation des biopesticides d'origine végétal constitue l'une des réponses satisfaisantes aux préoccupations et exigences actuelles de la lutte phytosanitaire (**Regnault et al., 2002**).

Dans ce sens, de nombreuses recherches ont porté sur l'étude de l'activité antimicrobienne (**Jazet Dongmo et al., 2009 ; Magina et al., 2009**) et l'activité insecticide (**Cheng et al., 2009**) des huiles essentielles.

Les huiles essentielles d'eucalyptus ont acquis au fil du temps une notoriété incontestable et une place de marque sur le marché mondial, en termes d'échanges commerciaux, sur les 20 plus importantes huiles essentielles commercialisées dans le monde, vu l'évolution positive de la demande mondiale de leurs domaines d'application (**Nait Achour, 2012**).

Notre travail est basé sur l'étude d'effet antimicrobien et insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* et comporte les étapes suivantes :

- Evaluation de l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* par la méthode de l'Aromatogramme.
- Evaluation de l'activité bioinsecticide vis-à-vis deux insectes *Aphis spireacola* et *Tuta absoluta*.

## I-1 Le genre d'Eucalyptus

### I-1-1 Généralités

Les Eucalyptus sont pour la plupart de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées. On dénombre aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'Eucalyptus. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'acclimater, son nom a pour origine les mots grecs : **Eu** « bien » et **kaluptos** « couvert » (**Bigendako, 2004**).

Les eucalyptus ont des feuilles persistantes. Comme les autres membres de la famille des myrtaceae, les feuilles d'eucalyptus sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre.

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauques, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant.

Les fleurs forment une petite boîte s'ouvrant par un couvercle : les étamines sont enfermées dans un étui fermé par un opercule formé par la fusion des pétales et/ou des sépales.

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge.

Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol (**Gao, 1999**).

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*E.camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donné des hybrides dont l'eucalyptus «Algériensis». Dans les années 40 et 50 les eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi-arides. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'eucalyptus ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba., Skikda), le centre (Tizi- Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (**Nait Achour, 2012**).

## I-1-2 *Eucalyptus radié* (*Eucalyptus radiata*)

### I-1-2-1 Description botanique

L'*Eucalyptus radié* (*Eucalyptus radiata*) est un arbre d'une trentaine de mètres de haut, pouvant atteindre 50 m, poussant sur les plateaux de la Nouvelle-Galles du Sud de l' Australie et dans les régions côtières de l'État de Victoria .

Son écorce est fibreuse, grise ou gris brun se détachant en longs rubans. Les petites branches sont de couleur verte.

Les feuilles sont vertes, concolores, étroites, lancéolées, terminées en pointe et mesurent 7 à 15 centimètres de long sur 0,7 à 1,5 de large. Elles dégagent une odeur de menthe poivrée lorsqu'elles sont malaxées (Figure 01).

Les fleurs sont regroupées par 11 à 20. Elles apparaissent en octobre à janvier, et sont de couleur jaune crème (Franchomme *et al.*, 2001).



**Figure 01** : Feuilles, fleurs et fruits d'*Eucalyptus radiata* (Koziol, 2015).

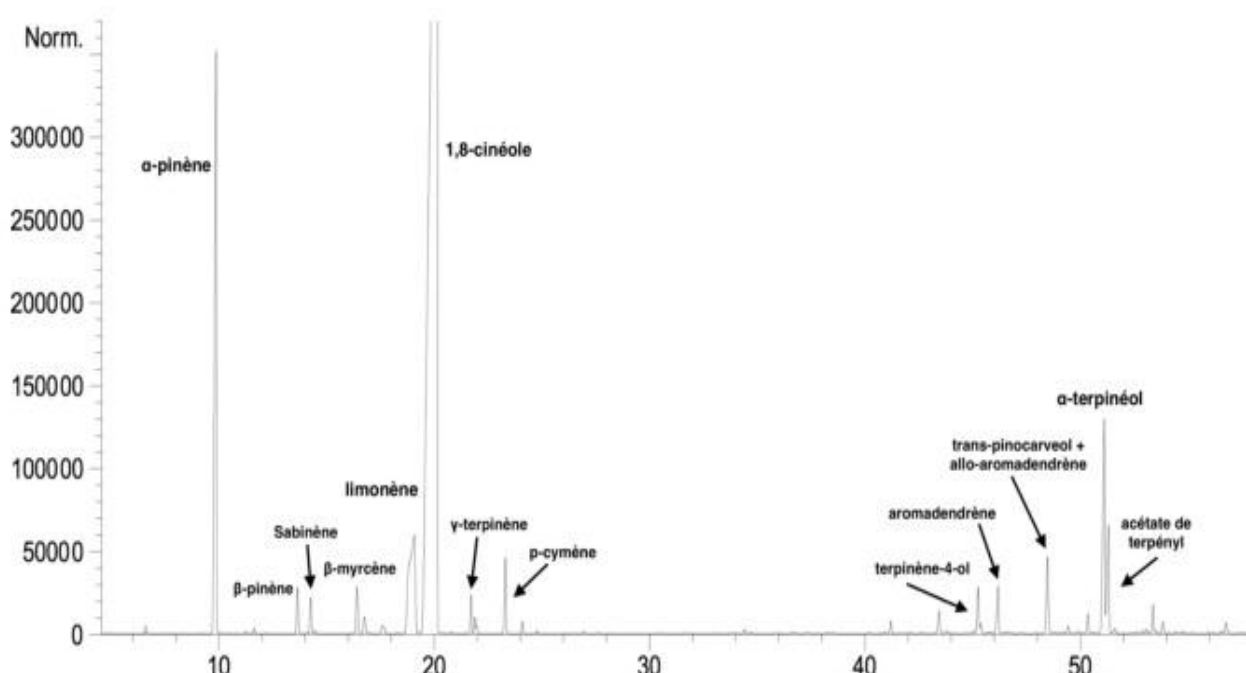
### I-1-2-2 Systématique

Selon **Guinard (2001)**, l'*Eucalyptus radiata* est classé comme suit :

Règne	Plantae
Embranchement	Phanerogames
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Rosids-Eurosids II
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus radiata</i> L.

### I-1-2-3 Composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

La chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est représenté dans la figure 02, il est principalement composé des oxydes (surtout 1,8-cinéole), monoterpènes, (surtout  $\alpha$ -pinène, limonène), monoterpénols (surtout  $\alpha$ -terpinéol), sesquiterpènes et les aldéhydes monoterpéniques (**Werner et al., 2008**).



**Figure 02 :** Chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (**Koziol, 2015**).



#### **I-1-2-4 Propriétés et indications**

Les eucalyptus possèdent toute une gamme de mécanismes d'adaptation et ont une croissance rapide, c'est ce qui leur a permis d'être la première espèce ligneuse angiosperme de reboisement industriel dans le monde. Leurs plantations ont connu un développement rapide dans les zones chaudes du globe au cours des dernières décennies (**Brown et al., 1999**).

Les huiles essentielles d'eucalyptus, commercialisées dans le monde trouvent des applications diverses grâce à sa composition chimique et à son principe actif qui est le 1,8 cinéole, elle est très recherchée pour son action antiseptique et cicatrisante. Antibiotique naturel, elle est surtout utilisée pour soigner certaines maladies broncho-pulmonaires comme la grippe, la toux, la sinusite, la bronchite et la rhinopharyngite, tandis qu'en dermatologie, on s'en sert pour traiter l'acné, entre autres.

En outre, de nombreuses maladies gastro- intestinales peuvent également être soulagées par l'huile essentielle d'eucalyptus grâce à ses propriétés anti-infectieuses et antibactériennes.

## I-2 Généralités sur les huiles essentielles

### I-2-1 Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones.... (Isman, 2002). Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Csesk et Kaufman, 1999).

L'extraction de ces huiles peut s'effectuer par plusieurs méthodes, l'extraction par distillation se fait en exploitant la volatilité des composés aromatiques pour les séparer. Il existe deux formes de distillation : l'hydrodistillation où l'eau et le végétal sont chauffés ensemble dans un ballon et

L'hydrodistillation par entraînement à la vapeur d'eau, où la vapeur est d'abord produite dans un ballon puis acheminée dans un second ballon, dans lequel elle va remonter en passant à travers le matériel végétal et en entraînant les composants aromatiques (El Haib, 2011).

Les huiles essentielles sont des molécules volatiles et odoriférant, synthétisées grâce à l'énergie solaire, pour les cellules sécrétrices. Ces huiles sont comme sous différents noms : essences végétales, essences aromatiques, huiles volatiles ou parfums. (Belkou *et al*, 2005), majoritairement issues de la famille des terpénoïdes. Elles s'accumulent dans des glandes et tissus spécialisés des végétaux tels que les cellules épidermique des Lamiaceae, les poches sécrétrices des Rutaceae ou canaux sécréteurs des Apiaceae (Gilly, 1997).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali *et al*, 2008, Tajkarimi *et al.*, 2010).

### I-2-2 Activités biologiques et méthodes d'évaluations

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises.

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Dorman *et al.*, 2000).

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leur pouvoirs antifongiques (Jazet *et al.*, 2009), antibactériens (Magina *et al.*, 2009) et insecticide (Cheng *et al.*, 2009).

### **I-2-2-1 Activité antimicrobienne**

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction d'huile essentielle contenue dans les plantes. Depuis deux décennies des études ont menés sur le développement de nouvelle application et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine agricole (**Oussalah , 2006**).

Les différents protocoles peuvent être classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle et selon la nature du contact de l'huile essentielle avec le germe. La majorité de chercheurs ont employé une des trois analyses suivantes : diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon (**Burt, 2004**). Ces méthodes sont relativement rapides, peu coûteuses et n'exigent pas l'équipement de laboratoire sophistiqué ; cependant, elles ne sont pas sans inconvénients (**Wilkinson, 2006**).

En général, les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique sont rapides, moins coûteuses et facile à réaliser. L'activité contre les mycètes filamenteux peut être évaluée par la méthode de diffusion et de la dilution avec les mêmes inconvénients et avantages pour les analyses antibactériennes (**Wilkinson, 2006**). L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles peut être effectuée par la méthode de microatmosphères (**Billerbeck et al., 2002, Mohammedi & Fouzia, 2007; Mohammedi et al., 2010; Bajpai & Kang, 2010**).

### **I-2-2-2 Activité insecticide**

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes. Elles sont riches en composés polyphénoliques, acides phénols et flavonoïdes dont les plus abondants sont l'acide rosmarinique et la lutéoline -7- glucoside. Ils provoquent une perturbation de la mortalité naturelle de l'insecte, la toxicité des polyphénols est positivement corrélée au pouvoir attractif des composés (**Regnault-Roger et al., 2004**).

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (**Isman, 2002**).

### I-3 Agents phytopathogènes et ravageurs

Dans la nature, les plantes sont exposées à de nombreuses agressions qui provoquent à leur niveau des perturbations métaboliques graves et très souvent une installation de la maladie. Ces agressions sont soit, d'origine nutritionnelle (carence ou excès d'éléments nutritifs), climatique (températures élevées ou basses) ou encore d'origine anthropique (pesticides et métaux lourds), on les qualifie de stress abiotique. A l'opposé, le stress biotique fait intervenir un second être vivant qualifié d'agent pathogène (champignon, bactérie, mycoplasme, virus et viroïde) (**Bové, 2001 et Flores, 2001**) ou autres (Acariens, insectes, mollusques, nématodes et herbivores) (**Bonnemain et Chollet, 2003**).

Avant d'envisager une lutte contre une maladie de plante, il est nécessaire d'identifier le pathogène responsable et de connaître son écologie, son cycle de développement et ses modes de dissémination et de maintien dans l'environnement. Il faut cependant garder à l'esprit que plusieurs pathogènes peuvent infecter une plante

#### I-3-1 Phytopathogènes

##### I-3-1-1 Bactéries

###### I-3-1-1-1 *Pectobacterium carotovorum*

Le genre *Pectobacterium*, anciennement regroupé sous le genre *Erwinia*, appartient à la famille des *Entérobactériacées*. C'est une bactérie phytopathogène Gram (-), anaérobique facultative, a une forme de bâtonnet (0,5-1 µm de diamètre sur 1-3 µm de longueur) et munie de flagelles péritriches (**Hauben et Swings, 2005 et Charkowski, 2006**).

Pendant plusieurs décennies, les entérobactéries causant les maladies de la pourriture molle ont été rangées dans le groupe des carotovoras par Dye (1969) bien qu'il était évident que les *Erwinias* responsables de la pourriture molle et de la nécrose des organes végétaux de diverses cultures ne puissent pas être décrites par le même genre (**Charkowski, 2006**). Le groupe des carotovoras comptait trois espèces principales (**Dye, 1969**): *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Van Hall) (Eca), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) (Ecc) et *Erwinia chrysanthemi* (Burkholder) (Ech).

### I-3-1-1-2 *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*

*Pseudomonas savastanoi* (classé dans la famille des *Pseudomonadaceae*) est l'agent causal de la tuberculose de l'olivier, observé pour la première fois par Savastanoi en 1870 puis au début du vingtième siècle par Smith et Rorer 1904. Se sont des bactéries bâtonnets (0,4-0,8 x 1,0-3,0), gram négatives, catalase positive, mobiles avec 1 ou plusieurs flagelles polaires, une croissance plutôt lente, les colonies sont blanche grise ou crème, lisses plates, scintillantes, produisant une réaction d'hypersensibilité sur tabac, métabolisme respiratoire (**Guido, 2005**).

Jusqu'à présent la seule information présente dans la littérature sur le pouvoir pathogène de *P.savastanoi* est sa capacité d'induire la formation des Gall (tumeurs), par la stimulation des phytohormones l'acide indole-acétique et le cytokinine (**Penyalver et al., 2005**). Et cela est dû à un plasmide qu'on l'appelle «Ti» (tumeur induisant) qui est transféré dans les tissus végétaux, et qui s'intègre dans le génome de la cellule hôte pour être transcrit, le nouveau ADN formé déclenche une production autonome des phytohormones : l'acide indole-acétique (AIA) qui joue un rôle dans l'élargissement des cellules et le cytokinine qui favorise la division cellulaire (**Carol, 2008**).

### I-3-1-1-3 *Erwinia amylovora*

Les bactéries *Erwinia amylovora* mesurent environ 1,6 µm de longueur pour 0,8 µm de largeur, et apparaissent sous la forme de bâtonnets aux extrémités arrondies et mobiles au moyen de plusieurs flagelles péritriches (**Van der Zwet et al., 2012**).

Le feu bactérien est une maladie provoquée par la bactérie Gram négative *Erwinia amylovora*, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Van der Zwet et Keil, 1979 ; Vanneste, 2000**). Elle s'attaque à une gamme assez élargie de plantes hôtes de la famille des Rosaceae (environ 200 espèces appartenant à 40 genres), dont toutes les espèces de la sous-famille des Maloideae, comprenant le pommier (*Malus x domestica*), et le poirier (*Pyrus communis*), avec différentes sévérités de symptômes (**Momol et Aldwinckle, 2000**). *E. amylovora* possède un large spectre d'hôte et peut passer l'hiver dans certaines régions à l'intérieur de plantes n'étant pas des hôtes économiquement importants : les plantes réservoir (**Momol et Aldwinckle, 2000**).

