



Année Universitaire : 2021-2022



Master Sciences et Techniques CMBA

Chimie des Molécules Bio Actives

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et
Techniques

**L'activité antifongique des huiles essentielles sur le
*Botrytis cinerea***

Présenté par :

Ben Tahir Chaymae


Encadré par:

- Dr. Bentata Fatiha INRA Rabat
- Dr. Labhilili Mustapha INRA Rabat
- Pr Farah Abdellah FST Fès

Soutenu Le 18 Juillet devant le jury composé de :

- Pr Abdellah Farah FST Fès
- Pr Adiba Kandri Rodi FST Fès
- Pr Youssef Kandri Rodi FST Fès
- Dr. Bentata Fatiha INRA Rabat
- Dr. Labhilili Mustapha INRA Rabat

Stage effectué à : Institut de recherche Agronomique de Rabat



Remerciements

*Avant tout je remercie ALLAH le tout puissant de
M'accorder la santé, le courage et la patience pour
toutes*

*Ces longues années d'étude et pour la réalisation de ce mémoire
Que j'espère être utile.*

*Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et mes vives
Reconnaissances à mes encadrants Monsieur Abdellah Farah de la
Faculté des sciences et techniques de Fès, Madame Fatiha Bentata et
Monsieur Mustapha Labhilili de l'institut de recherche agronomique
Qui ont acceptés de m'encadrer, pour me conseiller et m'orienter tout au
long de la réalisation de ce travail.*

*Je remercie vivement les membres de jury : Pr. Abdellah Farah, Pr. Adiba
Kandri Rodi et Pr. Youssef Kandri Rodi.*

*Je suis très honorée que vous avez accepté la présidence
Du jury de ce mémoire. Trouver ici l'expression de mes sincères
Remerciements et soyez assurer de mes profondes gratitudes.*

*A toute personne ayant participé de près ou de loin dans
L'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs
Remerciements*



Dédicace

Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ceux qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute notre existence.

Je dédie ce modeste travail :

***A mon chère père qui à veillée sur moi pendant toute ma vie.
A ma mère, sans elle, je n'aurais pas abouti à ce stade d'étude,
que Dieu puisse m'aider à l'honorer, la servir et la combler***

A mon frère : Ilyas

A ma soeur : Imane

Et à toute ma famille et mes proches.

A tous mes amis

A mes collègues de master Chimie des molécules bioactifs

Chaymae ben Tahir

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales marocaines réputées pour leurs vertus thérapeutiques il est consacré d'une part, à une étude ethnobotanique et d'autre part à l'extraction des huiles essentielles, et l'identification de la composition chimique des huiles essentielles des plantes médicinales *Thymus Broussneti*, *Lavande officinalis*, *Eucalyptus camaldulensis Dehnh*, *Artémisia herba alba* et le *Rosmarinus officinalis* dont l'objectif visé est d'étudier leur activité antifongiques contre *Botrytis cinerea* en utilisant la méthode de contact direct. Nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles des parties aériennes des plantes par la technique d'hydrodistillation. Le rendement d'extraction obtenu est de 3.8% Pour l'armoise blanche, 2% pour la lavande, 1.13% pour le romarin ainsi le thym avec un rendement de 3% et 0.63% pour l'Eucalyptus. La composition chimique des huiles essentielles a été analysé par GC-MS et 30 composants pour chaque huiles ont été identifiés: l' α -pinène (32,818%) pour le romarin, linalyl acetate (26,175%) pour Lavande, ainsi le Carvacrol (21,407%) pour le thym et 1,8-Cinéol (68.034%) et α -thujone (65%) pour L'eucalyptus et l'artémisia respectivement sont les composants majoritaires. L'activité antifongique des cinq huiles essentielles a été réalisée in vitro sur le champignon parasite de tomate *B.cinerea* par la méthode de contact direct. La comparaison entre les activités des différents HE sur *Botrytis cinerea*, montre que *Thymus Broussneti* montre un grand pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de champignon phytopathogène avec une CMI de (0.5 μ l/ml), Ainsi, selon l'activité des HE sur le phytopathogène, ces huiles ont été classées dans l'ordre décroissant suivant *Thymus Broussneti* > *Lavande officinalis* > *Artimisia herba alba* > *Rosmarinus officinalis* > *L'Eucalyptus camaldulensis Dehnh*.

Mots clés: *B. cinerea*, GC-MS, *Thymus Broussneti*, *Lavande officinalis*, *Artimisia herba alba*, *Rosmarinus officinalis*, *L'Eucalyptus camaldulensis Dehnh*. L'activité antifongique, huile essentielle, CMI

Abstract

This work is part of the promotion of Moroccan medicinal plants known for their therapeutic virtues, it is devoted on the one hand to an ethnobotanical study and on the other hand to the extraction of essential oils, and the identification of the chemical composition whose objective is to study the antifungal activity of the oils. Essential medicinal plants *Thymus Broussneti*, *Lavender officinalis*, *Eucalyptus camaldulensis Dehnh*, *Artimisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis*. We have extracted essential oils from the aerial parts of plants using the hydrodistillation technique. The extraction yield obtained is 3.8% for white mugwort 2% for lavender 1.13% for rosemary and thyme with a yield of 3% and 0.63% for eucalyptus. The chemical composition of essential oils was analyzed by GC-MS and 30 components for each oil were identified: α -pinene (32.818%) for rosemary, linalyl acetate (26.175%) for Lavender, and Carvacrol (21.407%) for thyme and 1,8-Cineol (68.034%) and α -thujone (65%) for eucalyptus and artimisa respectively are the major components. The antifungal activity of the five essential oils was carried out in vitro on the tomato parasitic fungus; *B.cinerea* by the direct contact method. The comparison between the activities of the different EOs on *Botrytis cinerea* shows that *Thymus Broussneti* shows a great power to inhibit the mycelial growth of phytopathogenic fungi with an MIC of (0.5 μ l/ml), Thus, according to their activities on the phytopathogen, these oils were classified in descending order according to *Thymus Broussneti* > *Lavender officinalis* > *Artimisia herba Alba* > *Rosemary* > *Eucalyptus camaldulensis Dehnh*.

Keywords: *B. cinerea*, GC-MS, *Thymus Broussneti*, *Lavender officinalis*, *Artimisia herba Alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Eucalyptus camaldulensis Dehnh*. Antifungal activity, essential oil, CMI.

Liste des figures

Figure 1: Symptômes de la maladie de la pourriture grise causée par <i>Botrytis cinerea</i> . Sur différentes plantes et des organes. (A) Plaie d'écrouissage sur tomate. (B) Tige de tomate. (C) Inflorescence. (D) Fruit de tomate. (E) Feuille de tomate. (F) Laitue. (G) Fleurs du rosier. (H) Grappe du raisin. (I) Fraise. (J) Poivron. (K) Kiwi. (L) Pomme.....	4
Figure 2.Exemples de quelques préparations pharmaceutiques contenant des huiles essentielles.....	7
Figure 3: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.....	8
Figure 4: Extraction d'une huile essentielle	14
Figure 5: Schéma d'une installation de l'hydrodistillation.....	15
Figure 6: Schéma simplifié d'un extracteur au CO2 supercritique.....	16
Figure 7: Exemples de voies de synthèse de composants d'huiles essentielles: a) Le menthol et b) la vanilline et l'éthylvanilline	17
Figure 8: schéma de chromatographie en GC-SM	19
Figure 9: L' <i>Artemisia herba Alba</i> (Safi)	22
Figure 10: <i>Thymus broussonetii</i> (Taounate).....	23
Figure 11: divers parties de lavande	25
Figure 12: le Romarin (Guiche Rabat).....	26
Figure 13: <i>E.camaldulensis</i> Dehnh (GUICHE Rabat)	28
Figure 14: Montage d'Hydrodistillation	31
Figure 15: appareil de chromatographie gazeuse couplée de spectrométrie de masse	32
Figure 16: le champignon testé: <i>Botrytis cinerea</i> vue macroscopique.....	33
Figure 17: Chromatogramme de l'huile essentielle de Romarin obtenu par analyse GC-MS37	
Figure 18: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Lavandula officinalis</i> obtenu par analyse GC-MS.....	38
Figure 19: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Thymus Broussneti</i> obtenu par analyse GC-MS.....	40
Figure 20: Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehneh obtenu par analyse GC-MS.....	42
Figure 21: Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>L'Artemisia Herba alba</i> obtenu par analyse CPG.....	44
Figure 22: Activité inhibitrice de l'huile essentielle de Romarin sur la croissance mycélienne de <i>B.cinerea</i>	45

<i>Figure 23: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de lavande sur la croissance mycélienne de B.cinere.....</i>	46
<i>Figure 24: Taux d'inhibition de l'huile essentielle d'Artemisia herba alba sur la croissance mycélienne de B.cinerea.....</i>	47
<i>Figure 25: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de Thymus Broussneti sur la croissance mycélienne de B.cinerea.....</i>	48
<i>Figure 26: Taux d'inhibition de l'huile essentielle d'Eucalyptus camaldulensis Dehnh sur la croissance mycélienne de B.cinerea.....</i>	49
<i>Figure 27: Comparaison entre les cinq plantes pour la concentration 1µl/ml.....</i>	50

Liste des Tableaux

<i>Tableau 1: Origine de récolte de plantes étudiées.....</i>	30
<i>Tableau 2: composition chimique de l'huile essentielle de Romarin.....</i>	36
<i>Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle Lavande officinalis.....</i>	37
<i>Tableau 4: Composition chimique de l'huile essentielle ThymusBoussneti.....</i>	39
<i>Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle L'Eucalyptus camaldulensis Dehneh.....</i>	41
<i>Tableau 6: Composition chimique de l'huile essentielle L'Artémia herba alba.....</i>	43

Liste des abréviations

1	OMS	Organisation mondiale de la santé
2	PAM	Plantes aromatiques et médicinales
3	B. cinerea	Botrytis cinerea
4	H.E	Huile essentielle
5	ISO	Organisation internationale de normalisation
6	I	Taux d'inhibition
7	C°	Degré Celsius
8	j	jours
9	Rdt	Rendement
10	RT	Temps de rétention
11	GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse
12	CMI	Concentration minimale inhibitrice
13	INRA	Institut de recherche Agronomique