Les symptômes provoqués par le feu bactérien peuvent être observés sur différentes parties de l'arbre, mais les premières expressions de symptômes sont tout d'abord caractérisées par des gouttelettes suintantes puis d'un exsudat sur les pédicelles des fleurs. L'infection progresse ensuite vers le bas du pédicelle et dans toutes les fleurs d'un bouquet (**Thomson, 2000**).

### I-3-1-2 Champignons

#### I-3-1-2-1 *Botrytis cinerea*

*Botrytis cinerea* est un champignon phytopathogène majeur de la carotte, au vu de sa large gamme d'hôtes (presque toutes les plantes légumières et ornementales) et de ses conditions extrêmes de survie dans les tissus moribonds et les blessures ouvertes (Droby et Lichter, 2007). La forme anamorphe (*Botrytis cinerea*) de cet agent pathogène est la plus fréquente ; elle est rangée dans la classe des Adélomycètes et dans la famille des Moniliacées. C'est l'agent responsable de la pourriture grise. Cet agent pathogène peut entraîner la destruction partielle ou totale de la plante hôte, et dans certains cas de la récolte. Sur le plan économique, ce champignon est par exemple considéré comme un problème phytosanitaire majeur en viticulture dans le monde (Martinez *et al.*, 2005). Il peut s'attaquer à différents stades de développement de la vigne et l'infection par les conidies peut se produire durant toute la saison de croissance: début d'inflorescence, floraison, véraison, stade végétatif et grappe (Kretschmer *et al.*, 2007).

#### I-3-1-2-2 *Fusarium graminearum*

Le *F. graminearum* est un saprophyte facultatif (responsable de la maladie de fusariose) qui vit et complète son cycle évolutif autant sur les tissus vivants que sur les débris de végétaux. Ainsi, les spores produites sur les résidus restés à la surface du sol peuvent être transportées par le vent ou amenées d'une feuille à l'autre jusqu'aux épis par les éclaboussures de pluie. Si les conditions le permettent, les spores qui ont atteint les épis peuvent germer et pénétrer dans les tissus de l'épi; c'est l'infection. Cependant, le risque d'infection est associé directement aux conditions environnementales. Durant la saison de végétation, lorsque les conditions d'humidité sont adéquates, les propagules de *Fusarium* (ascospores ou micromacroconidies) présentes sur les tissus de l'épi germent en produisant un hyphes infectieux (Xue *et al.*, 2001).

Les symptômes de la fusariose de l'épi sont similaires pour toutes les cultures céréalières. Ils sont généralement caractérisés par des colorations variant du rose au saumon orangé qui apparaissent souvent initialement à l'extrémité de l'épi. Chez le blé, les épillets affectés par la fusariose avortent et prennent une teinte blanchâtre et un aspect desséché. Les grains sont petits et ridés avec un aspect crayeux et on peut parfois observer une coloration rose ou orangée correspondant à la fructification du champignon (Bailey *et al.*, 2004).

### **I-3-1-2-3 *Colletotrichum gloeosporioides***

*Colletotrichum gloeosporioides* est un agent pathogène omniprésent. Ce champignon infecte les monocotylédones (gazon) à dicotylédones plus élevés (arbres de cajou). *C. gloeosporioides* est largement répandue et pathogène de plante commune dans le monde (**Cannon et al., 2000**). Le champignon est plus abondant dans les régions tropicales et subtropicales que dans les régions tempérées (**CAB international, 2005**).

*Colletotrichum gloeosporioides* provoque la maladie de l'antracnose sur une grande variété de fruits, y compris d'amande, avocat, pomme, café, Arabica, la goyave, la mangue, les fraises, la papaye, les bananes, fruit de la passion, agrumes, raisins et noix de cajou (**Amusa et al., 2005; Nelson, 2008**). Il provoque des dégâts considérables à un grand nombre de cultures telles que les céréales, le café, les légumineuses et, fruits subtropicaux tropicaux tels que l'avocat, la banane, la mangue.

### **I-3-2 Insectes ravageurs**

#### **I-3-2-1 Pucerons (*Aphis spiraecola*)**

*Aphis spiraecola* est une espèce de puceron décrite en 1914 par Edith Marion Path, ses noms communs comprennent le puceron des agrumes vert, Spirea puceron, et puceron. Il est rangé dans la classe des Insecta et dans la famille des Aphididae.

Les virginipares aptères d'environ 2 mm de longueur ont la même couleur que les jeunes feuilles d'agrumes, Front plat ou légèrement sinué. Antennes égales à la moitié du corps Abdomen sans aucune pigmentation Cornicules noires, droites, légèrement coniques (avec une base un peu plus épaisse que la partie apicale) **Cauda** noire, allongée et constrictée au niveau du 1/3 basal, Les virginipares ailées sont de couleur brun foncé à noir, sauf l'abdomen qui reste habituellement verdâtre (**Evelyne et Maurice, 2014**).

Les pucerons effectuent leur cycle sur la face inférieure des feuilles et sur les jeunes rameaux, plusieurs dizaines de générations annuelles se succèdent et se superposent.

La multiplication est essentiellement parthénogénétique, les femelles engendrant de nouvelles générations sans avoir été fécondées (**Camille, Franck et Marion, 2013**).

*A. spiraecola* est le ravageur le plus redouté des vergers d'agrumes.

### **I-3-2-2 Mineuse de la tomate (*Tuta absoluta* )**

*T. absoluta*, ravageur de la tomate et autres Solanacées, est un microlépidoptère qui appartient, à la famille des Gelechiidae, dont : l'adulte est un petit papillon de nuit (7mm) de couleur grise, le mâle est plus petit que la femelle, les œufs sont de petites taille 0,36mm de long et 0,22 mm de large de forme cylindrique et de couleur crème à jaunâtre (**Guenaoui et Ghelamallah, 2008**).

La larve passe par quatre stades dont un stade baladeur, sa couleur varie selon le stade, elle est beige claire au premier stade, puis verdâtre à rose du deuxième au quatrième stade, au dernier stade, la face dorsale se colore en rouge et la taille peut atteindre 7,5 mm de diamètre.

Les jeunes larves pénètrent dans les fruits de tomate, les feuilles ou les tiges sur lesquelles elles se nourrissent et se développent en créant des mines et des galeries, les fruits peuvent être attaqués dès qu'ils sont transformés, et les galeries creusées peuvent être envahies par des agents pathogène secondaires conduisant à leur pourriture sur les feuilles, les larves se nourrissent uniquement du mésophile laissant l'épiderme intact (**Guenaoui et Ghelamallah, 2008**).



L'étude menée au cours de ce travail a pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle d'Eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*).

L'expérimentation fut réalisée au niveau du laboratoire de myco-bactériologie et entomologie de l'Institut Nationale de la Protection des Végétaux (I.N.P.V) station régionale de Boufarik durant la période du mois de Mai au mois d'Août 2016.

## II-1 Matériel

### II-1-1 Matériel végétal

Des rameaux feuillés ont été récoltés à partir de la plante d'Eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*) dans la région de Chiffa-Blida durant le mois d'Avril 2016.

L'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a été faite par le laboratoire Extral-Bio Chiffa de Blida par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau.

### II-1-2 Les phytopathogènes

Les souches microbiennes retenues pour cette étude ont été fournies par le laboratoire de myco-bactériologie de la S.R.P.V.

#### II-1-2-1 Souches bactériennes

L'ensemble des souches bactériennes soumises au test sont représentées dans le tableau 01.

**Tableau 01:** Souches bactériennes soumises au test antibactérien.

Souches bactériennes	Origine
<i>Pectobaterium carotovorum</i> (S1)	Isolés de la tomate (fruit)
<i>Pectobaterium carotovorum</i> (S2)	Isolés de la carotte (fruit)
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>savastanoi</i>	Isolés à partir des nodules portés sur la feuille de l'olivier
<i>Erwinia amylovora</i>	Isolé de la poire (fruit)

### II-1-2-2 Souches fongiques

L'ensemble des souches fongiques soumises au test sont représentées dans le tableau 02.

**Tableau 02 :** Souches fongiques soumises au test antifongique.

Souches fongiques	Origine
<i>Botrytis cinerea</i>	Isolés des tubercules de pomme de terre
<i>Fusarium graminearum</i>	Isolés des blés
<i>Colletotrichum gloeosporioide</i>	Isolés des agrumes (clémentines)

### II-1-3 Les insectes ravageurs

L'évaluation de l'activité bio-insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a été effectuée sur deux insectes : les pucerons (*Aphis spiraecola*) et les mineuses des tomates (*Tuta absoluta*) (Figure 03).

-Les pucerons *Aphis spiraecola* sont prélevés à partir des feuilles infectées des arbres de la clémentine au niveau du verger expérimentale de la SRPV de Boufarik.

- les mineuses des tomates *Tuta absoluta*, sont prélevés à partir des feuilles infectées de la tomate (variété Cawa) sous serre au niveau de la ferme pilote Sadouk d'El Affroun.

Ces insectes ont été identifiés au niveau du laboratoire d'entomologie de la S.R.P.V (Station Régionale de la Protection des Végétaux) de Boufarik.



Les pucerons (*Aphis spiraecola*)



La mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*)

**Figure 03 :** Insectes ravageurs observés sous la loupe binoculaire Gx100 (Original, Mai 2016).

## II-2 Méthodes

### II-2-1 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est réalisée par la méthode de l'Aromatogramme.

#### II-2-1-1 Evaluation de l'activité antibactérienne

Les bactéries à tester sont ensemencées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture N.A.S pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées. A partir de ces boîtes et à l'aide d'une pipette pasteur, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 5ml d'eau physiologique stérile, puis agiter à l'aide d'un agitateur du tube vortex.

On dépose 10 $\mu$ l de la suspension bactérienne, préparé sur le milieu de culture N.A S, puis on l'étale sur toute la surface des boîtes à l'aide de pipette pasteur (sous forme de L).

Nous avons utilisé dans cette méthode des disques de papier wattman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés d'huile essentielle à différents doses (20  $\mu$ l, 10  $\mu$ l et 5  $\mu$ l) et à différents concentrations 75%, 50%, 25% (dilué dans un solvant acétone) déposés à la surface d'un milieu gélosé le N.A.S ( la composition chimique du milieu de culture N.A.S est représenté dans l'annexe 01), en boîtes de Pétri (a raison de quatre disques par boîte) préalablement ensemencées en surface à l'aide d'une suspension bactérienne choisi. Des témoins (les disques sont imbibées d'un solvant acétone au lieu l'huile essentielle) sont réalisés pour chaque souche comme contrôle négatif. Les essais sont répétés trois fois (Figure 04).

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque.

La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mm (y compris le diamètre de disque de 6mm), après 48 h d'incubation à 37°C.

D'après Ponce *et al.* (2003), la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm.
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

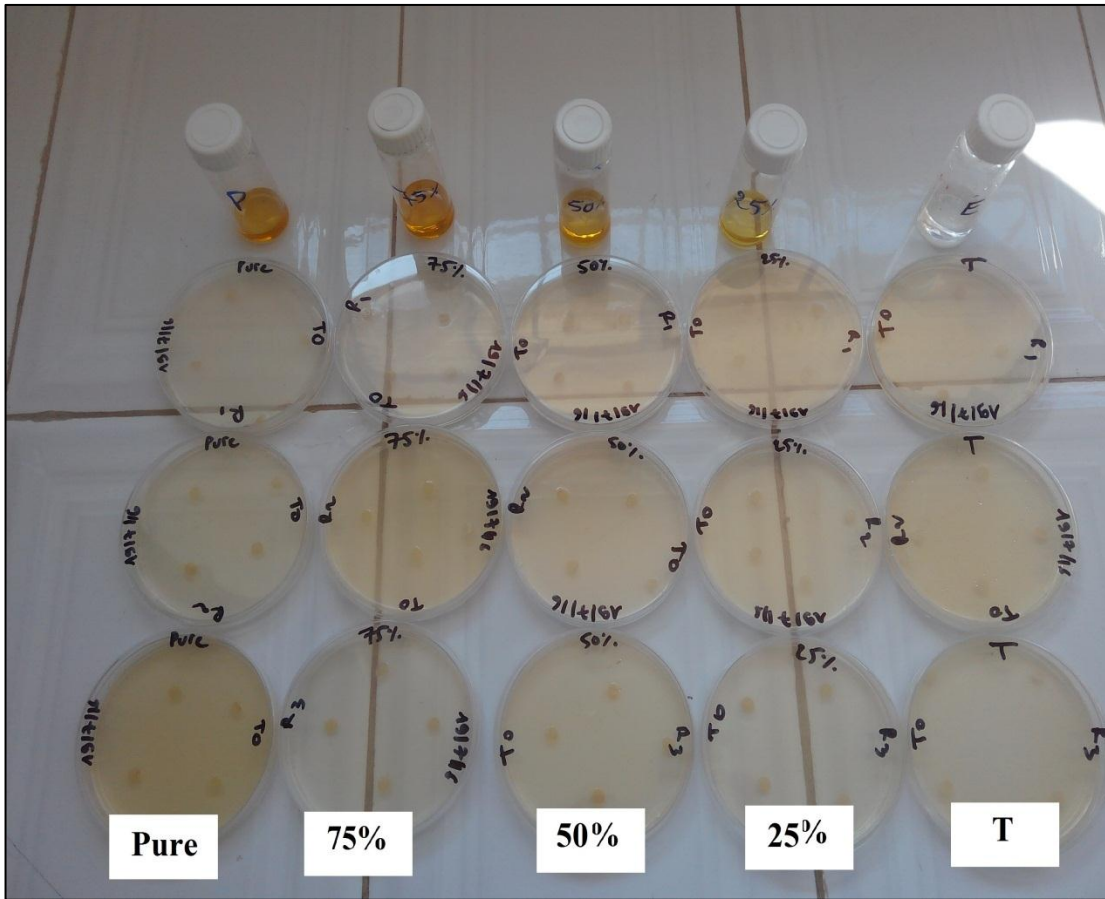
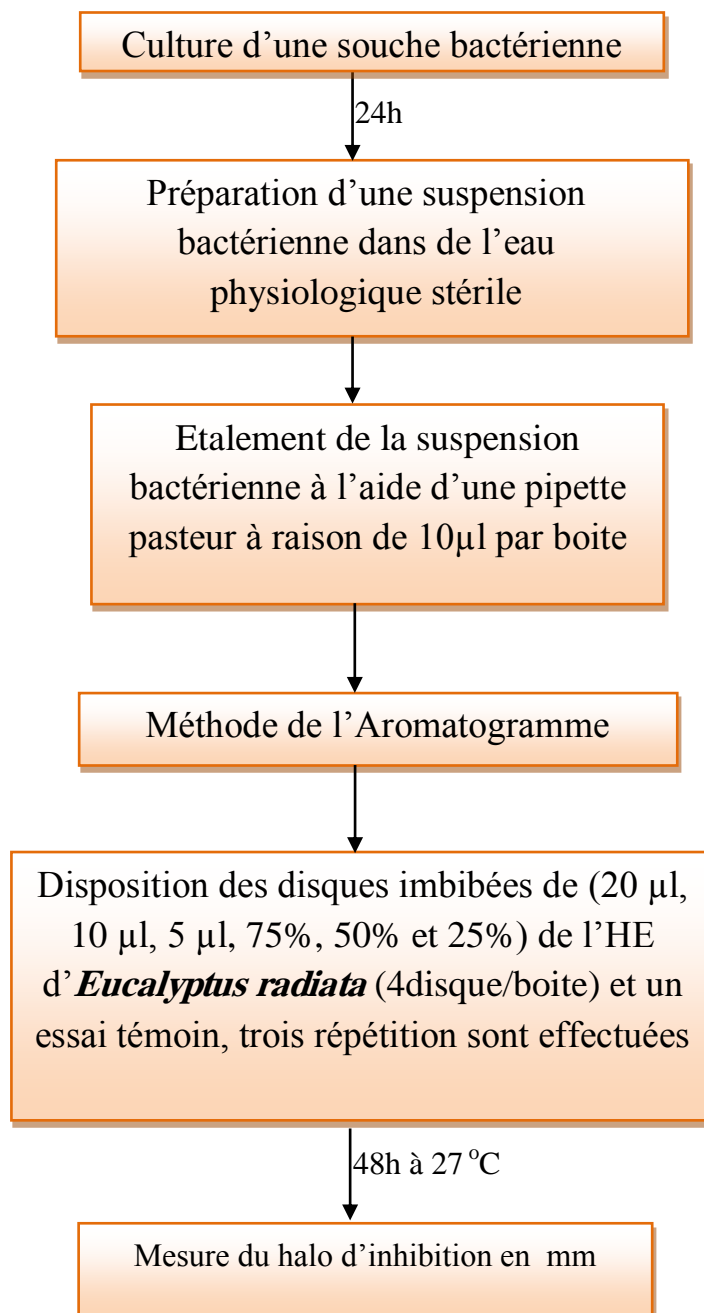


Figure 04 : Test de l'activité antibactérienne de l'HE par la méthode d'Aromatogramme.