TABLE DES MATIERES

Contenu

Introduction générale.....	1
<i>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	3
I. Description d'espèce fongique <i>B.cinerea</i>	4
1. Généralité sur le <i>Botrytis cinerea</i>	4
2. Nomenclature et systématique.....	5
3. Classification	5
4. Lutte contre <i>Botrytis cinerea</i>	5
4.1. Lutte culturaux.....	5
4.2. Lutte chimique.....	6
4.3. Lutte biologique.....	6
II. Les huiles essentielles.....	6
1. Définition des huiles essentielles:.....	6
2. Localisation des huiles essentielles dans divers parties de la plante.....	8
3. Propriétés physico-chimiques	9
4. Composition chimique et biosynthèse	9
4.1. Composition chimique.....	9
a. Classe des terpénoïdes.....	9
b. Classe des composés aromatiques	11
c. Composés d'origine diverse.....	13
5. Obtention des huiles essentielles:	14
5.1. Extraction à partir d'un matériel naturel	14
5.2. Synthèse chimique.....	16
5.3. Bioconversion ou biosynthèse	17
6. Analyse chromatographiques.....	17
6.1. Chromatographie en phase gazeuse:.....	18
6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).....	18
7. Activités biologiques des huiles essentielles	19

a. Antibactérienne.....	20
b. Antivirale.....	20
c. Antifongique.....	20
d. Antiparasitaire	20
e. Antiseptique.....	21
III. Les plantes ciblées	21
1. <i>L'Artemisia herba alba</i>	21
1.1. Définition.....	21
1.2. Classification Botanique.....	22
1.3. Description Botanique d' <i>Artemisia herba alba</i>	22
1.4. Distribution géographique	22
1.5. Utilisation de l'armoise blanche.....	22
2. <i>Thymus broussonetii</i>	23
2.1. Définition.....	23
2.2. Classification Botanique de <i>thymus</i>	23
2.3. Description Botanique de <i>thymus</i>	23
2.4. Distribution géographique de <i>thymus</i>	24
2.5. Utilisations de <i>Thymus</i>	24
3. Lavande officinal	24
3.1. Définition.....	24
3.2. Classification Botanique de <i>lavande</i>	25
3.3. Description Botanique de <i>lavande</i>	25
3.4. Distribution géographique de <i>lavande</i>	25
3.5. Utilisation de <i>lavande</i>	25
4. <i>Rosmarinus officinalis</i>	25
4.1. Définition.....	25
4.2. Classification Botanique du <i>Rosmarinus officinalis</i>	26
4.3. Description Botanique de <i>Rosmarin</i>	26
4.4. Répartition géographique	27

4.5. Utilisation de <i>Romarin</i>	27
5. L' <i>eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.....	27
5.1. Définition.....	27
5.2. Classification botanique d' <i>E.camaldulensis</i> Dehnh.....	28
5.3. Description Botanique d' <i>E.camaldulensis</i> Dehnh.....	28
5.4. Répartition géographique d' <i>E.camaldulensis</i> Dehnh.....	28
5.5. Utilisation d' <i>E.camaldulensis</i> Dehnh.....	28
LA PARTIE EXPERIMENTALE	29
I. Matériels et méthodes.....	30
1. Matériels.....	30
2. Méthodes.....	30
2.1. Extraction des huiles essentielles.....	30
2.2. Manipulation.....	31
2.3. Calcul du rendement.....	31
2.5. Tests antifongiques:.....	32
a. Souche fongique testée.....	33
b. Méthode de contact direct.....	33
c. Principe de la méthode.....	33
d. Protocole expérimental.....	33
➤ Ensemencement et incubation des boites de pétri.....	34
➤ Taux d' inhibition (I%).....	34
II. Résultats et discussions.....	34
II.1 Détermination de rendement.....	35
a. Le rendement de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35
b. Le rendement de l'huile essentielle <i>lavande officinalis</i>	35
c. Le rendement de l'huile essentielle l' <i>Artimisia herba alba</i>	35
d. Le rendement de l'huile essentielle <i>Thymus Broussneti</i>	35
e. Le rendement de l'huile essentielle <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.....	35
II.2. Composition chimique des huiles essentielles par GC-MS.....	36
a) Composition chimique de l'huile essentielles de l' <i>Romarin</i>	36
b) Composition chimique de l'huile essentielles <i>Lavande officinalis</i>	37
c) Composition chimique de l'huile essentielles <i>ThymusBoussneti</i>	39

d) Composition chimique de l'huile essentielles <i>L'Eucalyptus camaldulensis Dehneh</i>	41
e) Composition chimique de l'huile essentielles <i>L'Artémia herba alba</i>	43
II.3. Test antifongique	44
a) Action de l'huile essentielle <i>Romarin</i> sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	45
b. Action de l'huile essentielle <i>Lavande</i> sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	46
c. Action de l'huile essentielle d' <i>Artimisia herba alba</i> sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	47
d. Action de l'huile essentielle <i>Thymus Broussneti</i> sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	48
e. Action de l'huile essentielle d' <i>eucalyptus camaldulensis Dehnh</i> sur la croissance mycélienne de <i>B. cinerea</i>	49
Conclusion.....	52
Références bibliographiques	54

Introduction générale :

La pourriture grise est une maladie causée par le champignon *Botrytis cinerea*. Cette maladie occasionne des dommages importants dans plusieurs cultures partout dans le monde. L'utilisation des fongicides chimiques tels qu'employés en agriculture conventionnelle n'est pas la solution idéale contre la pourriture grise et ce, pour plusieurs raisons. Premièrement, le champignon responsable de la maladie développe facilement une résistance aux fongicides chimiques. Deuxièmement, l'efficacité de plusieurs des fongicides homologués contre la pourriture grise est douteuse. Troisièmement, les problèmes de résidus sur les fruits préoccupent un grand nombre de consommateurs [1].

Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire certains biocides chimiques, et d'autres le seront prochainement. La recherche de nouvelles molécules est devenue très importante compte tenu d'autres critères que l'efficacité. L'orientation de ces recherches est la lutte biologique par l'utilisation de substances antifongiques naturelles qui peuvent constituer une solution alternative aux produits chimiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques. Ces plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques [2].

Le Maroc, par sa situation géographique et la diversité de son économie végétale due à son environnement bioclimatique méditerranéen, cache une richesse PAM considérable (4500 espèces végétales, 940 genres et 135 familles). Sur les 7 000 espèces et sous-espèces existantes, 537 sont endémiques et 1 625 sont rares ou menacées. La valeur de ce patrimoine est compromise par le manque de connaissance précise du phytopotential de l'espèce végétale, des propriétés chimiques et biologiques de ses extraits, et de la période optimale de collecte des matières premières pour l'extraction des huiles essentielles [3]. Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique [4].

Depuis une dizaine d'années, un nouveau concept de production, la chimie verte, a été développé pour concevoir et fabriquer des produits remplissant les besoins demandés, non toxiques et biodégradables en utilisant de nouvelles sources renouvelables, avec peu d'énergie et auxiliaires chimiques, en un nombre réduit d'étape [5].

L'homme a utilisé son environnement et en particulier les plantes aromatiques et médicinales pour traiter différentes maladies. On estime que les deux tiers des médicaments actuels sont d'origine naturelles, obtenue par héli-synthèse ou par modification d'un produit naturel et seulement un tiers des médicaments commercialisés ont une origine purement synthétique [5].

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*, *Artemisia herba alba*, *thymus Broussneti*, *Eucalyptus camaldulensis Dehnh* et le *Rosmarinus officinalis*, et d'étudier leurs actions sur la croissance du champignon *Botrytis cinerea*.

L'objectif de notre travail est de faire l'extraction des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques et médicinales, identifier la composition chimique de ces huiles et d'étudier l'activité antifongique contre le champignon *Botrytis cinerea*.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera deux chapitres:

Le premier chapitre réservé à l'étude bibliographique, elle contient trois parties, la première partie qui présente un aperçu sur le botrytis, la deuxième présente des généralités sur les huiles essentielles et leurs compositions chimiques, ainsi que les différentes techniques chimiques d'analyses et les méthodes d'extraction des huiles essentielles. Et finalement la troisième partie une étude bibliographique sur les plantes choisies.

Le deuxième chapitre représente le côté pratique de cette étude, elle contient deux parties, la première: matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles ainsi que l'analyse de leurs compositions chimiques et l'étude de leurs activités antifongiques. Dans la deuxième, on montrera les résultats obtenus et les discussions.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Description d'espèce fongique *B.cinerea*

1. Généralité sur le *Botrytis cinerea*

Botrytis a été identifié pour la première fois par Micheli en 1729 et répertorié dans son livre "Nova Plantarum Genera".

Botrytis cinerea est un champignon omniprésent qui peut causer de graves dommages avant et après la récolte dans de nombreuses plantes potagères, ornementales et fruitières [6].

La pourriture grise causée par *Botrytis cinerea* est une maladie qui se développe en milieu confiné et humide. Il est capable de se développer sur les débris végétaux sous forme de saprophytes ou de parasite aux dépens des plantes vivantes. Ce champignon est économiquement importante car elle détruit chaque année une partie des cultures viticoles et horticoles (fraises, tomates, etc.). Au Maroc, la pourriture grise est répertoriée comme l'une des maladies les plus graves de la culture de tomate et de fraise sous serre. De plus, la pourriture grise est présente dans 96% des élevages marocains, et elle se propage sous forme de *Botrytis cinerea* sur les feuilles, les fleurs, les tiges et surtout les fruits, provoquant le dessèchement et la mort des plantes. On estime que *Botrytis cinerea* est responsable de 20% des pertes de récoltes mondiales [7].

Il peut survenir sur de nombreuses cultures d'importance économique sous serre ou en plein champ (**figure 1**) comme les légumes (laitue, courgette aubergine), les plantes ornementales (roses), les arbres fruitiers (vigne, fraise, kiwi, cerisier) [8].

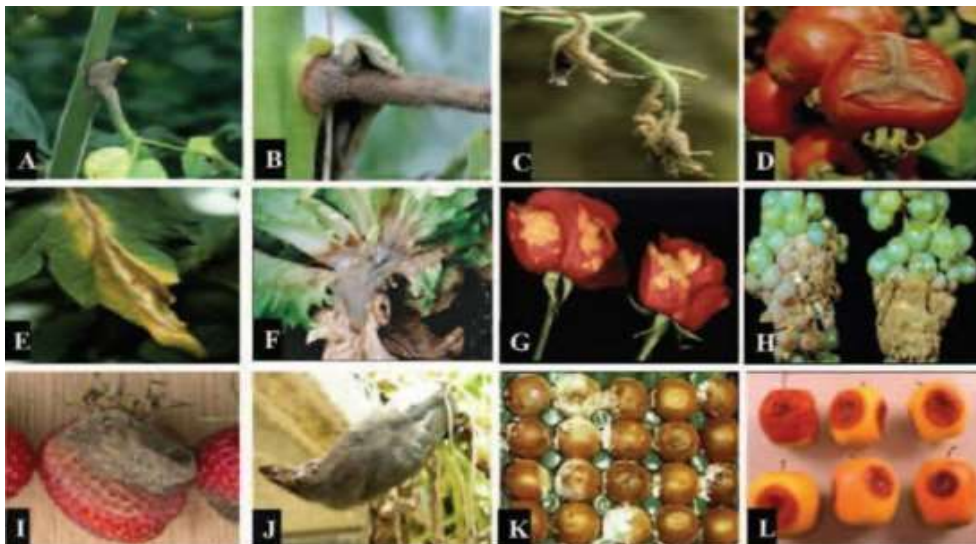


Figure 1: Symptômes de la maladie de la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*. Sur différentes plantes et des organes. (A) Plaie d'écoulement sur tomate. (B) Tige de tomate. (C) Inflorescence. (D) Fruit de tomate. (E) Feuille de tomate. (F) Laitue. (G) Fleurs du rosier. (H) Grappe du raisin. (I) Fraise. (J) Poivron. (K) Kiwi. (L) Pomme [9].

2. Nomenclature et systématique

Le nom *Botrytis cinerea* a été donné par Persoon en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autres connaît une double classification:

- **Une forme parfaite (téléomorphe): *Botryotinia fuckeliana*.** C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.
- **Une forme imparfaite (anamorphe): *Botrytis cinerea pers.*** C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae. qui a établi une relation génétique entre *Botrytis cinerea* Pers, organisme asexué, et *Botryotinia fuckeliana* appelé au départ *Peziza fuckeliana*, organisme sexué [10].

3. Classification

Botrytis cinerea se classe comme suit:[11]

Règne	Division	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Fungi	Ascomycota	Leotiomycetes	Helotiales	<i>Sclerotiniaceae</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Botrytis cinerea</i>

4. Lutte contre *Botrytis cinerea*

4.1. Lutte culturaux

- **Choix du site et type de plantation**

L'emplacement et la méthode de plantation doivent assurer un séchage rapide des feuilles et des fleurs pour limiter la croissance fongique. Par conséquent, il est nécessaire de choisir un endroit avec une circulation d'air facile et une exposition au soleil sur un sol bien drainé.

- **Irrigation**

Les conditions environnementales, en particulier l'humidité relative, jouent un rôle clé dans l'infection des plantes et le développement des maladies chez *B. cinerea*. L'idée générale est d'éviter de garder les feuilles humides pendant de longues périodes. L'irrigation goutte à goutte aide à réduire le risque de maladie en gardant les feuilles sèches [10].

- **Rotation**

Un moyen facile d'éviter les problèmes de pourriture grise est d'avoir des rotations de cultures courtes, c'est-à-dire de ne récolter que pendant un an.

- **Variétés résistantes**

Pour l'ensemble des cultures attaquées par le champignon, il n'existe aucune variété commerciale résistante à la pourriture grise [12]. Cependant, il existe des différences importantes dans la sensibilité de certaines plantes à la pourriture grise.

4.2. Lutte chimique

La lutte chimique se définit par l'utilisation de fongicides pour détruire, affaiblir ou réprimer le champignon. Les fongicides anti-Botrytis utilisés en végétation, parmi les matières actives utilisés pour lutter contre la pourriture grise sont le folpel, le captafol, l'euparène (dichlofluanide) et le thirame, les benzimidazoles, des thiophanates, et des dicarboximides [13].

4.3. Lutte biologique

Le principe de la lutte biologique est d'utiliser des micro-organismes antagonistes, champignons filamenteux, levures et bactéries pour réduire la densité de l'inoculum pathogène ou modifier son activité pathogène. La protection conférée par un agent biologique peut être basée sur un ou plusieurs mécanismes d'action: compétition pour les nutriments ou l'espace, parasitisme, production de substances toxiques pour les pathogènes (antibiotiques) et/ou stimulation des défenses des plantes [14];[15].

Le champignon le plus largement étudié est le *Trichoderma* sp. Les travaux sur le biocontrôle de *B. cinerea* à l'aide de ce champignon ont débuté il y a 30 ans [16];[17]. Des produits à base de *T. harzianum* et *T. viride* ont été formulés afin d'être commercialisés en tant qu'anti-Botrytis. De nos jours l'orientation des recherches est la lutte biologique par l'utilisation de substances antifongiques naturelles comme les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques.

II. Les huiles essentielles:

1. Définition des huiles essentielles:

Le terme "huile essentielle" a été inventé par des médecins suisses au 16^{ème} siècle Parascelsus Von HOHENHEIM précise les composés actifs des médecines naturelles [18].

De nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. Selon William Naves [1874-1936], toute définition des huiles essentielles n'a pas d'avantages clairs et précis. L'auteur définit les huiles essentielles comme "Mélanges de divers produits

d'espèces végétales, qui sont réalisés dans un courant de vapeur d'eau avec une proportion d'eau lors de la distillation"[19].

De nos jours, les HEs sont définies et connue comme suit: (ISO 9235, 1997; Pharmacopée européenne: HEs - Aetherolea 01/2008: 2098): «Les huiles essentielles Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenus à partir de matières premières végétales, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par traitement mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition» [20].

L'ISO (International Organization for Standardization) réserve le terme huile essentielle pour tout produit obtenu d'une matière végétale ou d'un fruit par distillation ou simple processus mécanique (ISO 9235, 1997). Les huiles essentielles ne sont pas omniprésentes dans les plantes. À partir de 1500 000 espèces, seules 10% sont considérées comme « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des traces d'essences aromatiques. Certaines familles sont caractérisées par de grands groupes d'espèces, notamment les Lamiacées, les Umbellifères, les Myrtacées et les Lauracées [21].

L'utilisation des HEs est en pleine croissance jusqu'à devenir depuis plus de vingtaine d'années, une sérieuse alternative aux agents antimicrobiens et constituer la médecine dite alternative. De nos jours, la chimie analytique et organique ont permis de purifier, identifier, caractériser, quantifier et synthétiser une grande exactitude plusieurs constituants des HEs. De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et anticancéreuse des HEs. La **figure 1** illustre quelques exemples de préparations pharmaceutiques contenant des HEs.

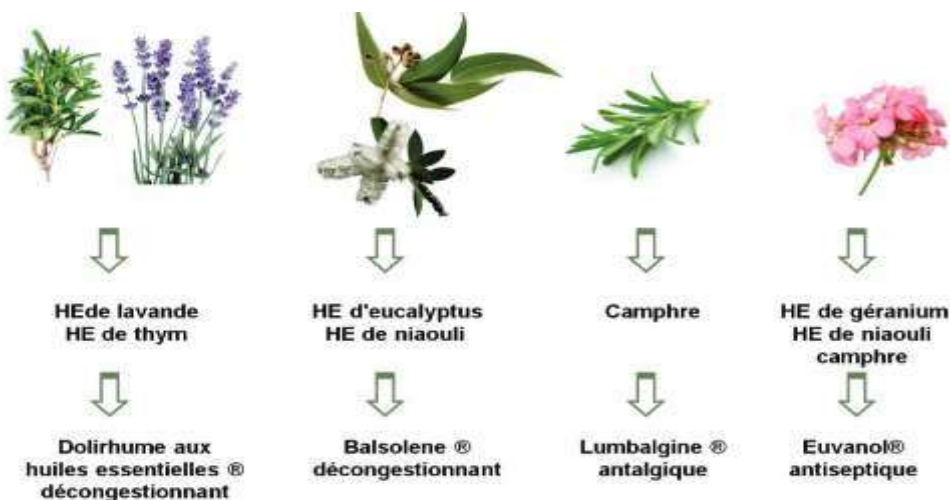


Figure 2.Exemples de quelques préparations pharmaceutiques contenant des huiles essentielles.

2. Localisation des huiles essentielles dans divers parties de la plante:

Les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent des métabolites secondaires [22].

La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans les organes sont associées à la présence de structures tissulaires spécifiques: les cellules sécrétoires. Les cellules sécrétoires sont rarement isolées, mais le plus souvent s'agrègent dans des poches de canaux sécrétoires (*Myrtaceae*, *Rutaceae*) (*Umbelliferae*, *Compositae*) ou des poils sécréteurs (*Lamiaceae*). Ces cellules sont généralement situées à la périphérie des organes externes de la plante [23].

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple: la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante (c'est le cas d'oranger amer (*Citrus aurantium*, *Rutaceae*): l'épicarpe frais du fruit fournit l'essence de Curaçao utilisée pour confectionner des cocktails, les fleurs fournissent l'huile de Néroli (eau de fleur d'oranger amer) les feuilles et les petits rameaux fournissent l'essence de petit grain de bigaradier).

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielles des plantes pouvant les contenir sont très faible, souvent inférieur à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton florale du giroflier (15%) sont rares et exceptionnelles [24].



Figure 3: Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.

3. Propriétés physico-chimiques:

Les essences et les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique. Les huiles essentielles forment un groupe très homogène, les principales caractéristiques sont:

- ❖ Liquides à température ambiante.
- ❖ N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- ❖ Volatiles et très rarement colorées.
- ❖ Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes;
- ❖ Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- ❖ Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- ❖ Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- ❖ Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air [25].

4. Composition chimique et biosynthèse

4.1. Composition chimique

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles.

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Ces constituants appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part [22].

a. Classe des terpénoïdes

La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate [26].

Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C₅), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs unités isopréniques (en C₅) et comprennent les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅), les diterpènes (C₂₀) et les tris terpènes (C₃₀). Les terpénoïdes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, comprenant au moins 30 000 composés sont connus comme métabolites secondaires [10].

i. Monoterpènes

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales: les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% d'HE.

Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple:

- **Alcools:** acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).
- **Aldéhydes:** le plus souvent acycliques (géraniale, néral, citronellal).
- **Cétones:** acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- **Esters:** acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acetate de menthyle), bicycliques (acetate d'isobomyle)
- **Ethers:** 1,8-cinéole (eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- **Peroxydes:** ascaridole.
- **Phénols:** thymol, carvacrol [26].

ii. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes (C₁₅) sont formés par l'association de trois isoprènes disposés de façon à donner des structures monocycliques ou polycyclique [27]. Cette classe est la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents [28].

b. Classe des composés aromatiques.

i. Les phénols

Ce sont des composés chimiques aromatiques avec une fonction hydroxyle.

Les phénols possèdent une action anti-infectieuse puissante à large spectre d'action avec en particulier une activité antibactérienne, antifongique, antivirale, et antiparasitaire. Ils sont également des stimulants immunitaires, et des antioxydants.

Le carvacrol et l'eugénol pourraient être considérés comme de puissants agents antifongiques. Il y a de nombreux composés phénoliques dans les huiles essentielles. Les principaux sont le Thymol, le carvacrol et l'eugénol [29]; [20]; [30]; [31].

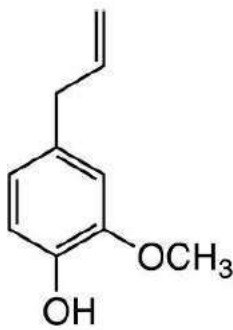


Figure a: Eugénol

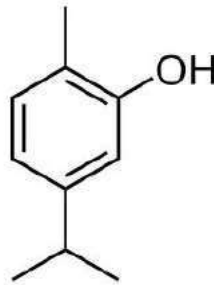


Figure b: Carvacrol

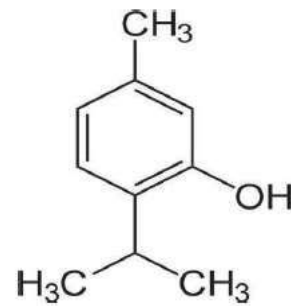


Figure c: Thymol

ii. Les aldéhydes aromatiques

Il existe des aldéhydes aromatiques et des aldéhydes terpéniques. Ils comportent le groupe caractéristique -CHO.

Les huiles essentielles à aldéhydes sont dermocaustiques et irritantes pour les muqueuses, il faut donc toujours les diluer dans une huile végétale.

Les aldéhydes aromatiques (figure d) sont des anti-infectieux majeurs mais ils sont toxiques et dermocaustiques, ce qui en limite l'usage. C'est notamment le cas du cinnamaldéhyde, majoritaire dans l'HE de cannelle.