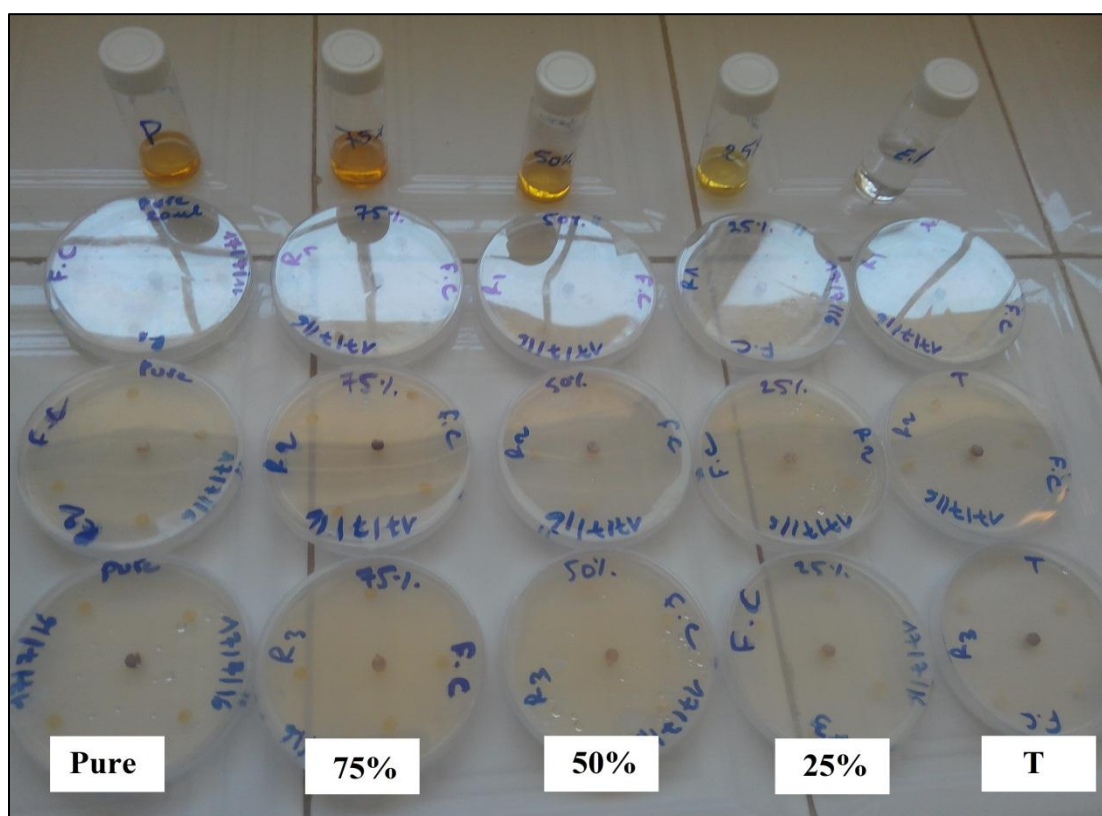
La figure 05 montre le procédé d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.



**Figure 05:** Les étapes de la réalisation du test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

### II-2-1-2 Evaluation de l'activité antifongique

Pour le test antifongique, le champignon est inoculé sous la hotte par le dépôt au centre de la boîte pétri contenant le milieu de culture P.D.A ( la composition chimique du milieu de culture P.D.A est représenté dans l'annexe 01) d'un disque de mycélium (provient d'une culture jeune) d'environ 6mm de diamètre, à la surface de chaque boîte on dépose des disques de papier Watman stérile (4 disques/boîte) de 6 mm de diamètre imbibés par différentes doses ( 20  $\mu$ l, 10  $\mu$ l e 5  $\mu$ l) et à différents concentrations 75%, 50%, 25% (dilué dans un solvant acétone). Les témoins sont représentés par des boîtes de pétri contenant uniquement le champignon pathogène (les disques sont imbibés d'un solvant acétone au lieu l'huile essentielle), trois répétition sont effectuer pour chaque essai (figure 06).



**Figure 06:** Test de l'activité antifongique de l'HE par la méthode de l'Aromatogramme.

L'ensemble des boîtes sont mise à incuber  $25 \pm 2$  °C pendant 7 jours (jusqu'à ce que la croissance mycélienne dans les boîtes de contrôle atteigne les bords des boîtes de Pétri).

La cinétique de la croissance mycélienne a été évaluée le 3ème, 5ème et le 7ème jour après le premier dépôt du disque mycélienne en mesurant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires en mm (y compris le disque du mycélium). Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins.

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TICM%) consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation (**Kordali *et al.*, 2003**).

$$\text{TI} (\%) = 100 \times (\text{dC} - \text{dH}) / \text{dC}$$

**TI(%)** = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

**dC** = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs ».

**dH** = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'HE.

L'HE est dit :

- Très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible.
- Active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible.
- Moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite limitée.
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite peu sensible ou résistante

### A- Inhibition de la sporulation

L'évaluation de la sporulation est effectuée selon le principe de la méthode utilisée par Maslouhy, 1989. Ce test a été réalisé par un lavage avec 10 ml d'eau distillée stérile dans chaque'une des boîtes de pétri entière contenant du mycète, afin de libérer toutes les spores, par la suite la suspension obtenue est récupérée dans des tubes et bien agiter au vortex, le nombre de spores pour chaque échantillon est comptée par la cellule de Mallassez sous le microscope optique.

Le taux d'inhibition de la sporulation (TINS %) est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{TI} (\%) = 100 \times (\text{NS} - \text{NP}) / \text{NS}$$

**TI(%)** = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

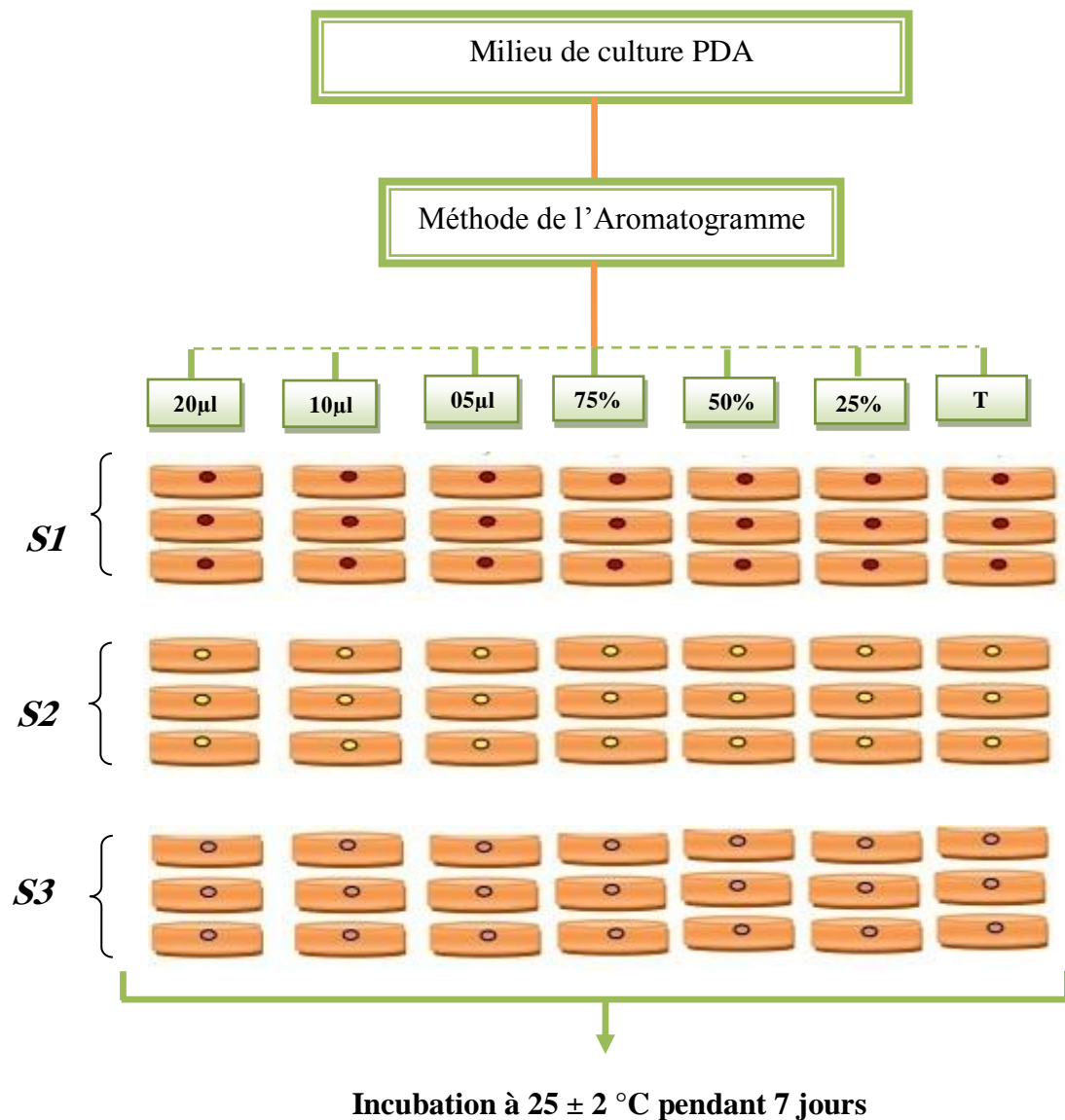
**NS** = Nombre des spores dans les boîtes « témoins positifs ».

**NP** = Nombre des spores dans les boîtes contenant l'HE.

L'analyse statistique (tableaux, histogrammes, courbe) des données est traité par un logiciel Excel stat 2010 pour la détermination des résultats.



La figure 07 montre le procédé d'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.



**Figure 07** : Diagramme expérimentale du test antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (S1, S2, S3 sont les trois souches fongiques testées).

S1 : *Botrytis cinerea*.

S2 : *Fusarium graminearum*.

S3: *Colletotrichum gloeosporioide*.

### II-2-2 Evaluation de l'activité bioinsecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

Le protocole expérimental utilisé pour évaluer l'activité bio-insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* pour les deux insectes *Aphis spiraecola* et *Tuta absoluta* est le suivant :

Cinq boites de pétri contenant chacune des feuilles de la plante hôte (feuilles de la clémentinier pour les pucerons ou des feuille des tomates pour les mineuses) sur lequel nous avons déposé un volume de 20µl des dilutions d'huile essentielle préparé auparavant (20µl, 40µl, 80µ dilué dans 10ml du solvant Acétone) et une dose pure à l'aide d'une micropipette. Les insectes (pour le premier essai 50 puceron par boite et pour le deuxième essai 10 larves de mineuses par boite) ont été ensuite placés séparément dans ces boites de pétri, les témoins au même nombre et dans les même conditions, n'ont pas subi de traitement (figure 08 et 09 dans l'annexe 02) (Fokialakis *et al.*, 2006 ; Sen-Sung *et al.*, 2008). Chaque essai est répété trois fois, le nombre d'insectes morts a été comptabilisé après 1h, 6h, 12h, 24h, et 48h après les premières manipulations.

Les mortalités enregistrées ont été exprimées après la correction avec les résultats du témoin. L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce toxique. Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abbott (Abbott, 1925).

$$MC \% = (M - Mt * 100) / (100 - Mt)$$

MC : Mortalité corrigée.

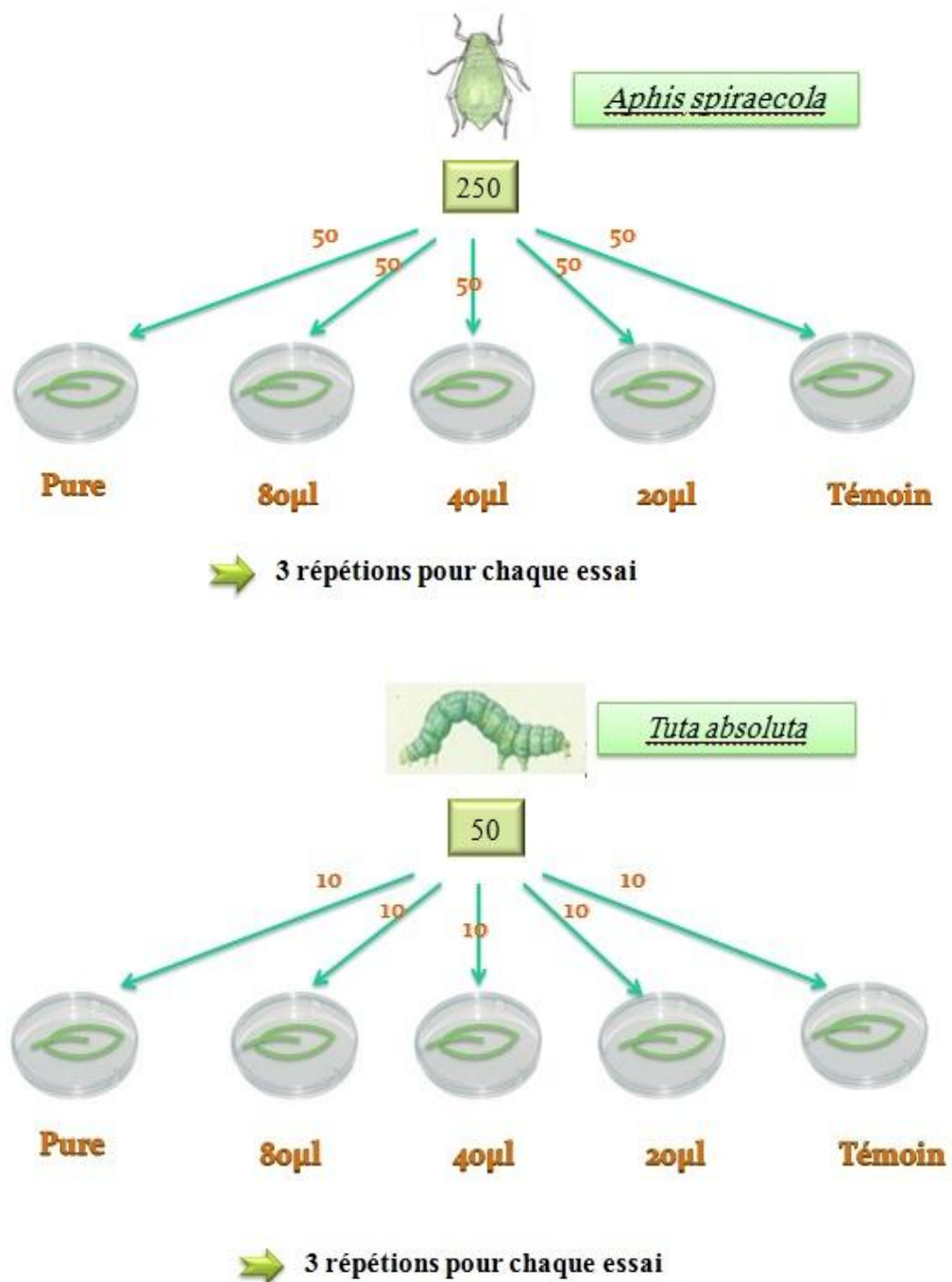
M : Pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : Pourcentage de morts dans la population témoin.

L'efficacité d'une toxicité se mesure par sa DL<sub>50</sub> qui représente la quantité de substance toxique entraînant la mort de 50% d'individus d'un même lot respectivement. Elle est déduite à partir du tracé des droites de régression. Pour cela, les pourcentages de mortalité corrigés sont transformés en probits (Finney, 1971) (tableau 03, annexe 03) et les doses en log doses.

Pour estimer les effets insecticides des huiles essentielles contre ces deux insectes, une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification a été effectuée avec le nombre d'insectes morts en fonction des concentrations et du temps à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2016).

La figure 10 reflète le procédé d'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.



**Figure 10 :** Schéma représentatif de l'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sur les deux insectes.

### III-1 Résultats

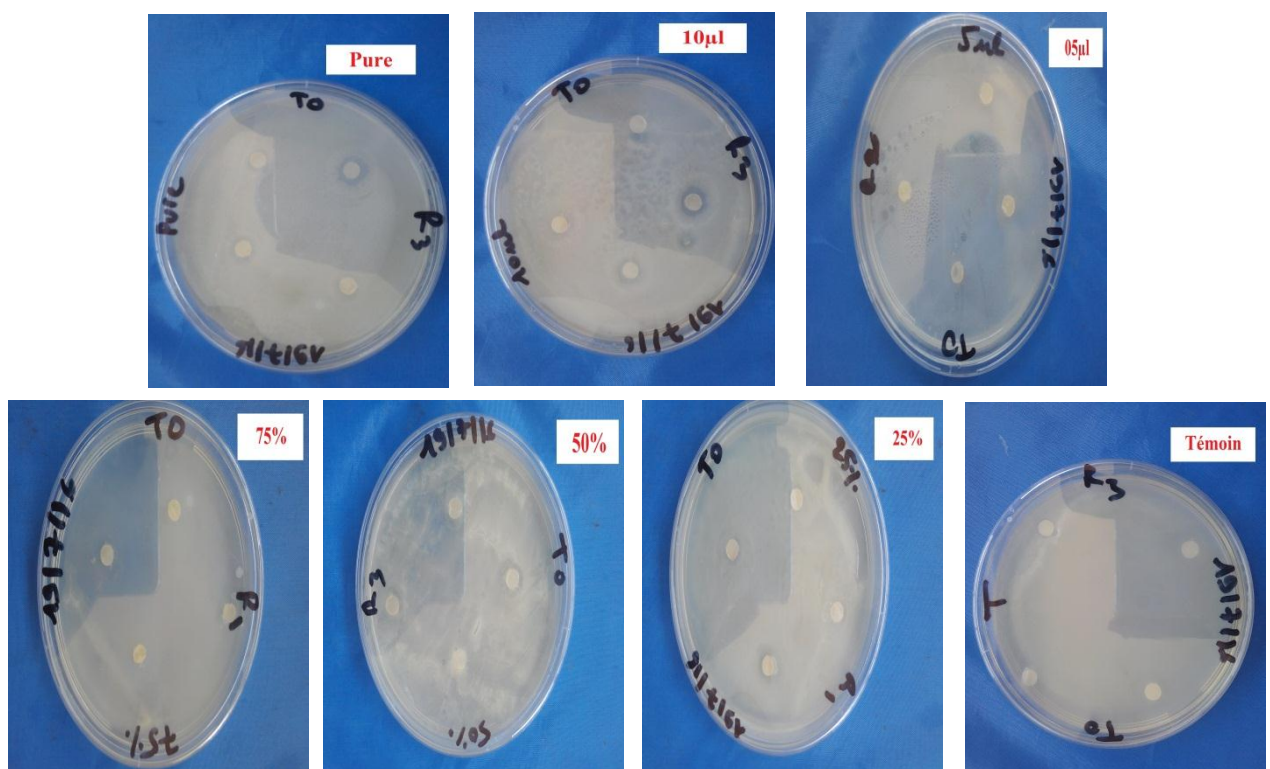
#### III-1-1 Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est effectuée par la méthode de l'aromatogramme.

##### III-1-1-1 Activité antibactérienne

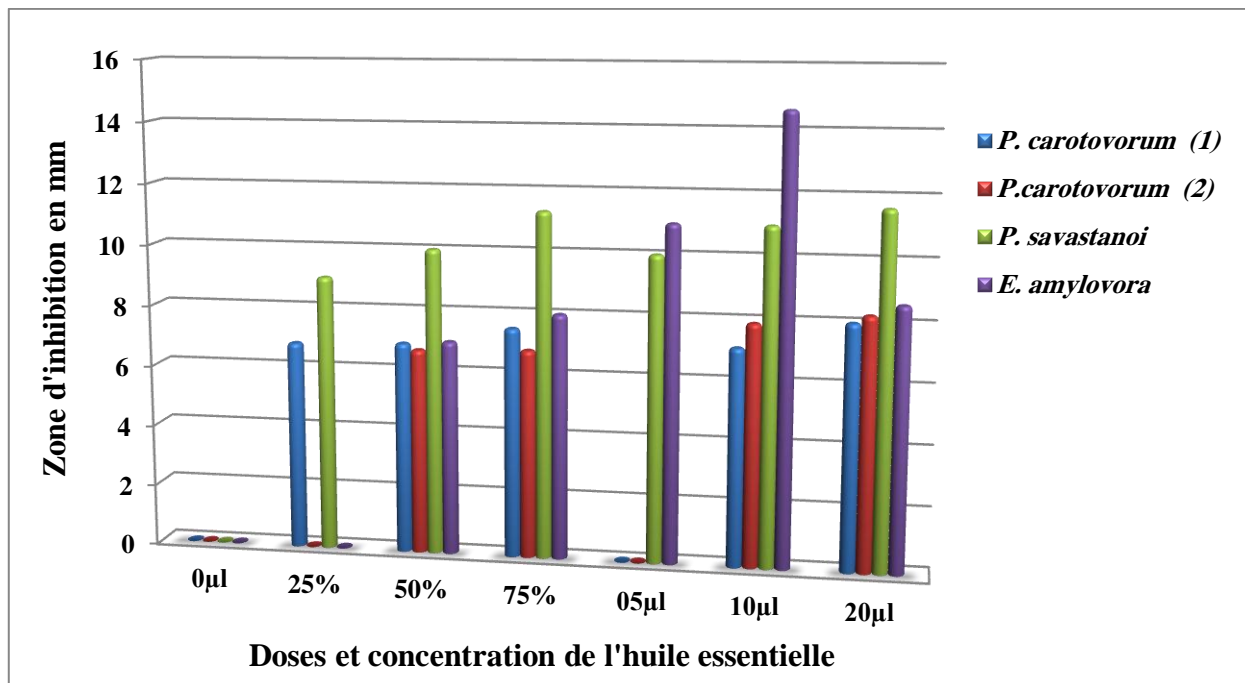
Le pouvoir antibactérien de l'huile est obtenu par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (en mm) après 48h d'incubation à une température adéquate de 37<sup>0</sup>C.

La figure 11 représente l'effet inhibiteur de l'HE d'*Eucalyptus radiata* vis-à-vis la souche *Pectobaterium carotovorum* (S1).



**Figure 11 :** L'effet inhibiteur de l'huile essentielle sur *Pectobacterium carotovorum* (S1).

Les résultats de l'aromatogramme représentés par les diamètres des zones d'inhibition de toutes les souches bactériennes testées sont regroupés dans le tableau 04 (annexe 04) et présentées dans la figure 12 (les valeurs indiquées sont les moyennes de trois répétitions).



**Figure 12 :** Les zones d'inhibition en fonction des doses et concentration en huile essentielle testées vis à vis des souches bactériennes par la méthode de l'aromatogramme.

L'action de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sur les souches bactériennes testées a permis d'avoir des diamètres d'inhibition allant de 6,8 à 14,6 mm pour les différents concentrations et les doses utilisées.

D'après les résultats enregistrées dans le tableau 04 et la figure 11, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a montré une activité antibactérienne modéré pour toutes les concentrations testées (25%, 50% et 75%) vis-à-vis de *Pectobaterium carotovorum* (1) et *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi*, alors qu'il n'y a aucune inhibition pour la concentration 25% vis-à-vis de *Pectobaterium carotovorum* (2) et *Erwinia amylovora*.

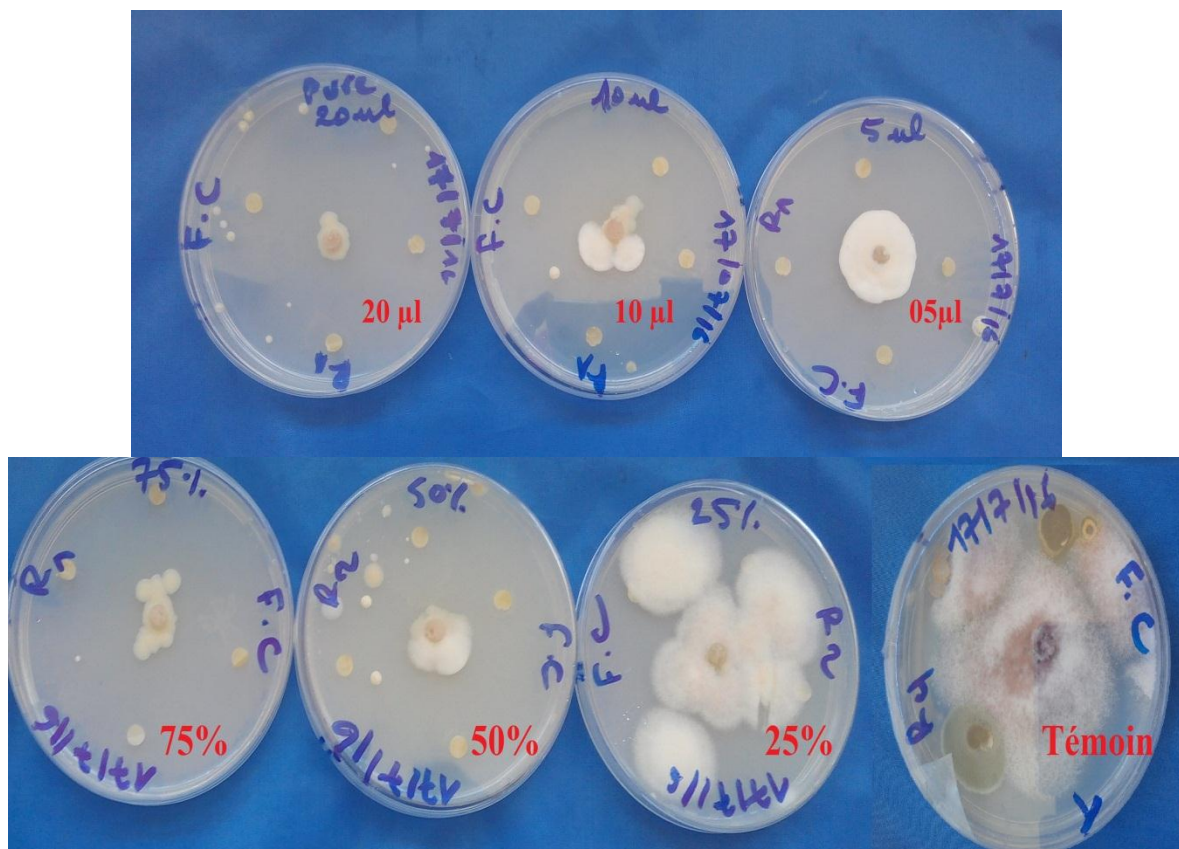
L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* possède une activité antibactérienne vis-à-vis de *Pseudomonas savastanoi pv savastanoi* et *Erwinia amylovora* pour les trois doses (20 µl, 10 µl et 05µl) avec les diamètres d'inhibition respectifs (10,11,11,6,11, 14,6 et 8,6 mm) alors que *Pectobaterium carotovorum* (S1 et S2) sont sensibles seulement pour la dose 20 µl (08 mm et 8.25 mm) et résistantes pour les doses 10 µl et 05 µl.

Nous avons noté également que l'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration. Plus l'HE est concentrée, plus la zone d'inhibition est grande ce qui indique la diminution de la croissance bactérienne, excepté pour *Erwinia amylovora* dont la zone d'inhibition est plus grand pour la dose 10 µl.

### III-1-1-2 Activité antifongique

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne (en mm) après 7 jours d'incubation à  $25 \pm 2$  °C.