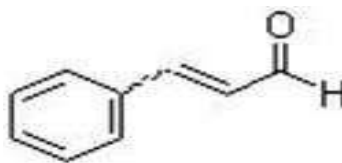


Figure d: l'aldéhyde cinnamique

iii. Les cétones

Les cétones sont des composés très actifs, dont l'utilisation doit être contrôlée à faible dose, les cétones sont calmantes, sédatives, hypo thermisantes et faiblement antibactériennes. Il en existe plusieurs types:

- les monocétones (la thujone [HE de sauge officinale]).
- les dicétones ou β -diones de l'HE d'hélichryse italienne, préconisée en cas d'hématomes, comme anticoagulant, anti-inflammatoire, cicatrisant, moins toxiques que les cétones simples.

Parmi les cétones, on peut citer le carvone contenu dans l'huile essentielle de Carvi (*Carum carvi*), ou la verbénone dans l'huile essentielle de Romarin CT verbénone (*Romarinus officinalis* CT verbénone).comme il monter les (figures e et f).

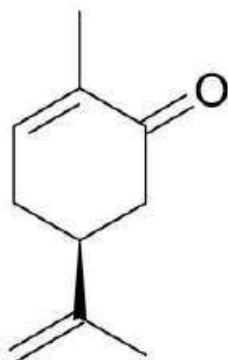


Figure e: Carvone

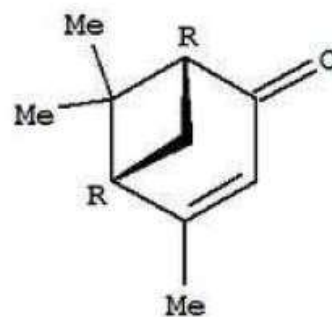


Figure f: Verbenone

Les propriétés majoritaires de cétones on trouve des actions relaxantes, mucolytiques, antiparasitaires et antivirales principalement.

iv. Les esters

Les esters (figure g) sont issus de la réaction d'une fonction acide ($R\text{-COOH}$) et d'un alcool ($R'\text{-OH}$). Les HE riches en esters ont des effets spasmolytiques centraux, neuro- et musculotropes, sédatifs, anticonvulsivants, rééquilibrant nerveux et antidépresseurs. L'action spasmolytique des esters augmente en fonction du nombre d'atomes de carbone de l'acide carboxylique (R):

- R = 1: formiate (géranium odorant).
- R = 2: acétates (lavande vraie, ylang-ylang, petit grain bigarade, menthe bergamote à acétate de linalyle; sauge sclarée à sclaréol).
- R = 3 ou 4: propionates, butyrates, méthacrylates.
- R = 5: acide angélique, isovalérique (camomille noble).

• R = 7: salicylates (gaulthéries), benzoates (ylangylang, baume du Pérou), anthranyles (mandarine zeste et feuilles).

- ✓ Les esters sont surtout antispasmodiques, anti-inflammatoires et neurotoniques.
- ✓ Les esters n'ont pas de toxicité aux doses physiologiques. Ils sont généralement bien tolérés.

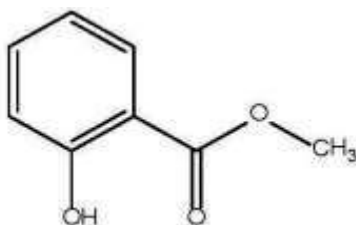


Figure g: Structure du salicylate de méthyle.

v. Les coumarines

Les coumarines sont retrouvées dans les essences préparées à partir des épicarpes d'agrumes (Citrus sp), les HE de Lavandula vera, d'Ammi visnaga, d'angélique, d'Apium, de Ruta... Les coumarines dépendent de la proportion et des autres composants qui viennent tempérer ou équilibrer l'HE. Par exemple, l'HE de Lavandula vera contient des cétones et des coumarines en faible proportion qui sont "neutralisées" par les esters aux propriétés relaxantes très importantes.

La Principale molécule dans l'huile essentielle contenant des coumarines est Le bergaptène (figure h) qui est un composé organique de la famille des furocoumarines, est naturellement présent dans l'huile essentielle de bergamote ainsi que dans celle d'autres fruits de la famille des Citrus.

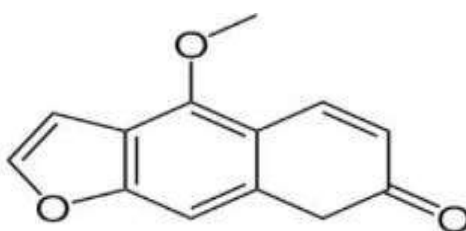


Figure h: le bergaptène

Les coumarines sont de puissants sédatifs, calmants, voire hypnotiques. Elles sont anticonvulsivantes, antispasmodiques, hypothermisantes et hypotensives.

c. Composés d'origine diverse

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs

de différentes fonctions par exemple: l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille [28].

5. Obtention des huiles essentielles:

Les HE et leurs composants sont généralement extraits de matériaux naturels ou produits par synthèse chimique après que leurs structures aient été caractérisées et élucidées. La synthèse chimique joue un rôle important dans la production de composants des HE. En effet, l'extraction à partir de plantes aromatiques produit des HE complexes, et le rendement de cet extrait est soumis à de multiples contraintes, telles que la faible teneur en HE dans le matériel végétal, le changement climatique, les propriétés du sol, la nutrition et les maladies des plantes. Cependant, la synthèse chimique produit souvent des mélanges et des produits racémiques nocifs pour l'environnement, nécessitant ainsi des étapes de purification et de séparation des composants purs [32].

Ces lacunes sont à la base de la naissance de nouvelles technologies de production d'HE natives par biotransformation ou biosynthèse. Il existe donc trois stratégies différentes pour obtenir l'HE: l'extraction à partir de matériaux naturels, la synthèse chimique et la biotransformation.

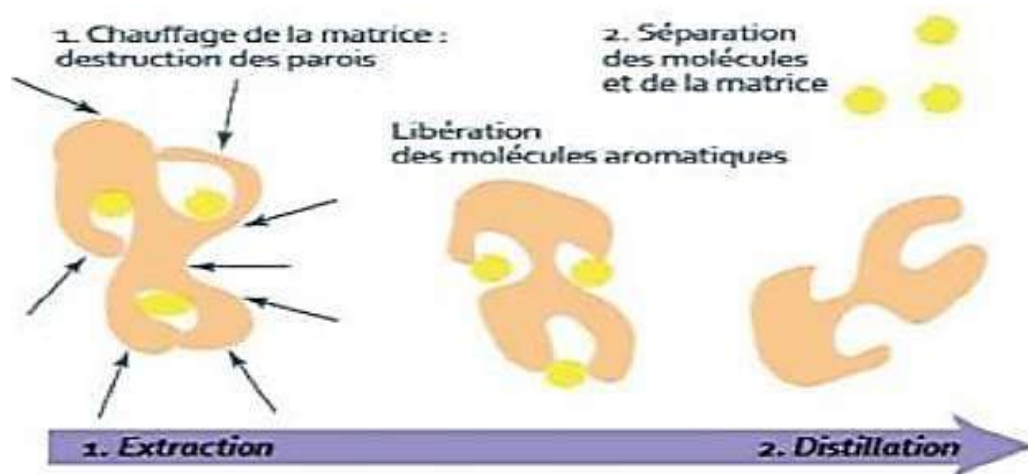


Figure 4: Extraction d'une huile essentielle

5.1. Extraction à partir d'un matériel naturel

Les principales techniques d'extraction des HEs sont: l'enfleurage, le pressage, l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur sèche et l'extraction au dioxyde de carbone supercritique [32].

a) L'enfleurage:

Les pétales et les fleurs des plantes sont étalées sur des graisses permettant d'extraire leurs arômes. Une fois saturée la matière grasse est traitée par l'alcool. Cette technique est surtout employée pour les fleurs fraîches et fragiles (jasmin, tubéreuse, violette).

b) Le pressage:

L'HE est extrait sous simple pression du matériel végétal. C'est par exemple le cas de l'HE de citron qui est extraite par pression à froid de l'écorce d'un citron frais.

c) L'hydrodistillation:

C'est la technique d'extraction la plus ancienne (mise au point dès le IX^e siècle) et qui reste la plus utilisée. Elle consiste à distiller la matière végétale dans l'eau (figure 5). La vapeur d'eau entraîne les constituants volatils qui seront condensés dans un réfrigérant. Le distillat obtenu sera décanté puis traité. L'eau résiduelle peut contenir une faible proportion de certains composés volatils et peut être utilisée sous le terme d'eau florale.

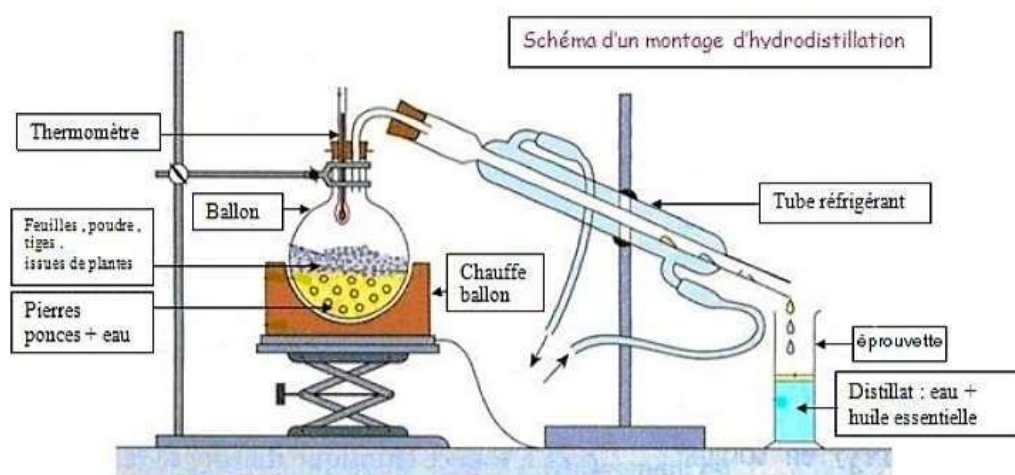


Figure 5: Schéma d'une installation de l'hydrodistillation

d) L'entraînement à la vapeur sèche

Ce procédé a été mis au point pour éviter certaines réactions de dégradation ou d'hydrolyse des composants de l'HE. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. Les cellules se distendent et les molécules odorantes se libèrent et seront vaporisées et condensées dans un réfrigérant.

e) L'extraction au dioxyde de carbone (CO₂) supercritique

Des appareils à l'échelle analytique, pilote ou industrielle permettent l'extraction en utilisant le CO₂ supercritique (figure 6). Celui-ci présente l'avantage d'être un fluide ininflammable, non explosif, non toxique, non corrosif, inodore et inerte. Le fait d'opérer à

une température faible critique du CO₂ (31,1 °C) chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, où le CO₂ est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré, cette technique permet d'extraire et sauvegarder les composants fragiles des HEs (lilas, muguet, etc.). Ce procédé est largement utilisé en industrie pharmaceutique permettant l'extraction des composés actifs.