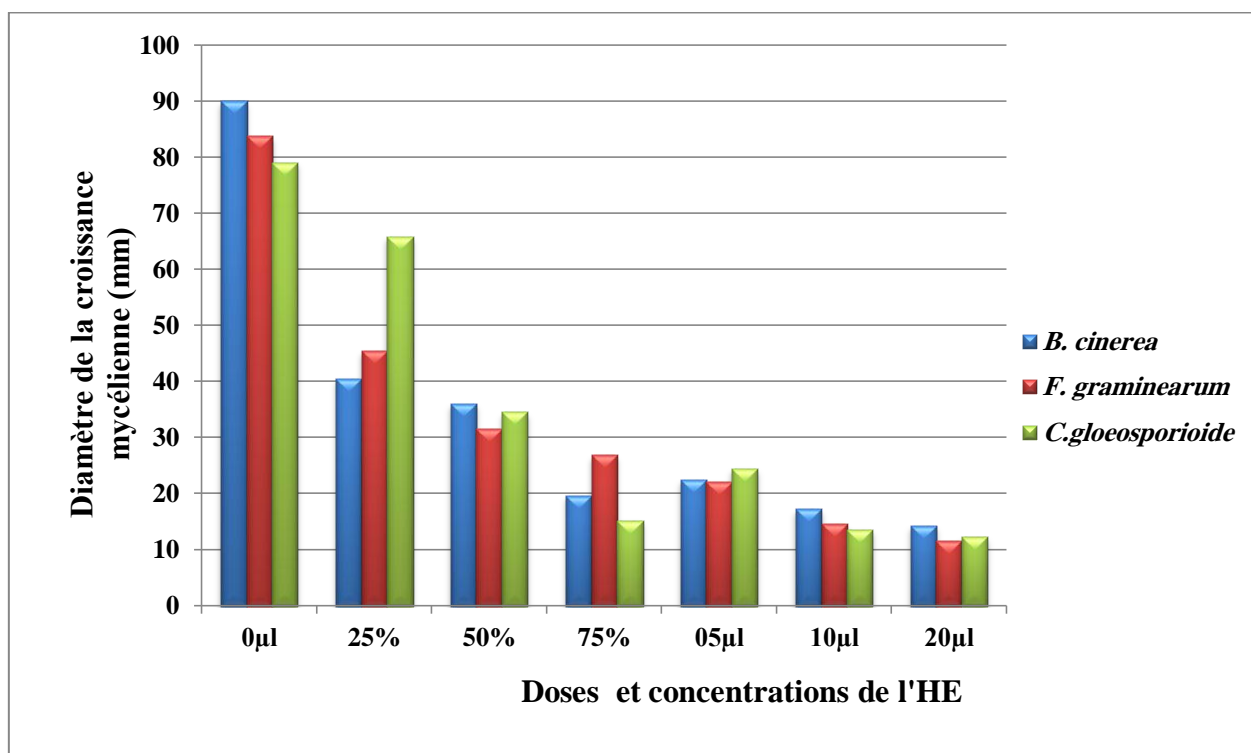
L'activité antifongique de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sur la souche *Fusarium graminearum* après 7 jours d'incubation est représentée dans les figures 13.



**Figure 13 :** Résultat du test antifongique de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sur *Fusarium graminearum*.

### A-1 Croissances mycéliennes

La figure 14 montre les résultats de l'effet de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sur la croissance mycélienne des trois souches fongiques testées.



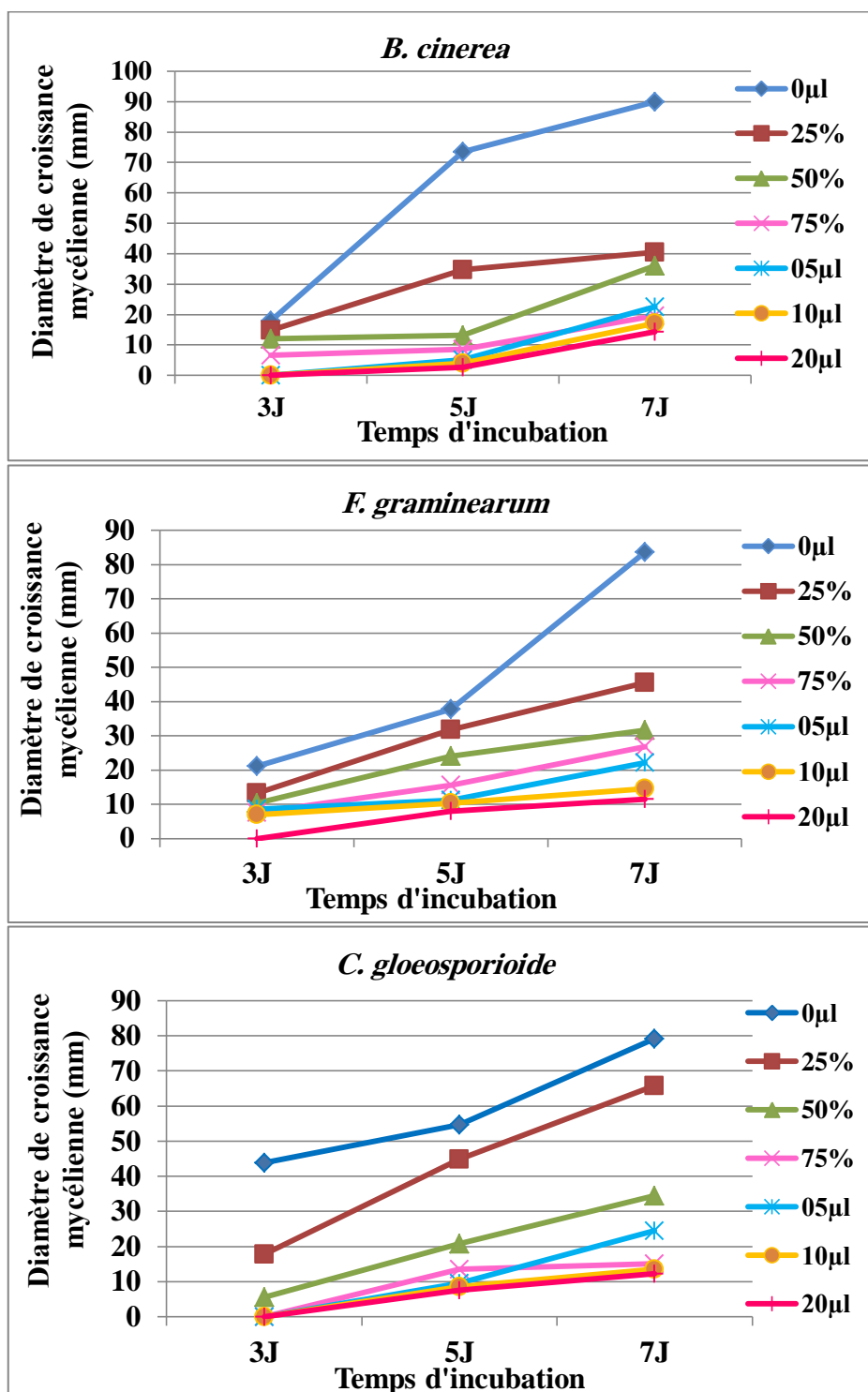
**Figure 14 :** Effet de l'HE sur la croissance mycélienne des souches fongiques testées par la méthode de l'aromatogramme (T : en comparaison avec les cultures témoins).

Les résultats du test antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* sont présentés dans le tableau 05 et 06 (annexe 05), elles varient entre 11.5 et 90 mm (y compris le diamètre de disque), le plus grand diamètre de croissance mycélienne (90 mm) a été enregistré à la concentration qui correspond au témoin avec un diamètre de croissance respectifs de 90 mm, 83.7 mm et 79.1 mm pour *B.cinerea*, *F.graminearum* et *C.gloeosporioide*, il apparait clairement que la concentration 25% en huile essentielle a une activité antifongique moyenne dont le diamètre de croissance mycélienne est 40.5 mm, 45.5 mm et 65.8 mm.

Les croissances mycéliennes sont réduites par l'augmentation de la concentration d'HE par rapport au témoin, elles sont presque similaires pour les trois souches testées. Nous avons observé une inhibition importante pour la dose 20µl avec les diamètres respectifs (14.3mm, 11.5mm et 12.3 mm).

## A-2 Cinétique de la croissance mycélienne

La cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques pendant 7 jours est représenté dans la figure 15.



**Figure 15:** Cinétique de la croissance mycélienne des trois souches fongiques en fonction du temps et de la concentration de l'HE.

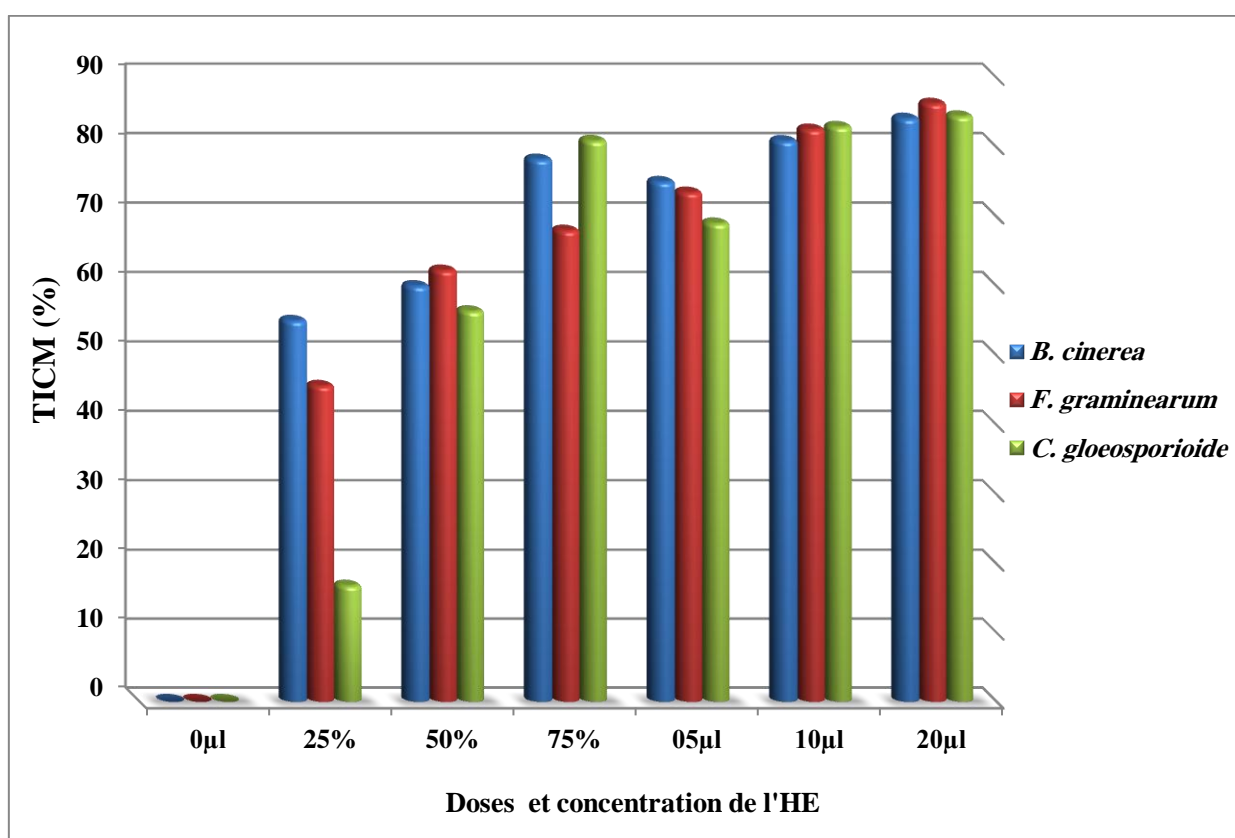


Avec les différentes concentrations de l'HE testées, la croissance mycélienne de *F.graminearum*, *C.gloeosporioide* démarre après le troisième jour, et le cinquième jour pour *B.cinerea*, alors qu'une croissance mycélienne est notée avant le troisième jour pour le témoin et atteint son maximum au septième jour.

### A-3 Effet antifongique de l'huile essentielle sur les souches testées

#### A-3-1 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TICM%)

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne sous l'effet de différents doses et concentration de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sont présentés dans la figure 16.



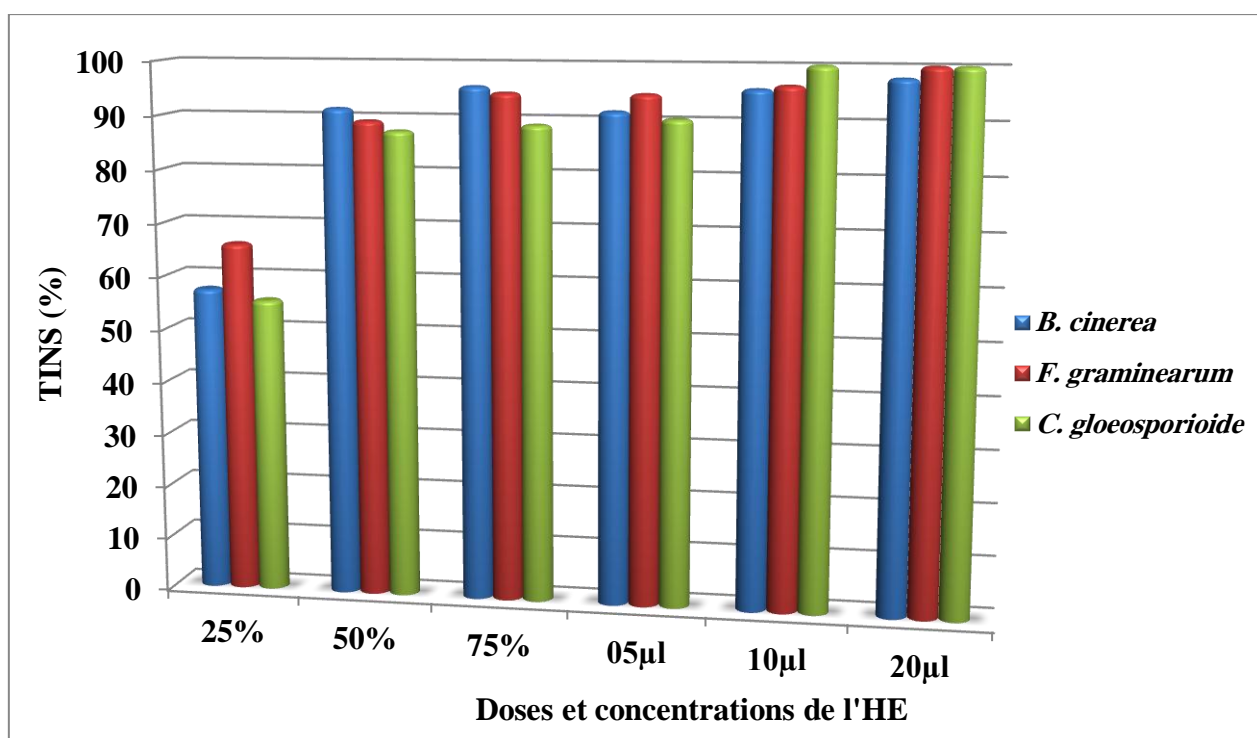
**Figure 16:** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des souches fongiques testées en fonction de différentes doses et concentrations de l'HE.

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* montre une activité antifongique sur les trois souches testées avec un taux d'inhibition de la croissance mycélienne (84.11%, 86.26%, 84.45 %) élevé à la concentration 20µl par rapport au témoin (absence de l'huile essentielle).

Le test d'activité antifongique de l'HE d'*Eucalyptus radiata* a permis d'avoir des taux d'inhibition allant de 16.81 % à 86.26 %, les souches fongiques sont donc sensibles à l'HE testée ( sauf pour la concentration 25% vis-à-vis de *F.graminearum* et *C.gloeosporioide* qui sont résistantes avec un taux d'inhibition 45.63% et 16.81%).

### A-3-2 Taux d'inhibition de la sporulation (TINS%)

La figure 17 reflète les taux d'inhibition de la sporulation vis-à-vis les souches fongiques testées en fonction de différents doses et concentrations de l'huile essentielle.