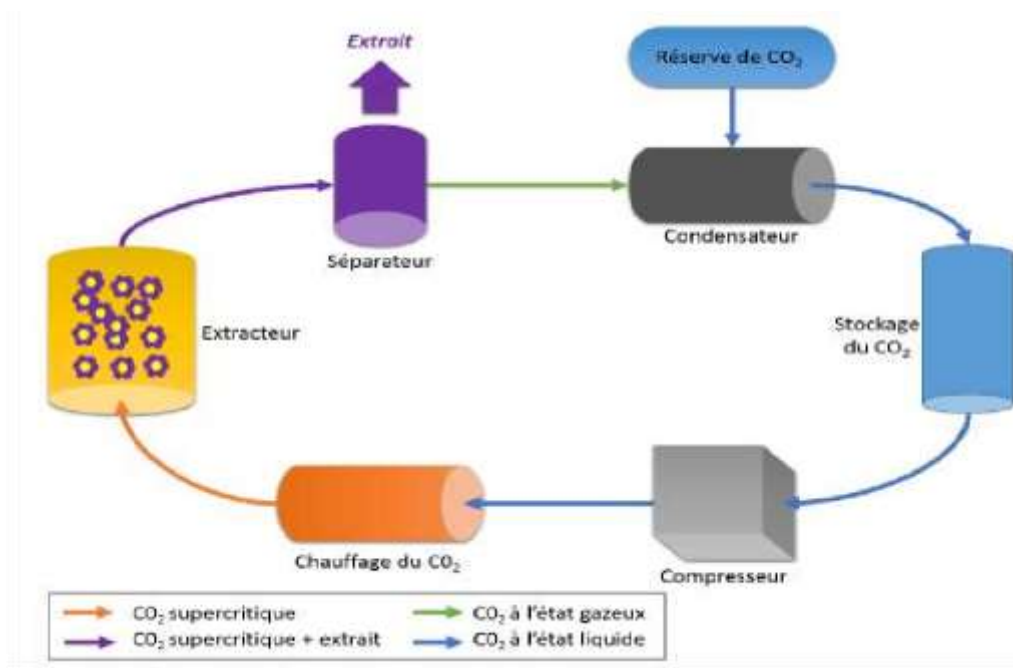


Figure 6: Schéma simplifié d'un extracteur au CO₂ supercritique

5.2. Synthèse chimique

La composition d'HE est extrêmement complexe. Il est donc impossible de recréer l'équilibre naturel par une simple synthèse ou mélange de constituants. Toutefois, des composants d'HEs de synthèse sont largement utilisés car les besoins mondiaux en arômes et parfums augmentent et le coût d'extraction est élevé. De nos jours, il existe deux types d'arômes synthétiques: les arômes de synthèse identiques au naturel et les arômes artificiels n'existant pas dans la nature. Les arômes de synthèse obtenus par voie purement chimique ont une structure et des propriétés identiques à ceux des arômes naturels. Prenons le cas du menthol et de la vanille (**Figure 7**); la demande de ces deux arômes excède largement la réserve en ressources naturelles. Le menthol se trouve naturellement dans l'HE de menthe poivrée et il peut être également synthétisé à partir d'une grande variété de molécules. La vanille peut quant à elle être extraite de la gousse de vanille mais également être obtenue par

différentes voies de synthèse. Les arômes de synthèse n'existant pas dans la nature sont des arômes artificiels. Un groupement éthoxy peut ainsi remplacer le groupement méthoxy de la vanilline pour donner l'éthylvanilline. Ce composé présente une odeur douze fois plus puissante que celle de la vanilline mais n'existe pas, même à l'état de trace, dans la gousse de vanille. C'est un composé purement artificiel. C'est également l'exemple du fameux N° 5 de Chanel qui résulte de l'association à l'essence d'ylang-ylang de composés synthétiques (environ 80 ingrédients) [32].

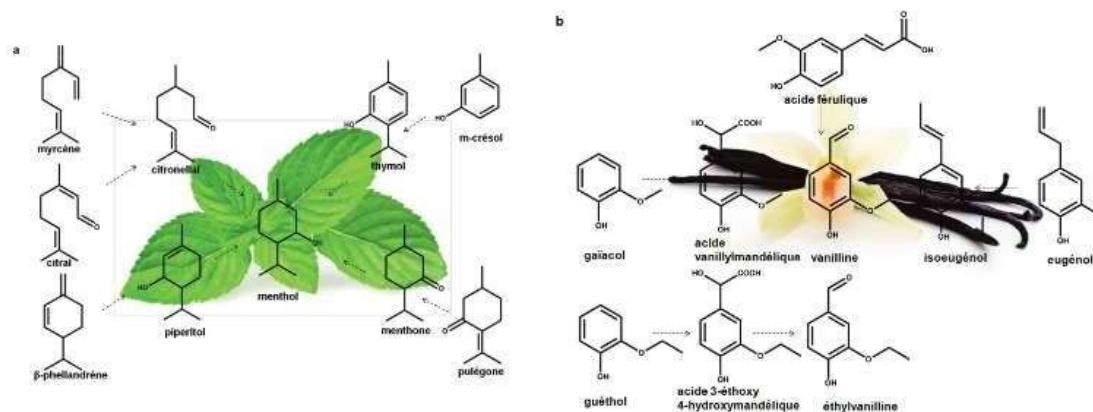


Figure 7: Exemples de voies de synthèse de composants d'huiles essentielles: a) Le menthol et b) la vanilline et l'éthylvanilline.

5.3. Bioconversion ou biosynthèse

Cette procédure est une alternative à la synthèse chimique classique pour une raison économique et environnementale principalement dans un contexte de développement durable. Elle consiste à transformer une matière première (précurseur) en utilisant des systèmes biologiques (microorganismes, plantes, enzymes). La mise sur le marché d'enzymes (> 400) régio- ou stéréo-sélectives permet l'obtention d'un composé pur, ce qui n'est pas le cas pour la synthèse chimique qui aboutit généralement à des mélanges racémiques. La bioconversion/biosynthèse exige que le précurseur soit issu d'un végétal et obtenu par des procédés naturels et que les systèmes biologiques utilisés soient GRAS (Generally Recognized As Safe). Les molécules produites existent bien évidemment dans la nature et sont considérées comme naturelles.

6. Analyse chromatographiques:

Les huiles essentielles sont composées de dizaines, voire de centaines, de composés différents. Leurs propriétés sont étroitement liées à leur composition chimique, et l'intérêt de

les comprendre le plus précisément possible semble évident. Les progrès des méthodes analytiques permettent aujourd'hui d'identifier un grand nombre de constituants de manière relativement simple et rapide, ce qui offre la possibilité de vérifier qu'un échantillon possède bien les caractéristiques chimiques attendues, ainsi que d'étudier la relation structurale - la possibilité d'activité présente dans les huiles essentielles. Il existe plusieurs méthodes analytiques disponibles pour étudier la composition chimique d'un échantillon, et certaines sont plus adaptées pour isoler les composants des extraits aromatiques [24].

6.1. Chromatographie en phase gazeuse:

La CPG est basée sur le principe de la chromatographie de partage. Pour chaque composé, deux indices de rétention peuvent être obtenus, polaire et non polaire. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'alcane de la gamme standard ou, plus rarement, d'esters méthyliques linéaires à température constante (indice de Kováts) ou à température programmée (indice de rétention). Ils sont ensuite comparés à des produits de référence (mesurés en laboratoire ou décrits dans la littérature) [3].

6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

En effet, l'utilisation de CPG à haute résolution (colonne capillaire) associée à la spectrométrie de masse à petite échelle, le tout associé à des outils informatiques (microprocesseurs), permet un développement fiable et rapide.

L'interface la plus simple de cette technique consiste à connecter la colonne au spectromètre de masse, soit en introduisant l'extrémité de la colonne directement dans la chambre d'ionisation, soit par l'intermédiaire d'un relais chauffé et placé dans un capillaire de transfert entre le chromatographe et le spectromètre de masse.

• Principe

Le principe consiste à soumettre un composé moléculaire à cette analyse en déclenchant un processus à plusieurs étapes (**figure 8**).

❖ **Ionisation:** les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200°C), il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ.

❖ **Accélération:** les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leurs énergies cinétiques.

❖ **Séparation:** les ions seront distribués selon leur rapport masse / charge.

❖ **Détection:** après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.

❖ **Traitement du signal:** le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction du rapport masse / charge.

L'appareillage GC/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui rend possible l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG et ceci en comparant les spectres de masse obtenus avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées. C'est donc une technique de pointe permettant la connaissance d'échantillons parfois complexes en un temps très court [27].

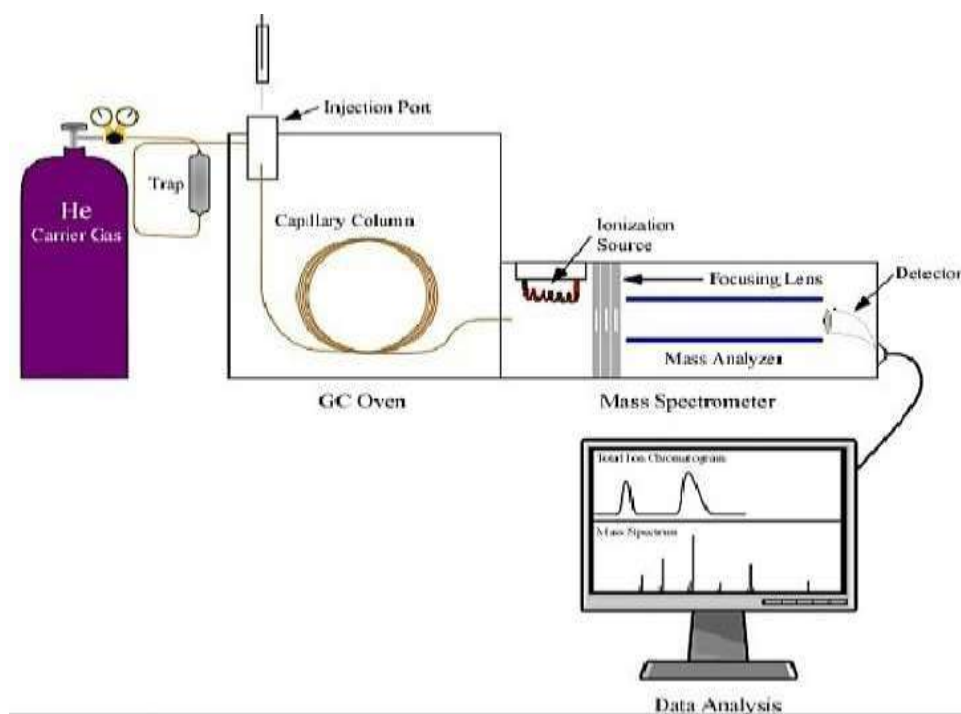


Figure 8: schéma de chromatographie en GC-SM

7. Activités biologiques des huiles essentielles:

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 [4]. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants [10].

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antibactériennes, antivirales, antiparasitaires, antiseptiques et antifongiques des huiles essentielles des plantes aromatiques.

a. Antibactérienne

Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial) [33]; [34].

b. Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques [35].

c. Antifongique

Les infections fongiques sont d'une actualité criante aujourd'hui. En effet, leur extension est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques [37].

Les huiles essentielles pourraient également être employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles [10].

L'activité antifongique est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance du champignon déterminée par simple observation macroscopique, elle décroît selon le type de fonction chimique: **Phénols**› **Alcools**› **Aldéhydes**› **Cétones**› **Ethers**› **Hydrocarbures** [38].

d. Antiparasitaire

Les molécules aromatiques possédant des phénols et alcools terpéniques ont une action puissante contre les parasites [39].

Les cétones ont également une activité antiparasitaire mais leur utilisation est plus limitée en raison de leur neurotoxicité [40].