**Figure 17:** Taux d'inhibition de la sporulation des souches fongiques testées en fonction de différents doses et concentrations de l'HE.

Le test de sporulation après 7 jours d'incubation en comparaison avec les témoins (tableau 07, annexe 06) a montré une inhibition de 100% pour les souches *F.graminearum* et *C.gloeosporioide* et 97.87% pour *B.cinerea* pour la dose 20 µl en l'HE, et varie entre 55.55% et 96.42% pour les autres concentrations.

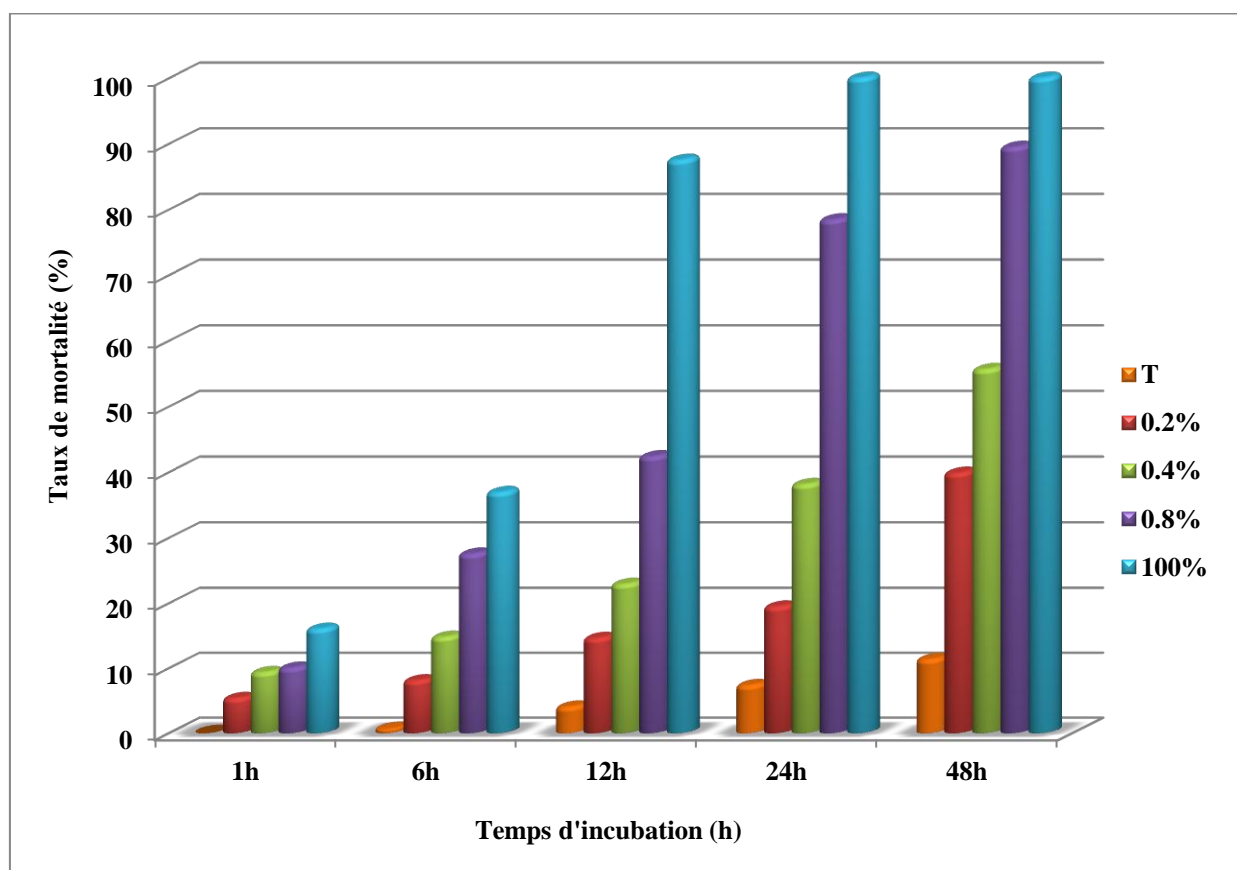
Ces résultats montrent que le taux d'inhibition de la sporulation est important vis-à-vis les trois souches fongiques testées en fonction de différents doses et concentrations de l'huile essentielle.

### III-1-2 Activité bio-insecticide

#### III-1-2-1 Sur les pucerons *Aphis spiraecola*

##### A- Taux de mortalité

Les variations du pourcentage de mortalité observées pour les différentes concentrations de l'HE d'*Eucalyptus radiata* sur les lots témoins sont regroupées dans la figure 18.



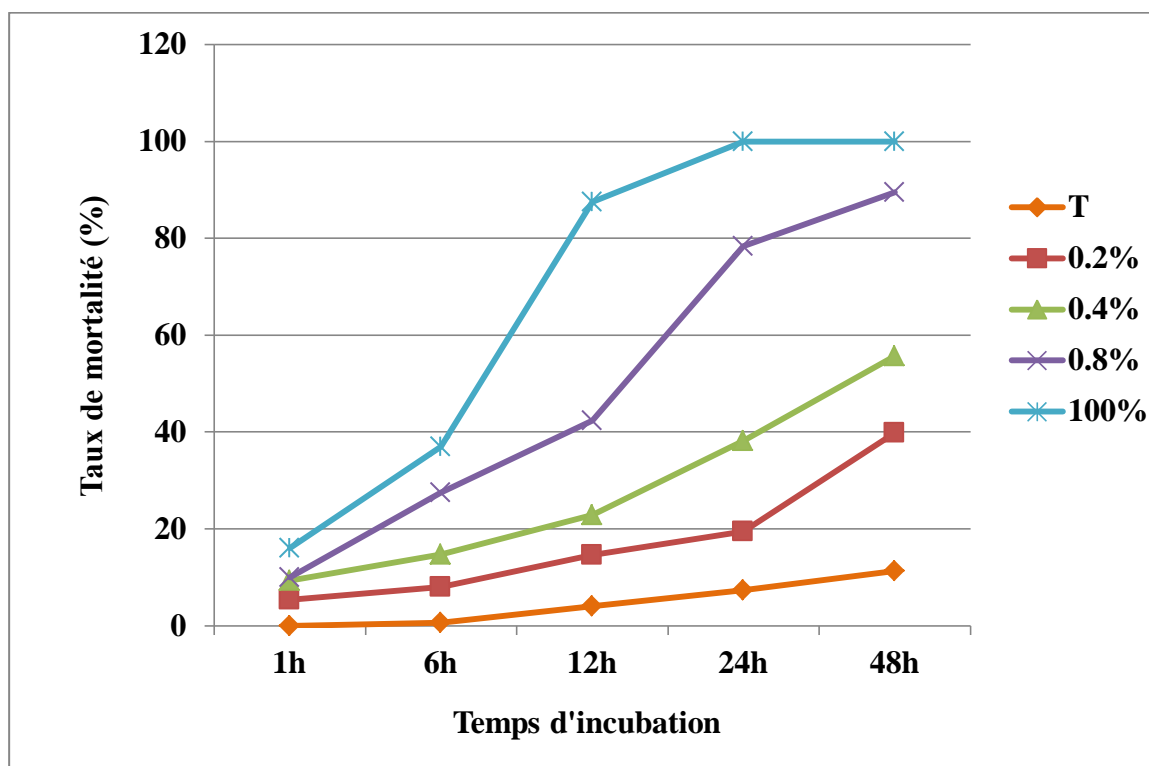
**Figure 18:** Taux de mortalité (%) d'*Aphis spiraecola* en fonction du temps (h) et des concentrations de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

Les résultats de cette figure rapportent que le taux de la mortalité varie selon les concentrations, les valeurs du lot témoin sont plus faibles que celles notées pour les lots traités.

Le pourcentage de mortalité au niveau du lot témoin est de l'ordre de 11.33%, bien qu'au niveau des lots traités, l'HE engendre des taux élevés de mortalité d'*Aphis spiraecola* pour les concentrations 100% et 0.8% qui provoquent une mortalité de 100% et 89.46% après 48h d'exposition (à noter que la concentration de 100% en HE est efficace après 24h d'exposition). Pour les deux autres lots (0.2% et 0.4%), le pourcentage de mortalité est de 39.84% et 55.63% respectivement. L'effet de l'HE augmente donc en fonction de la concentration.

### B- Effet sur la cinétique de la mortalité

Suite à l'exposition des *Aphis spiraecola* aux différentes concentrations de l'HE d'*Eucalyptus radiata*, un suivi expérimental pendant 48h est réalisé. La lecture est faite après (1h, 6h, 12h, 24h et 48h). La figure 19 illustre une cinétique de la mortalité des pucerons au niveau des lots traités et témoin.



**Figure 19:** Cinétique de la croissance du taux de mortalité des insectes (*Aphis spiraecola*) vis-à-vis de l'HE d'*Eucalyptus radiata*.

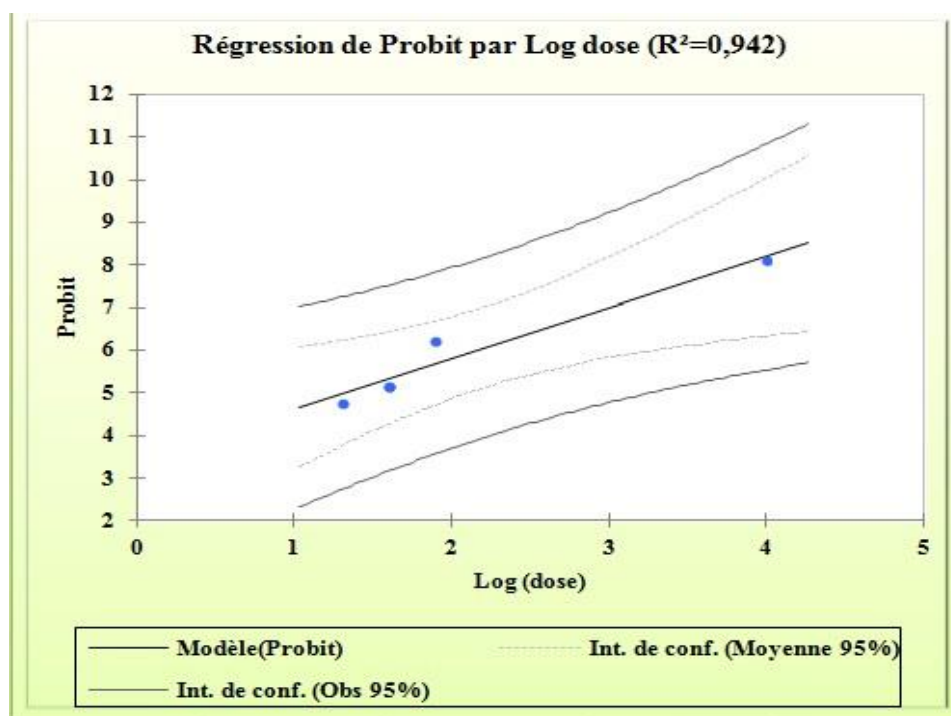
Selon les résultats obtenus, il ressort que pour le lot traité par l'HE pure, un taux de mortalité de 100% est atteint au bout de 24h, alors que pour le lot de 0.8% en HE, 89.46% de mortalité est observé après 48h d'exposition, le taux de mortalité du lot témoin est très faible en raison de l'absence de l'HE.

Le pourcentage de mortalité des autres lots est modéré et augmentent en fonction de la concentration et le temps d'exposition. En effet au bout de 48h elle passe de (5.33 à 39.84%), (9.33 à 55.63%), (10 à 89.46), (16 à 100%) respectivement pour les quatre concentrations (0.2%,0.4% ,0.8% et 100%) en HE.

L'HE d'*Eucalyptus radiata* a montré une activité insecticide importante sur la mortalité des insectes *Aphis spiraecola*, qui dépend de la dose utilisé et de la durée d'exposition.

### C- Efficacité insecticide de l'HE

L'estimation de la dose létale 50 ( $DL_{50}$ ) est effectuée en dressant la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des doses de l'huile essentielle appliquée (Figure 20).



**Figure 20 :** Régression linéaire de la mortalité des *Aphis spiraecola* en fonction des concentrations de l'HE d'Eucalyptus radié après 48h d'exposition.

La droite de régression de la mortalité des *Aphis spiraecola* après 48h d'exposition à différents concentrations d'HE est de la forme, **Probit = 3,45 + 1,18 log (dose)** avec un coefficient de détermination **R<sup>2</sup> = 0,94**, sa **DL<sub>50</sub> = 20,58 µl**.

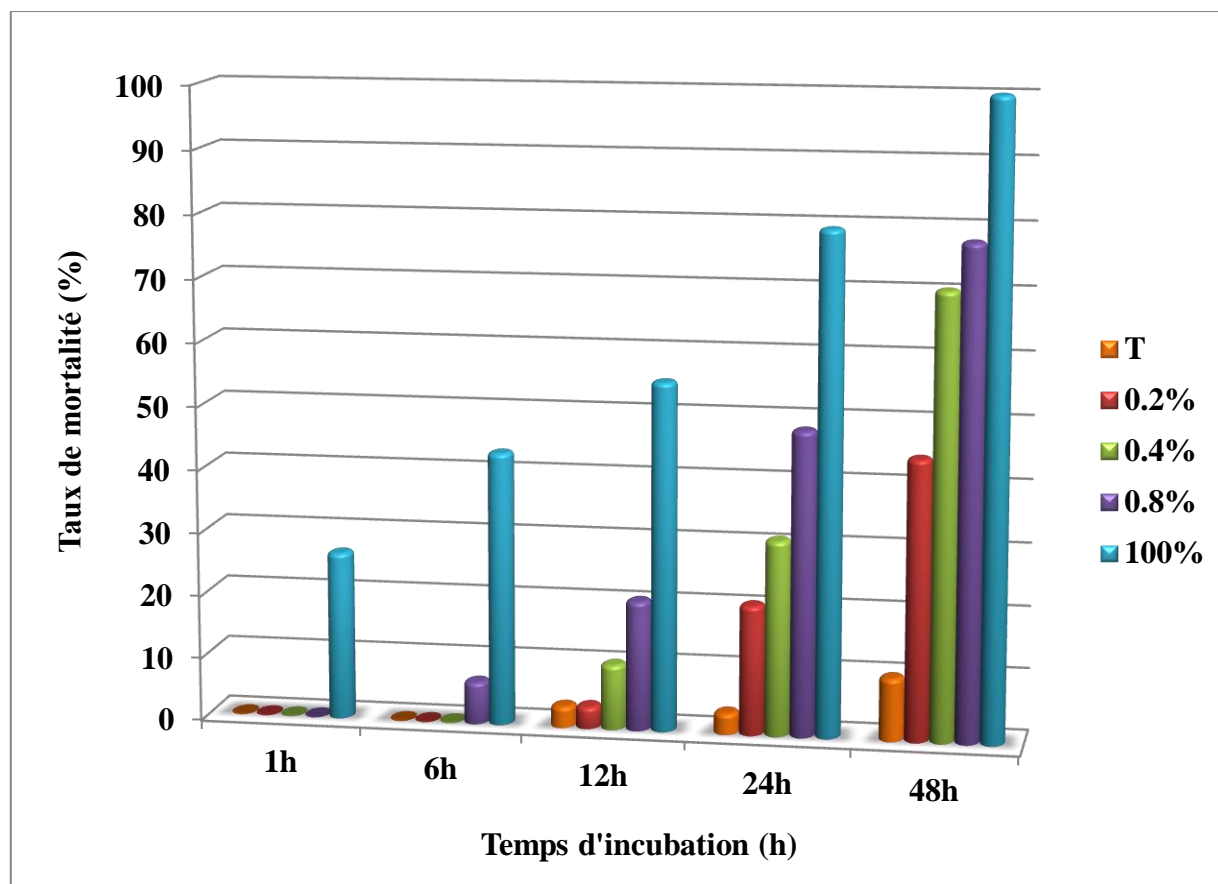
Ces valeurs obtenues montrent une assez bonne activité insecticide de cette plante vis-à-vis les *Ahis spiraecola*, le **R<sup>2</sup>** est proche à 1 donc la probabilité que l'équation fournie reflète correctement la relation entre la dose et le taux de mortalité.