Certains oxydes, comme l'ascaridole, sont également très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons anthelminthiques [41].

Le thym à linalol, la sarriette des montagnes ont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires [39].

e. Antiseptique

Les molécules aromatiques sont donc capables de détruire les germes infectieux, et de s'opposer à leurs prolifération tant dans les organismes vivants que dans l'environnement [41]. Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogène.

III. Les plantes ciblées

Le Maroc possède des potentialités très importantes dans le domaine des plantes aromatiques et médicinales. Actuellement, il réalise des productions importantes en plantes aromatiques et médicinales (PAM) et leurs dérivés, ce qui lui confère une place non négligeable sur le marché international. Cependant, le secteur souffre encore de faiblesses à plusieurs niveaux: technique, commercial, organisationnel [42].

1. L'*Artemisia herba alba*

1.1. Définition

L'Artemisia herba alba ou armoise herbe blanche Son nom anglais «Wormwood » fait allusion à son pouvoir vermifuge (médicament qui permet d'évacuer les vers intestinaux) est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affecte les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplement importants dans les zones désertiques [43].

C'est une espèce steppique de la famille des Astéracées, c'est une plante herbacées ou de petits buissons appréciés pour leur fin feuillage souvent gris, parfois vert et assez persistant, généralement aromatique [44].

L'Armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) « Chih » fait partie du genre *Artemisia* qui regroupe plus de 450 espèces réparties sur les cinq continents. Celle-ci semble d'un grand intérêt économique au Maroc, qui détient 90% du marché mondial pour l'huile essentielle extraite de la plante. Cette plante est l'une des espèces qui sont largement utilisées en médecine classique [45].



Figure 9: *L'Artemisia herba Alba (Safi)*

1.2. Classification Botanique.

L'Artemisia herba Alba est classé [46] comme suit:

Règne	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Plantae	Magnoliopsida	Gampanulatae	Asteraceae	Artemisia	<i>Artemisia herba alba</i>

1.3. Description Botanique d'*Artimsia herba alba*

L'armoise herbe blanche est un arbrisseau vivace dont se dégage l'odeur caractéristique de thymol (odeur des thyms et des origans) avec un goût amer d'où son caractère astringent. Son système racinaire dense lui permet de pousser spontanément dans les régions arides et steppiques. Cultivée, elle s'associe bien à d'autres plantes. L'armoise herbe blanche constitue une excellente plante de bordure. Elle est également utilisée comme une plante d'arrière-plan pour mettre en valeur les plantes vivaces dont les fleurs sont de vive couleur. Elle est résistante à la sécheresse et à la salinité et très facile à cultiver [47].

1.4. Distribution géographique

Le genre *Artemisia Herba Alba* est un arbuste nain médicinal et aromatique sauvage qui pousse dans les régions arides du bassin méditerranéen, c'est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affecte les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplement important dans les zones désertiques [43].

1.5. Utilisation de l'armoise blanche

Son histoire thérapeutique est très diversifiée et connue depuis longtemps dans les médications traditionnelles. L'armoise blanche a été utilisée comme aromatisant dans le thé et le café. *L'artimisia herba alba* est largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les

maux d'estomac tels que la diarrhée et les douleurs abdominales. Il est également utilisé comme médicament pour traiter l'inflammation du tractus gastro-intestinal [48].

De loin le plus fréquemment cité est l'utilisation de l'«*Artemisia herba alba* Asso dans le traitement du diabète sucré [49]. Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antimalarien et antihémorragique [50].

2. *Thymus broussonetii*

2.1. Définition

Le thym est une plante épice appartenant à la famille des Lamiacées. Le genre *Thymus* comprend environ 215 espèces d'herbes vivaces et de sous-arbustes. Il pousse spontanément sur les coteaux secs de la Méditerranée. Il est souvent utilisé dans le domaine thérapeutique en raison de ses propriétés pharmacologiques [51].



Figure 10: *Thymus broussonetii* (Taounate)

2.2. Classification Botanique de *thymus*

Thymus broussonetii est classé [52] comme suit

Règne	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Plantae	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Lamiales	Lamiaceae	<i>Thymus</i>	<i>Thymus broussonetii</i>

2.3. Description Botanique de *thymus*

Thymus broussonetii est un sous-arbrisseau buissonnant aux tiges dressées, ligneuses et ramifiées à base en zigzag, atteignant 40 cm de haut. Branches blanches, à poils courts, à feuilles persistantes, petites (3 à 12 mm de long, 0,5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, feuilles entières; elles sont sessiles et vert gris; nombreuses sont les origines de rameaux très courts formant faisceaux de folioles qui naissent de la tige; leurs faces inférieures sont feutrées et interrompues par des poils sécréteurs, tandis que leurs faces

supérieures sont glabres et caractérisées par une nervure médiane enfoncée; les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille.

Les fleurs, composées de 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles, réunies en grappes ovales; elles sont petites et symétriques. Le fruit est un tétraène contenant 4 petites graines (1 mm) à maturité, brun clair à foncé. La période de floraison s'étend d'avril à juillet [52].

2.4. Distribution géographique de *thymus*

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des lamiacées, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la Méditerranée.

C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Éthiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Égypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya [53].

Au Maroc, on rencontre le thym dans les rocailles calcaires des montagnes, principalement dans les régions du Haut Atlas et l'Anti-Atlas [54]. dans les bioclimats arides, semi-aride et subhumide à variantes chaude, tempérée et fraîche, dans les étages de végétation infra-méditerranéen, thermo-méditerranéen et méso-méditerranéen [55].

2.5. Utilisations de *Thymus*

Les feuilles séchées de *Thymus satureioides* sont utilisées dans la médecine traditionnelle marocaine sous forme d'infusions et de décoctions pour traiter la coqueluche, la bronchite et le rhumatisme. Des effets antimicrobiens et antispasmodiques ont été reportés. L'huile essentielle de cette espèce est considérée comme un antibiotique à large spectre, un régulateur du système immunitaire, un antiparasitaire, un anti-hyperglobulinémie et un tonifiant général physique, mental et sexuel [55].

3. Lavande officinal

3.1. Définition

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées et est riche en plantes à usage multiple, alimentaire, fourrager, aromatique, cosmétique et médicinal. Au Maroc, la bibliographie fait allusion à plusieurs espèces de ce genre, communément appelées lavandes, à écologie et phytogéographie diversifiées et dont d'une part la distinction taxinomique n'est pas des plus faciles et d'autre part l'éventualité d'un usage différent selon les localités et ou les espèces n'est pas investie [56].



Figure 11: divers parties de lavande

3.2. Classification Botanique de *lavande*

Règne	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Plantae	Equisetopsida	Lamiales	Lamiaceae	Lavandula	Lavande officinal

3.3. Description Botanique de *lavande*

Landes officinal sont des arbrisseaux de 20 à 80 cm croissants en masse. La racine est pivotante et il y en a quelques-unes traçantes. Les tiges ont une longueur qui varie de 15 à 20cm et sont longuement dépourvues de feuilles au-dessous des inflorescences. La plante se compose de hampes florales courtes et fines ne portant qu'un seul épi [57].

3.4. Distribution géographique de *lavande*

L'air de répartition et de distribution des lavandes comprend les zones montagneuses du Rif, le moyen Atlas et le haut Atlas [58].

3.5. Utilisation de *lavande*

La lavande est traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire, décorative, cosmétique et médicinale, la lavande est utilisée aussi en aromathérapie pour traiter les dépressions, la fatigue et l'hypertension et aussi dans la préparation des parfums, les savons, les poudres de talc et les bougies parfumées [56].

4. *Rosmarinus officinalis*

4.1. Définition

Le Romarin d., où le nom arabe ikkil al-jabal est une plante méditerranéenne autochtone, largement répandue dans la région orientale du Maroc. Le Romarin connaît depuis le Moyen-Age, un rôle important en parfumerie, et surtout en cosmétique. L'essence est obtenue par la distillation des branches, de préférence, en n'utilisant que les sommités

fleuries. L'huile essentielle de Romarin produite par Les Arômes du Maroc, contient en majorité du Cinéol (ou Eucalyptol) [59].



Figure 12: le Romarin (Guiche Rabat)

4.2. Classification Botanique du *Rosmarinus officinalis*

Le Romarin étudié est classé comme suit [60] :

Règne	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
plantes	Spermaphytes	Dicotylédones	Lamiales (Labiales)	Lamiaceae	Rosmarinus	Rosmarinus officinalis L.

4.3. Description Botanique de *Rosmarinus*

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) appartient à la famille botanique des Lamiacées au sein du genre *Rosmarinus*. C'est un arbrisseau toujours vert de 0,5 à 2 m. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés [61]. Les feuilles pouvant atteindre 3cm de long et 4mm de large, sont étroitement lancéolées, acaules, et friables; le bord est involuté vers le bas (rangée supérieure) [62]. Les jeunes feuilles sont pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres. Elles sont ridées et striées en raison d'une nervure médiane enfoncée, en revanche très proéminente sur la face inférieure, recouverte d'une pubescence blanche dense [63]. Les fleurs apparaissant dès janvier, bleu pâle ou lilas, sont groupées en grappes axillaires et terminales dans la partie supérieure des rameaux [64].

4.4. Répartition géographique

Le romarin abonde à l'état sauvage dans les régions arides et sèches, surtout sur les collines et les montagnes peu élevées. Cette espèce thermophile se développe dans les bioclimats semi-arides et subhumides à variantes chaude à fraîche au niveau des étages de végétation thermo-méditerranéen et méso-méditerranéen, et préfère les sols carbonatés et bien drainés. C'est une plante résistante à la sécheresse qui présente des caractères apparents de xérophytisme (petite feuilles etc...)

Au Maroc, le romarin se rencontre au niveau des forêts, des broussailles et des matorrals, il est répandu dans le Rif oriental, le Moyen Atlas oriental, le Haut Atlas Oriental, mais c'est dans les hauts plateaux de l'Oriental qu'elle occupe la plus grande superficie [61].

4.5. Utilisation de *Romarin*

Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées en tant que condiment et rentrent dans la composition des thés et infusions. *Rosmarinus officinalis* sous forme de feuille séchées ou d'huile essentielle, trouve sa principale utilisation pour la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations), sert aussi pour produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et en pharmaceutiques [59].

5. L'eucalyptus *camaldulensis* Dehnh.

5.1. Définition

Les *eucalyptus*, forment un groupe très riche d'arbres du genre *Eucalyptus*, de la famille des *Myrtaceae*. Les eucalyptus sont indigènes en Australie et en Tasmanie. Ils dominent d'ailleurs à 95% les forêts australiennes avec leurs plus de six cents espèces. Les eucalyptus possèdent toute une gamme de mécanismes d'adaptation et ont une croissance rapide, ce qui leur permet d'être présents dans une grande gamme d'environnements [65].