L'analyse de la variance à deux facteurs montre une différence hautement significative pour facteur dose ( $P=0.002$ ,  $F=3,84$ ), et le facteur durée d'exposition ( $P=0.002$ ,  $F=5,9$ ) concernant le paramètre taux de mortalité des *Aphis spiraecola* (tableau 08, annexe 07).

### III-1-2-2 Sur la mineuse de la tomate *Tuta absoluta*

#### A- Effet sur la mortalité

Le taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* obtenu par les différentes concentrations en HE d'*Eucalyptus radiata* est représenté dans la figure 21.



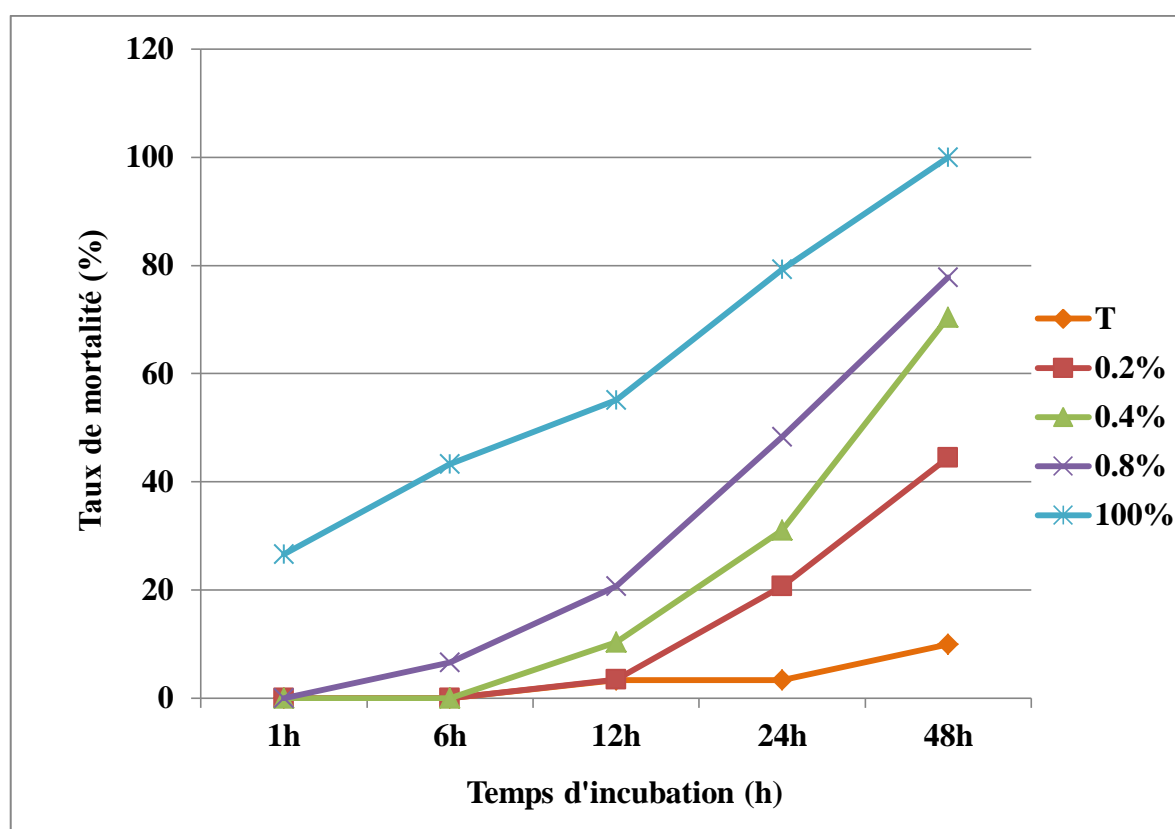
**Figure 21:** Taux de mortalité (%) de *Tuta absoluta* en fonction du temps (h) et des concentrations de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

A l'état pure, l'HE a révélé une mortalité de 100% au bout de 48h, pour les autres lots la mortalité est de 44.44%, 70.36% et 77.77% respectivement pour les concentrations (0.2%,0.4% et 0.8%) en HE, un taux de mortalité faible a été enregistré dans le lot témoin (10%).

### B- Effet sur la cinétique de la mortalité

La figure 22 montre que l'effet de l'HE contre les larves de *Tuta absoluta* n'a été enregistré qu'à partir de 6h pour les concentrations 0.2% et 0.4% et atteint 44.44% et 70.36% après 48h d'exposition, par contre l'évolution de la mortalité est noté avant 1h pour la dose pure et après 1h pour la dose 0.8%.

Les témoins mis dans les mêmes conditions que les lots traités par l'HE montrent qu'avant 6h aucune larve n'est morte.



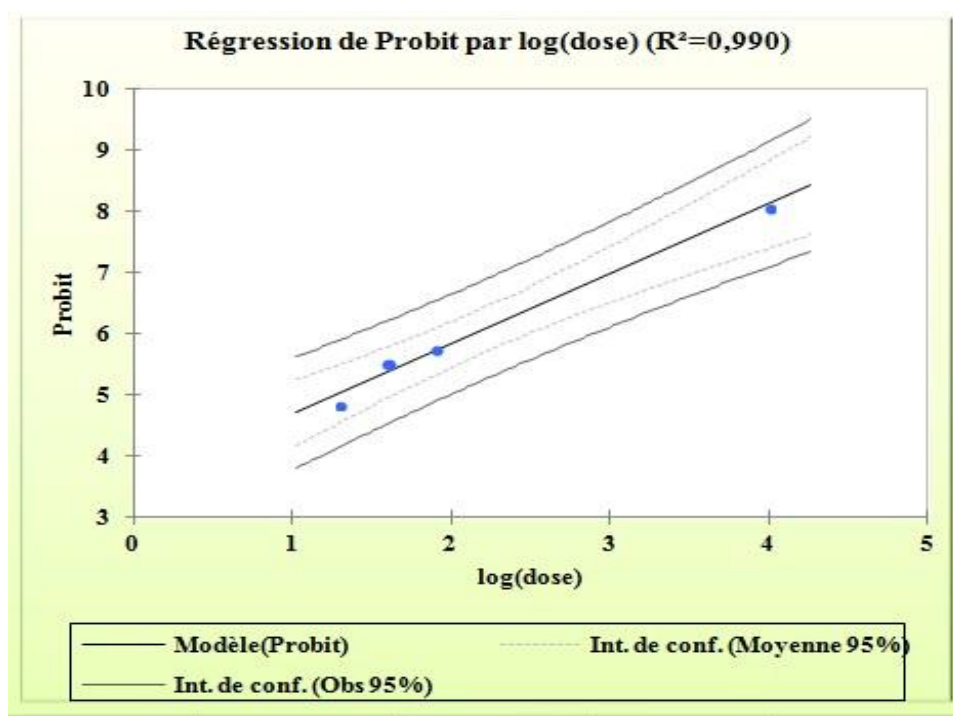
**Figure 22 :** Cinétique de la croissance du taux de mortalité des *Tuta absoluta* vis-à-vis de l'HE d'*Eucalyptus radiata*.

Les résultats du test d'activité bio-insecticide de l'HE d'*Eucalyptus radiata* indiquent une relation directe sur le pourcentage de la mortalité des larves de *Tuta absoluta* avec la concentration de l'HE et le temps d'exposition, plus la concentration en HE est élevée plus le taux de la mortalité augmente au bout de 48h.

### C- Efficacité insecticide de l'HE

La droite qui donne la mortalité (exprimés en unités probits) en fonction du logarithme la dose administrée a été tracée, et la détermination de la DL50 est effectuée en utilisant l'équation de la droite de régression (Figure 23). **Probit = 3.53 + 1.14 log (dose)**, le coefficient de détermination  **$R^2 = 0,99$** , et sa **DL<sub>50</sub>** déduite est égale à **19,47 µl**.

La valeur  **$R^2$**  est proche à 1 donc la probabilité que l'équation fournie reflète correctement la relation entre la dose et le taux de mortalité. Donc l'huile essentielle d'Eucalyptus radié exerce une assez bonne activité insecticide contre les larves des mineuses *Tuta absoluta*.



**Figure 23** : Régression linéaire de la mortalité des *Tuta absoluta* en fonction des concentrations de l'HE d'Eucalyptus radié après 48h d'exposition.

L'analyse de la variance des moyennes de la mortalité des *Tuta absoluta* en fonction de la dose et la durée d'exposition à l'HE (tableau 09, annexe 07) au bout de 48h, montre des différences hautement significatives pour le facteur dose ( $P=0,008$  et  $F=16,78$ ), et le facteur durée d'exposition ( $P=0.008$   $F=26,62$ ).



### III-2 Discussion

Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas beaucoup de travaux déjà réalisés sur l'activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*. Pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus pour les autres espèces d'Eucalyptus.

Les résultats du test antimicrobien par la méthode d'aromatogramme montrent que les bactéries testées sont sensibles à l'huile (avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 7,1 et 14,6 mm) sauf pour *Pectobacterium carotovorum* (S1) et (S2) qui se montrent résistantes à la concentration de 5µl, alors que le test antifongique a révélé une inhibition de 86,26 % de la croissance mycélienne pour la dose 20 µl. et une activité insecticide importante contre *Aphis spireacola* et *Tuta absoluta*.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* exerce une activité insecticide importante vis-à-vis les insectes (*Aphis spireacola* et *Tuta absoluta*).

Les souches bactériennes testées sont tous à Gram négatif, se sont avérées résistantes. Plusieurs travaux notamment ceux de **Souza et al. (2006)**; **Ahmad et al. (2006)**; **Ağaoğlu et al. (2007)**; **Derwich et al., (2010)** et **Bari et al., (2010)** ont confirmé la grande résistance des bactéries G- par rapport aux G+. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al., 2001**; **Bagamboula et al., 2004** ; **Upadhyay et al., 2010**).

Parmi les souches étudiées, *Pectobacterium carotovorum* (S1 et S2), s'est montrée résistante. En fait, ces bactéries possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes (**Kettani , 2012**).

En effet, les différences des résultats pourraient être attribuées à la nature même de la composition chimique de l'huile. Selon **Oussalah et al ., (2006)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants. Ainsi les composés chimiques les plus efficaces et qui possèdent un large spectre d'action antimicrobienne sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, menthol,

géraniol, linalol), les aldéhydes (géraniol, citral et néral), les cétones (carvone, pulégone et camphre) (Dorman et Deans, 2000; Oussalah *et al.*, 2006).

L'activité antifongique d'huile essentielle d'*Eucalyptus radié*, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle Giordani *et al.*, (2008).

Le mécanisme d'action des composés phénoliques d'huile essentielle sur les champignons est fondé principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif Celimen *et al.*, (1999).

D'autres études ont montré que l'activité antifongique des huiles essentielles d'*E. camaldulensis* riches en 1,8-cinéole serait due au moins partiellement à l'action de ce monoterpène ; les mécanismes d'action des monoterpènes sur l'inhibition de la croissance des cellules fongique et végétale restent encore obscurs malgré les nombreux travaux sur les effets inhibiteurs des monoterpènes sur les plantes. Cependant, de tous les effets possibles des monoterpènes sur les membranes biologiques, les effets délétères sur les membranes mitochondriales devraient provoquer une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, ce qui entraîne des perturbations dans un large éventail des processus physiologiques et biochimiques dans la cellule (Yoshimura *et al.*, 2010).

Selon Nicolas H.J (1973), Le 1,8-cinéole et le camphre agiraient comme agents allélopathiques en inhibant la germination des organes de propagation, d'infection et la croissance des agents pathogènes issus de ces organe.

Les résultats du test bio-insecticide ont montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est plus toxique lorsqu'il est appliqué sous sa forme pure, provoquant une mortalité de 100% d'insectes après 48h d'exposition, ces résultats sont similaire à ceux menées par Hedjal-Chebheb (2014), qui a montré l'effet insecticide des huiles essentielle des Myrtacées et des résineux à l'égard de *C. maculatus*, cette toxicité est liée aux composées majoritaires des huiles essentielles ( Le 1,8-cinéole et l' $\alpha$ -Pinène), notent que les monterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques et agissent en fonction de leur nature chimique.

De même, les travaux de **Batish et al. ., (2008)** ont montré l'effet insecticide de l'huile essentielle d'*E.globulus* sur la fécondité, le taux d'éclosion des œufs et l'émergence des adultes chez *A.obtectus*.

Pour les essais de l'HE sur chaque insecte, les résultats des tests statistiques montrent qu'il existe une variation concernant le taux de mortalité, qui dépend de la dose utilisée en huiles essentielles et la durée d'exposition. L'évaluation de la mortalité des *Aphis spireacola* et les larves des *Tuta absoluta* ont révèlè une différence hautement significative.

Les essais réalisés ont montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a un effet bio-insecticide sur les deux insectes quelle que soit leurs stade de développement. Selon **Kim et al., (2003)**, l' effet toxique des huiles essentielles dépendent de l'espèce d'insecte, et du temps d'exposition.

En raison des inconvénients liés à l'application des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatifs naturels présentent au vu de nos résultats et ceux de nombreux auteurs, des avantages écologiques et économiques est intéressant.

Les résultats obtenus bien que préliminaires, témoignent une activité antifongique et bactérienne et une bonne activité insecticide de la plante, qui ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des huiles essentielles dans la production des biocides.

Dans ce présent travail, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* des activités antibactériennes, antifongiques et insecticides de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus radié*.

En matière d'activité antimicrobienne, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* s'est montrée modéré vis-à-vis des souches bactériennes testées ceci est dû à la nature de la composition chimique de l'huile ou elles possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cependant, la même huile a manifesté une activité antifongique sur *Botrytis cinerea*, *Fusarium gramineum* et *Colletotrichum gloeosporioide*.

Les résultats obtenus témoignent une bonne activité insecticide de la plante, qui ouvre des perspectives intéressantes pour l'application d'extraits des huiles essentielle dans la production des biopesticide.

En conclusion, l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* à des activités intéressantes sur les insectes ainsi que sur les champignons testés. Tandis qu'il est moyennement active sur les bactéries. Il a été constaté que ces activités varient en fonction de la souche microbienne testée et de la dilution de l'huile appliquée.

Ces résultats préliminaires se révèlent importants, ne sont pas définitifs. D'autres recherches telles que tester l'efficacité de cette huile essentielle sur d'autres bio-agresseurs et l'isolement des molécules naturelles en vue de leur utilisation en agriculture et plus précisément en agriculture biologique serait intéressantes.

## Références bibliographiques

---

- **Abbott W. S (1925)**. A method for computing effectiveness of an insecticide. *Journal. Ecological Entomology*, 18, pp: 265-267.
- **Ağaoğlu S., Dostbil N. and Alemdar S (2007)**. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy* 51, pp.53-57.
- **Ahmad A.M., Khokhar I., Ahmad I., Kashmiri M.A., Adnan A. and Ahmad M.(2006)**. Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum*. *Internet Journal of Food Safety*, Vol. 5, pp.56-60.
- **Amusa, NA, Ashaye, OA, Oladapo, MO, et Oni (2005)**, MO goyave anthracnose et les effets sur ses valeurs nutritionnelles et de marché à Ibadan, *World J Agric Sci* ; 1:. 169-172.
- **ANSM , Recommandations de l'AFSSAPS (août 2008)** concernant les produits cosmétiques base de terpénoïdes : camphre, eucalyptol, menthol. [en ligne] :  
[http://www.ansm.sante.fr/S-informer/Presse-Communiqués-Points-presse/Camphreeucalyptol-et-menthol-dans-les-produits-cosmetiques-destines-aux-enfants-l-Afssapspublic-de-recommandations-pour-les-industriels/\(language\)/fre-FR](http://www.ansm.sante.fr/S-informer/Presse-Communiqués-Points-presse/Camphreeucalyptol-et-menthol-dans-les-produits-cosmetiques-destines-aux-enfants-l-Afssapspublic-de-recommandations-pour-les-industriels/(language)/fre-FR) (dernière consultation: novembre 2013).
- **ATLAS OF LIVING AUSTRALIA. *Eucalyptus radiata*%**: Common Peppermint |Atlas of Living Australia. [en ligne]. [Consulté le 17 juin 2015]. Disponible à l'adresse :[http://bie.ala.org.au/species/urn:lsid:biodiversity.org.au:apni.taxon:306286#tab\\_gallery](http://bie.ala.org.au/species/urn:lsid:biodiversity.org.au:apni.taxon:306286#tab_gallery).
- **Bailey, K. L., Couture, L., Gossen, B. D., Gugel, R. K., & Morrall, R. A. A. (2004)**. Maladies des grandes cultures au Canada. *Société Canadienne de Phytopathologie*, 318.
- **Bajpai V.K. and Kang S.C., 2010**. Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: pp. 327-336.
- **Bakkali F., Averbeck S ., Averbeck D. & Idaomar M (2008)**. Biological effects oils. A review Science Direct. *Food and chemical Toxicology*. Vol 46: 446-475.
- **Bari M.A., Islam W., Khan A.R. and Mandal A (2010)**. Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). *Int. J. Agric. Biol.*, 12: pp. 386-390.
- **Baser K.H.C. and Buchbauer G (2010)**. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p.

- **Bassole I. H. N., Ouattara A. S., Nebie R., Ouattara, C. A. T. Kabora, Z. [., Traore, S.A. (2002).** Composition chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Cymbopogon proximus* (Stapf.) et *Ocimum canum* (Sims). Pharm. Méd. Trad. AF, Vol. II, pp.37-51.
- **Batish D.R, Palsingh H ; Kumar Kohli R, Kaur S (2008).** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and management Vol 256= 2166-2174.
- **Bonnemain J.L., Chollet J.F (2003).** The arsenal of agrochemical products versus the plant enemies: General considerations. C.R. Biology, 326, 1-7.
- **Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. et Chaabouni M.M., (2008),** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *J. Soc. Chim. Tunis.*, **10**, 119-125.
- **Bové J (2001).** Introduction à la séance commune consacrée aux agents pathogènes des plantes : Découverte, pathogénie, problèmes de sociétés. C. R. Acad. Sci., Paris, Ser. Cér. III, 324, 873-874.
- **Brown A.G., Nambiar E.K.S., Cossalter C (1999).** Plantations in the tropics- their role, extent and nature. In: Management of soil, nutrient and water in tropical plantations forests. Eds E.K.S Nambiar et A.G. Brown, ACIAR Monograph No 43, 1-19.
- **Burt S (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, pp.223-253.
- **CAB International (2005).** Crop Protection Compendium, édition 2005. Wallingford, UK: CAB International. [cabicompendium.org/cpc](http://cabicompendium.org/cpc).
- **Camille Jacquemond, Franck Curk, Marion Heuzet (2013).** Les clémentiniers et autres petits agrumes. Edition Quae, p 296.
- **Cannon, P.F., Pont, P.D et Monte (2000).** E. Lier le passé, le présent et l'avenir de *Colletotrichum* Dans:.. *Colletotrichum* - Hôte Spécificité, Pathologie et interaction hôte-pathogène (eds D Prusky, S Freeman, MB Dickman) *APS Press, St Paul, Minnesota*, 1-20.
- **Carol C. Mapes, 2008-** Gall formation. *Journal of Basic Microbiology*. 48, 370-377.

- **Celimene C.C., Micales J.A., Ferge L. and Young R.A (1999)**. Efficacy of pinosylvins against white rot and brown rots fungi. *Holz forschung*, 53 :pp491- 497.
- **Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., and Chang S (2009)**, Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, *Bioresour. Technol.*, **100**, 452-456.
- **Charkowski A.O ( 2006)**. The Soft Rot *Erwinia*. In: Samuel S. Gnanamanickam (Ed.). *Plant-Associated Bacteria*, pp. 423-505.
- **Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., and Chang S, (2009)**, Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species, *Bioresour. Technol.*, **100**, 452-456.
- **Csesk. J et Kaufman P.B., (1999)**. How and why these compounds are synthesized by plants. *Natural products from plants*. CRC Press, Boca Raton FL. Pp: 37-90.
- **De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. & Marquier P., (2002)**. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène*. Vol. X - N°3, pp. 248-254.
- **Derwich E., Benziane Z. & Boukir A (2010)**. GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6 (3):pp. 191-198.
- **Dorman H.J.D. et al.**, Antimicrobiol agents from plants : antibactériel activity of plant volatile oil, *Journal of Applied Microbiology*, 2000, 88:308-316.
- **Dye D.W. (1969)**. A taxonomic study on the genus *Erwinia*: II. the “*carotovora*” group. *New Zealand Journal of Science* **12**, 81–97.
- **El haib A (2011)**. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse. Université de Toulouse III- Paul Sabatier. 195 p.
- **Evelyne Turpeau, Maurice Hullé, Bernard Chaubet**, Fihe d'identification d'Aphis spiraecola, Octobre 2014.
- **Finney D. J., (1971)**. Statistical method in biological assay, 2<sup>nd</sup> edition. *London:Griffin*, 333p.
- **Flores R.**, A naked plant- specific RNA ten- fold smaller than the smallest know viral RNA : The viroid. *C . R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, 324, 943-952.
- **Fokialakis N, Osbrink WLA, Mamonov LK, Gemejieva NG, Mims AB Skaltsounis AL, Lax AR (2006)**, Cantrell CL, Antifeedant and toxicity effects of thiophenes from four *Echinops*

species against the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. *Pest Management Science* 2 : 832 – 838.

- **Gao, Z., Huang, K., Yang, X., Xu, H. (1999)**. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem. Biophys. Acta.*,1472: 643-650.

- **Gilly G., 1997**. Les plantes à parfum et huiles essentielles à grasse. Ed : L'Harmatan. P97-104.

- **Giordnai R., Hadeif Y., Kaloustian J. (2008)**. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* ,79 : pp199-203.

- **Guenauoui et Ghelamallah. (2008)**. *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) nouveau ravageur de la tomate en Algérie. Premières données sur sa biologie en fonction de la température. *Conférence Proceeding* 8.

- **Guido Marchi, Carlo Viti, Luciana Giovannetti and Guiseppe Surico, (2005)**. Spread of levan positive populations of *Pseudomonas savastanoi* Pv. *Savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy, *European Journal of Plant Pathology* (2005). 112: 101-112.

- **Guignard. J.L (2001)**. *Abrégé Botanique Systématique Moléculaire* 12Eds Révisée.

- **Gulluce M, Sokmen M, Daferera D, Agar G, Ozkan H, Kartal N, Polissiou M, Sokmen A, Sahin F (2003)**. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *J. Agri. Food Chem.* 51: 3958-3965.

- **Hauben L., Swings J. (2005)**. Family I. Enterobacteriaceae. Genus XIII. *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith 1920, 209 AL emend. Hauben, Moore, Vauterin, Steenackers, Mergaert, Verdonck and Swings 1999a, 1. In: George M. Garrity (eds). Second Edition. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The Proteobacteria vol 2. The Gammaproteobacteria, part B, pp. 670-679.

- **Hedjal-Chebheb M. (2014)**. Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de



leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines de stockées, *Callosobruchus maculatus* F.1775 (Coleoptera : Bruchidae). 103p.

- **Inouye, S., Tsuruoka, T., Uchida, K., Yamaguchi, H. (2001).** *Microbiol. Immunol.*, 43, pp.201–208. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.

- **Isman M.B., (2002).** Problems et perspectives des commercialisations des insecticides d'origine végétale. Pp 300-311.

- **Jazet Dongmo P.M., Tatsadjieu L.N., Tchinda Sonwa E., Kuate J., Amavm Zollo P.H., and Menut C., (2009),** Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*, *African Journal of Agricultural Research*, 4(4), 354-358.

- **Kettani M.H., (2012).** Etude de la diversité de *Pectobacterium spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes, 218p.

- **Kim S., Roh J., Kim D., Leeh., & Ahn Y., (2003).** Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Prod. Res*, 39, pp: 293-303.

- **Kordali S., Cakir A., Zengin H.& Duru M. E, (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*. 74 p: 164-167.

- **Kretschmer, M., Kassemeyer, H.H., and Hahn, M. (2007).** Age-dependent grey mould susceptibility and tissue-specific defence gene activation of grapevine berry skins after infection by *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopathology* 155: 258-263.

- **Koziol N, (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité, 128p.

- «La forêt algérienne » éditer par l'Institut national de recherché forestière- Bainem- Alger février-mars 1996 page 10.

- **Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarcoj. B., Pizzolatti M. G., and Brighente I. M. C., (2009)**, Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species, *J. Nat. Med.*, **63**, 345-350.
  
- **Martinez, F., Dubos, B., and Fermaud, M. (2005)**. The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology* 95: 692-700.
  
- **Maslouhy**. Contribution à l'étude in vitro et in situ des antagonistes de *Fusarium oxysporum* agent causal du bayoud ,Thèse doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des Marrakech,98 p,1989.
  
- **Mezaache M, (2012)**. Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de pseudomonas isolées de la rhizosphère de la pomme de terre, 221p.
  
- **Mohammedi Z., Bachik S. & Belkaroube N. (2010)**. Potentiel antifongique et antiaflatoxinogène des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. *Les Technologies De Laboratoire*.Vol. 5, N°19, pp.10-15.
  
- **Momol, M. T., & Aldwinckle, H. S. (2000)**. Genetic diversity and host range of *Erwinia amylovora* (pp. 55-72). Wallingford, UK: CABI Publishing.
  
- **Nait Achour K, (2012)**. Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'Eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou,125 p.
  
- Nelson** (2008), SC Mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) de *maladies des plantes*, 48.
  
- **NICOLAS H. J. (1973)**, Phytochemistry, Organic metabolites Vol. 11 Yonkers, New-York.
  
- **Oussalah M., Caillet S., Sallmiéri S., Saucier L. et Lacroix M. (2006)**. Antimicrobial effects of alginate based film containing essential oils for preservation of whole beef muscle. *Journal of food Protection*. 69 (10), Pp 2364-2369.

- **Penyalver, A. Garcia, A. Ferrer, E. Fertolini, J.M. Quesada, C.I.Salcedo, J. Piquer, J. Pérez-Panadés, E.A. Carbonell, C. Del Rio, J.M. Caballero, and M.M. Lopez, (2005).** Factors Affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* Plant Inoculations and their Use for Evaluation of Olive Cultivar Susceptibility, *The American Phythological Society* 10.1094.
  
- **P. Franchomme, Roger Jollois, et le Docteur Daniel Penoël (2001).** *L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques (fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*, Editions Roger Jollois , pages 379-380.
  
- **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 36, pp.679-684.
  
- **Pr. Dr. M.J Bigendako, (2004).** Identification et Zonage des Eucalyptus Globulus au Rwanda, page 01, Chemonics International Inc., projet ADRAR.
  
- **Regnault Roger C., Fabres G. et Pholagene B. (2005).** Enjeux phytosanitaire pour l'agriculture et l'environnement, Edit Tech & Doc, Paris, 1013 p.
  
- **Regnault Roger C., Phylogene B. et Vincent C. ( 2002).** Biopesticide d'origine végétale, Edit Tec et Doc, 337 p.
  
- **Regnault-Roger C., Ribodeau M, Hamraoui A, Bateau I, Blanchard P, Gil-Munoz MI, Barberan FT. (2004).** Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *A. obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research.* 40: 395-408.
  
- **Sen-Sung C, Ju-Yun L, Chun-Ya L, Yen-Ray H, Mei-Chun L, Wen-Jer W, Shang-Tzen C, (2008).** Terminating red imported fire ants using *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil. *Bioresource Technology* 99 : 889 – 893 .
  
- **Souza E.L., Barros C.J., Conceição M.L., Neto N.J.G. and Costa A.C.V., (2009).** Combined application of *Origanum vulgare* L. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods. *Brazilian Journal of Microbiology* ; 40: pp.387-393.

- **Tajkarimi M.M, Ibrahim S.A.& Cliver D.O., (2010).** Antimicrobiol herb and spice compounds in food. *Food control*. Vol 21:1199-1218.
- **Thomson, S.V. (2000)** In: Fire blight: the disease and its causative agent, *Erwinia amylovora*. CABI.
- **Upadhyay R.K., Dwivedi P. and Ahmad S., (2010).** Screening of antibacterial activity of six plant essential oils against pathogenic bacterial strains. *Asian Journal of Medical Sciences* 2 (3): pp.152-158.
- **Van der Zwet, T., Orolaza-Halbrecht, N., Zeller, W. (2012).** Fire Blight, History, Biology, and Management. *Journal of Phytopathology*, 160, 460 p., pp. 83-91.
- **Werner, Monika et Braunschweig, Ruth von (2008).** L'aromathérapie principes, indications, utilisations. Paris : Vigot.
- **Wilkinson J.M., (2006).** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapter VIII. pp.157-165. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. *Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs*. Ed. *WILEY-VCH* Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.
- **Xue, A., Voldeng, H., & Pandeya, R. (2001).** Summary selected Fusarium research projects at AAFC. *Agriculture and Agri-food Canada*.
- **Yoshimura H., Sawai Y., Tamotsu S., and Sakai A., (2010),** 1,8-cineole inhibits both proliferation and elongation of BY-2 cultured tobacco cells, *J Chem Ecol.*, 1-9.