Figure 13: *E.camaldulensis* Dehnh (GUICHE Rabat)

5.2. Classification botanique d'*E.camaldulensis* Dehnh

L'*Eucalyptus Camaldulensis* est classé [66] comme suit :

Règne	Division	Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
<i>Plantae</i>	<i>Magnoliophyta</i>	Dicotylédones	<i>Myrtales</i>	<i>Myrtaceae</i>	<i>Eucalyptus</i>	<i>E.camaldulensis</i> Dehnh

5.3. Description Botanique d'*E.camaldulensis* Dehnh

Les eucalyptus sont des arbres qui peuvent pousser plus haut que 20 mètres. Ils ont un tronc lisse et cendré, des feuilles couvertes de glandes à huile, entières, bleutées, 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 axillaires hermaphrodites, sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge. Les fruits d'un diamètre de 5 à 8 mm, ont la forme d'un cône [65].

5.4. Répartition géographique d'*E.camaldulensis* Dehnh

Le genre *Eucalyptus* est endémique en Australie et en Tasmanie. Il est cultivé de nos jours dans quelques régions subtropicales d'Afrique, d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) et d'Amérique du Sud ainsi qu'en Europe méridionale et aux États-Unis [67].

5.5. Utilisation d'*E.camaldulensis* Dehnh

Les feuilles d'eucalyptus sont recommandées en cas de rhumes, de sinusites, de maux de gorge, d'angines, de toux, de bronchites, d'infections urinaires ou de fièvres, sous la forme d'une décoction de 10 à 20 grammes de feuilles par litre d'eau à boire dans la journée ou en inhalation [68].

LA PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes

Cette partie expérimentale est consacrée à l'extraction des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales (*Artimisia Herba Alba*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavande officinale*, *Eucalyptus caunaldulensis* et le *Thym Brousseniti*) en utilisant la méthode d'extraction par hydrodistillation et l'étude de la composition chimique de chaque huile essentielle, ainsi que l'effet de ces huiles sur le développement de la croissance de champignon *Botrytis cinerea* de la tomate.

1. Matériels

Le présent travail a porté sur l'extraction des parties aériennes des plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes testées ont été recueillies de différentes régions du Maroc. La récolte des échantillons a été effectuée pendant le mois de février et mars.

La plante Utilisée	<i>Artémisia herba alba</i>	<i>Lavande officinale</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Thymus Brousseneti</i>	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> <i>Dehneh</i>
Origine de récolte	Safi	Oulmas	Guich Rabat	Taouanat	Guich Rabat

Tableau 1: Origine de récolte de plantes étudiées

2. Méthodes

Les manipulations et les tests concernant ce travail ont été conduits au Laboratoire phytopathologie et laboratoire des plantes aromatiques et médicinales ainsi qu'au Laboratoire de technologie alimentaire de l'institut nationale de la recherche agronomique de Rabat.

2.1. Extraction des huiles essentielles

Pour obtenir des huiles essentielles des plantes, il existe plusieurs types d'extraction. Cependant le choix de la technique dépend de la matière première telle que son état origine, ses caractéristiques ainsi que le rendement que l'on veut. Il est important de faire la différence entre un extrait aromatique et une huile essentielle. Un extrait aromatique est le nom donné pour les extraits aromatiques obtenus par des solvants tel que l'hexane ou l'éthanol. Alors que pour une huile essentielle, seule l'eau peut être utilisée pour l'obtention. Pour cela, on a utilisé un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendré.

2.2. Manipulation

L'extraction des HE est effectuée par hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger. L'opération consiste à introduire une masse de 200 à 300 g de plantes séchées dans un ballon contenant 3 Litres d'eau distillée. L'opération d'extraction est réalisée en trois heures à partir du début d'ébullition. Enfin l'huile obtenue est conservée dans des flacons fumé et bien scellés à une température de 5°C. La figure illustre les principaux éléments du montage:

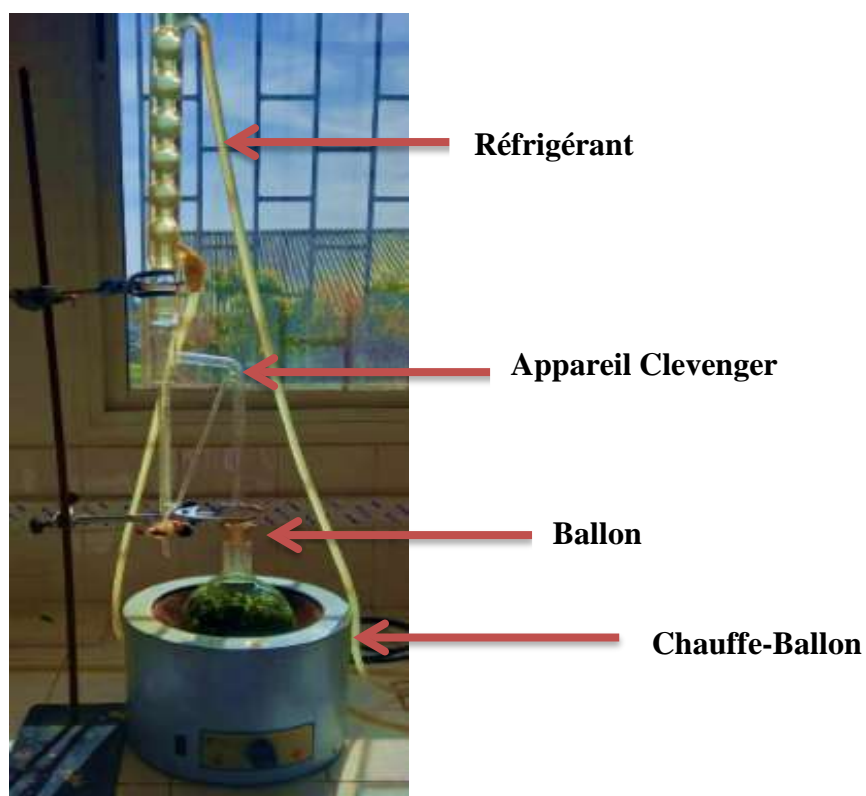


Figure 14: Montage d'Hydrodistillation

2.3. Calcul du rendement

C'est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage.

$$\%R = \frac{V_{HE}}{m_{ms}} \times 100$$

Avec:

%R: Rendement en huiles essentielles

V_{HE} : Volume d'huiles essentielles recueilli

m_{ms} : Masse de matière sèche

2.4. Analyses Chromatographiques:

Les analyses ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse au département de technologie alimentaire à l'institut nationale de la recherche agronomique. Ce chromatographe est couplé à la masse de type Perkin Elmer. Equipé d'une colonne capillaire **Rxi-5ms** (Crossbond 5% diphenyl/ 95% dimethyl polysiloxane) de (30m x 0,25mm) avec une épaisseur du film de 0,25µm. le mode d'injection est de type split (rapport de fuite: 50 ml/min).le gaz utilisé est l'hélium avec un débit de 1,00 ml/min.

Le volume injecté est de 0,5µl, par un programme du four utilisé pour la séparation des composés volatils de nos huiles essentielles est comme suit: la température initiale était de 50°C maintenue pendant 2min, et s'est élevé à 280°C avec un taux 8,1°C-min. L'ionisation a été réalisée avec une énergie électronique de 70ev, la température de la source était de 250°C avec un scan de 10 à 600Da.

L'appareil est piloté système informatique de type « PerkinElmer Version 6.1.0.1963 » gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses bibliothèque de spectre de masse NIST 2011 qui nous ont permis l'identification des pics ainsi que leur abondance en pourcentage (figure15)



Figure 15: appareil de chromatographie gazeuse couplée de spectrométrie de masse

2.5. Tests antifongiques:

Les méthodes du laboratoire qui permettent d'estimer les propriétés d'un produit in vitro sont nombreuses, mais repose toutes sur le même principe c'est celui de mesurer la concentration minimale inhibitrice (CMI, en µl/ml) définie comme la plus faible concentration d'antimicrobien permettant d'inhiber toute croissance microbienne visible.

Le but de cette activité c'est d'avoir la concentration minimale inhibitrice de ces huiles essentielles sur la souche fongique étudié.

a. Souche fongique testée

Le champignon utilisé dans ce travail est une espèce fongique responsable de pourritures grises, il a été choisi pour les dégâts considérables qu'il cause aux cultures sous serre de la tomate. Cette espèce fongique appartient à la collection de la mycothèque du Laboratoire de recherche de phytopathologie. Elle est régulièrement entretenue par repiquage sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar).

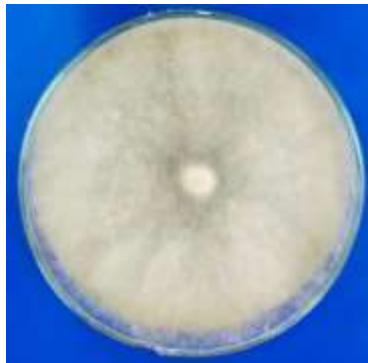


Figure 16: le champignon testé: Botrytis cinerea vue macroscopique

b. Méthode de contact direct

La méthodologie qu'on a suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique des huiles essentielles extraites de *l'Artimisia Herba Alba*, *Rosmarinus officinalis*, *lavande officinale*, *Eucalyptus caunaldulensis* et le *Thymus*, est la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique de champignon *Botrytis Cinerea*.

c. Principe de la méthode

Les huiles essentielles à tester sont incorporées à des concentrations variables dans le milieu de culture (PDA). Après solidification, le milieu estensemencé et incubé.

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures. La lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qui sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions.

d. Protocole expérimental

➤ **Préparation du milieu de culture contenant différentes concentrations d'huiles essentielles.**

Pour faciliter la miscibilité des huiles essentielles dans le milieu liquide, nous avons utilisé le Tween 80 (0.05%) [69]. Le tween est un tensioactif qui sert à disperser des huiles dans l'eau. Il est à la fois miscible à l'huile et à l'eau. Le milieu à différentes concentrations en huiles essentielles avec le tween 80, sont incorporés dans le milieu de culture PDA (Potato

Dextrose Agar) après autoclavage à 1 bar, pendant 20 min à 121°C. La solution obtenue est agitée au vortex pendant 3 min de sorte à avoir une bonne homogénéisation.

- Milieu 1 (Témoin): 25ml PDA + sans HE.

-Milieu 2: 25ml PDA+ HE+ 0.5% Tween 80.

➤ **Ensemencement et incubation des boîtes de pétri**

Le mélange de chaque milieu est coulé à raison de 25ml dans chaque boîtes de Pétri de 80mm de diamètre. Un disque mycélien de 4 mm de diamètre, prélevés à partir de la zone de croissance active d'une culture d'une semaine, est placé au centre d'une boîte de pétri. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 7 j à 25 °C. Chaque essai est répété trois fois. Quotidiennement, la croissance de filaments sur chaque boîte est relevée et il est procédé, à une mesure des diamètres de différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I%). Après avoir obtenu la CMI pour chaque huile, un fragment a été prélevé de la boîte où il y a inhibition totale du champignon et repiqué une autrefois dans une autre boîte contenant que le PDA. Cette méthode a pour but de déterminer quelle huile est fongicide ou fongistatique.

➤ **Taux d'inhibition (I%)**

Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres de champignon après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation:

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I' (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

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

dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

II. Résultats et discussions

Les huiles essentielles extraites par hydrodistillation des cinq plantes présentent des propriétés différentes les uns par rapport aux autres sont les suivantes.



Artémisia

Lavande

Romarin

Thym

Eucalyptus

II.1 Détermination de rendement

a. Le rendement de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* ont fourni un taux relativement peu faible d'environ 1.13%. Ce rendement est faible par rapport à celui rapporté par d'autres auteurs comme Fechtal et al. En 2001 ont démontré que le rendement obtenu de cette huile est de 2,5% [70]; ainsi que Makhloufi en 2011 a obtenu un rendement de 1,52% [71] et qui ont utilisé la même méthode d'extraction.

b. Le rendement de l'huile essentielle *lavande officinalis*

Le rendement moyen en huile essentielle, extraite des fleurs de *Lavandula officinalis* est de 2% obtenu d'une prise d'essai de 200g constituée par des feuilles sèches. Les résultats obtenus par LAIB et al. En 2012 [72] ainsi que Chahboun et al. en 2015 [73] indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de l'Algérie présentent des teneurs en huile essentielle respectivement 1.36% et 2.01%.

c. Le rendement de l'huile essentielle l'*Artemisia herba alba*

Le rendement moyen obtenu des huiles essentielles extraites de la plante *Artemisia herba-alba* étudiée est de l'ordre de 3.8%. Ce taux est relativement supérieur à celui des HE extraites de la même espèce récoltée dans la région de Matmata en Tunisie (0,65%) [74] et de Biskra (0,95%) [75] en Algérie et de celui récolté dans la région d'Ouarzazate (1.2%) [76].

d. Le rendement de l'huile essentielle *Thymus Broussneti*

Le rendement en huile essentielle de *Thymus Broussneti* provenant de Taounat est de 3%. Il est relativement élevé par rapport à celle collecté en 2014 dans la province d'AL HAOUZ (1,01%) [77].

e. Le rendement de l'huile essentielle *Eucalyptus camaldulensis Dehnh*

Le rendement moyen en huile essentielle, extraite des feuille d'*Eucalyptus camaldulensis* est de 0.63% obtenu d'une prise d'essai de 300g des feuilles d'*Eucalyptus*. Ce rendement est inférieur à ceux obtenue en 2008 au Nord (1,40%) [78].

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des fleurs des plantes, l'organe de la plante, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de la récolte et la méthode d'extraction, sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles.

II.2. Composition chimique des huiles essentielles par GC-MS

a) Composition chimique de l'huile essentielles de l'*Romarin*

Tableau 2: composition chimique de l'huile essentielle de Romarin

N°	Comosés	RT	Area%	Famille ou classe de molécules
1	β -Thujene	7.392	0.331	Hydrocarbure Monoterpénique
2	α-Pinene	7.914	32.818	
3	Camphene	8.439	6.788	
4	2,4 (10)-Thujadiene	8.614	0.448	
5	β -pinene	9.802	4.705	
6	Myrcene	10.632	1.496	
7	α -PHellandrene	11.344	0.340	
8	TERPINOLENE	12.153	0.937	
9	O-Cymene	12.724	2.765	
10	D-Limonene	13.095	4.865	
11	Gamma-terpinene	15.305	2.799	
12	(+)-4-Carene	17.677	1.335	
13	Terpinen-4-ol	26.385	1.954	Monoterpénols
14	α -Terpineol	27.870	1.256	
15	(-)-Myrtenol	28.491	0.269	
16	Verbenol	22.863	0.452	
17	endo-Borneol	25.056	2.883	
18	Linalyl acetate	18.994	3.623	Ester monoterpénique
19	Bornyl acetate	33.689	2.426	
20	Camphre	22.738	7.167	Cétones
21	Chrysanthenone	20.845	0.833	
22	Pinocarvone	24.430	0.397	
23	(-)-Verbenone	29.341	8.728	
24	D-Carvone	32.851	0.269	
25	β -Caryophyllene	38.713	1.470	hydrocarbure sesquiterpénique
26	α -caryophyllène	39.763	0.876	
27	β -Bisabolene	41.368	0.525	
28	α -Copaene	41.777	0.330	
29	Caryophyllene oxide	43.373	0.636	Oxyde Sesquiterpénique

30	3,5-Heptadienal	37.929	0.988	autres
Totale	94.26			

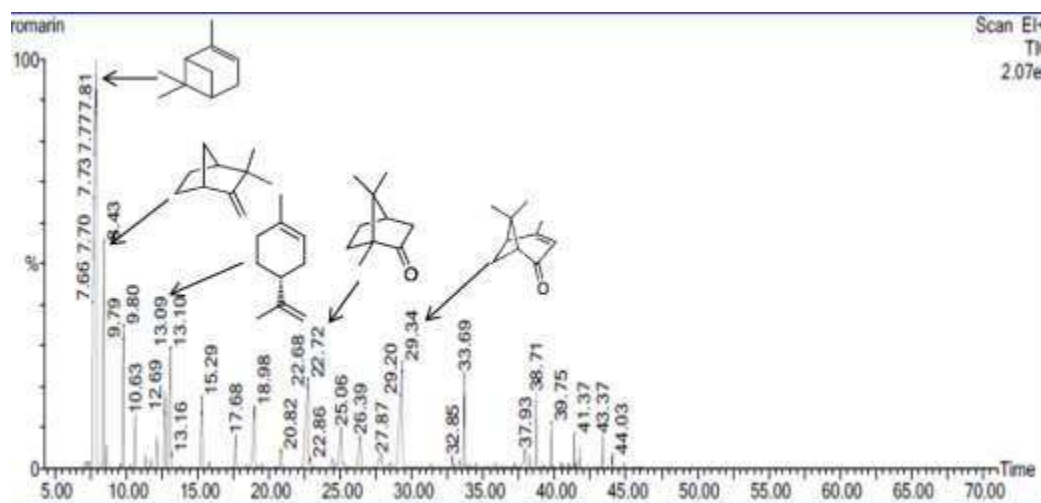


Figure 17: Chromatogramme de l'huile essentielle de Romarin obtenu par analyse GC-MS

Les analyses chimiques présents dans le tableau 2 ont été effectués par GC-MS elles ont permis d'identifier 30 composants représentant 94.26% de l'HE de Romarin possède des concentrations importantes en monoterpènes hydrocarbonés comme α -pinène (32.818%), verbénone (8.728%) (monoterpène oxygéné), puis le camphre (7.167%), camphène (6.788%), Limonène (4.865%) et β -pinène (4.705%). D'autres études faites au France[79] ont trouvé des composants presque identiques de celle qu'on a obtenu avec une prédominance de l' α -pinène (32,3%), puis le camphène (8,9%), le camphre (5,9%), le limonène (3,9%) et le β -pinène (3,8%), Par contre, la verbénone n'est pas signalée.

b) Composition chimique de l'huile essentielles *Lavande officinalis*

Tableau 3: Composition chimique de l'huile essentielle *Lavande officinalis*

N°	composés	RT	Area%	Famille ou classe de molécules
1	(+)- α -Pinene	7.626	0.470	Hydrocarbure Monoterpénique
2	Camphene	8.297	0.424	
3	β -Pinene	9.714	0.645	
4	Myrcene	10.594	0.849	
5	β -Ocimene	13.796	1.045	
6	α -Ocimene	14.534	0.801	
7	4-Carene	17.639	0.762	
8	Naphthalene	41.527	0.307	

9	endo-Borneol	25.281	6.994	Monoterpénols
10	terpinen-4-ol	26.419	1.205	
11	α -TERPINEOL	27.957	4.695	
12	Borneol	33.677	0.240	Oxyde monoterpénique
13	Linalool Oxide	16.330	0.518	
14	Eucalyptol (1,8-cinéole)	13.300	14.071	
15	Linalyl acetate	19.553	26.175	
16	Hexyl Butryate	28.374	0.588	
17	Bornyl acetate	30.396	0.270	Ester monoterpénique
18	3-Acetoxyoctene	20.299	0.349	
19	Geranyl acetate	36.924	0.827	
20	Neryl Acetate	37.612	1.467	
21	2-Undecanone	34.215	2.578	Cétones
22	Camphor	22.884	10.646	
23	Caryophyllene	38.692	0.470	hydrocarbure sesquiterpénique
24	Cedrelanol	44.833	2.276	Alcool Sesquiterpénique
25	Levomenol	45.812	0.298	
26	Caryophyllene oxide	43.373	0.564	Oxyde Sesquiterpénique
27	Linalyl 2- ANTHRANILATE	32.605	14.607	Ester sesquiterpenique
28	Benzaldehyde	31.105	0.230	autres
29	Butyl Tiglate	35.678	0.292	
30	Jasmone	45.916	0.597	
Totale		95.476		

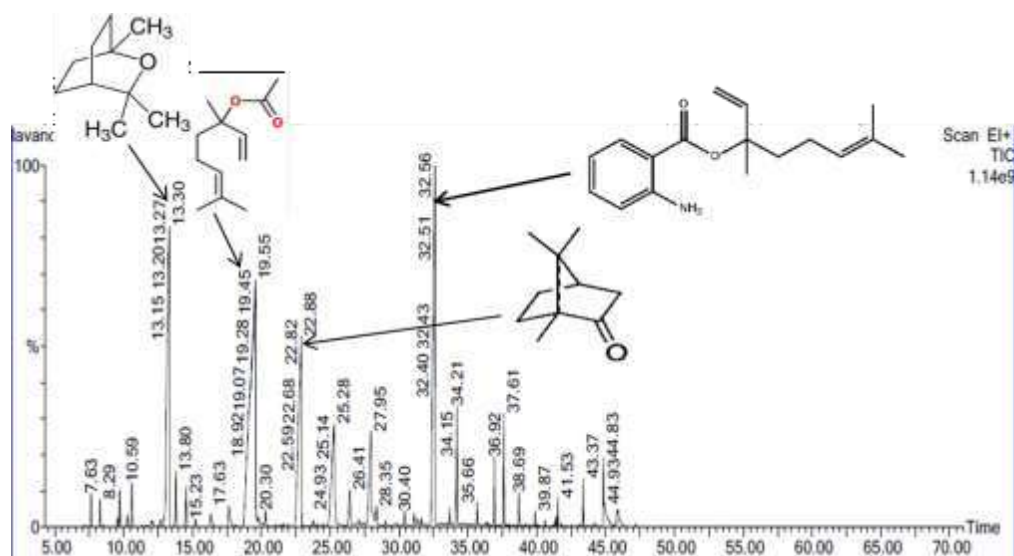


Figure 18: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* obtenu par analyse GC-MS

L'analyse de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* par GC-MS a permis d'identifier 30 composés terpéniques cités dans le tableau 3.

D'après ces résultats, 95.476% des composants de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* sont identifiés. Les composants majeurs représentent 65.499% des hydrocarbures monoterpéniques de cette huile sont: Linalyl acétate (26.175%), Linalyl 2-Aminobenzoate (14.607%), L'eucalyptol (14.071%), et camphre (10.646%).

Ces résultats sont comparable à celle obtenu en Algérie par Laib et Barbat en 2011 pour la région de Constantine ont donné: Linalyl acétate (15.26%), Linalool (10.68%), 1,8-cineole (10.25%), γ -terpinene (11.2%) et camphor (11.25%) [80].

Autre auteurs comme Verma *et al.* en 2009 [81], ont analysé la composition des fleurs de *Lavandula officinalis* cultivées à Uttarakand (Inde), ils ont identifiés 37 composés monoterpéniques: les composés majeurs étaient: Linalyl acétate (47.56%), linalool (28.06%), lavandulyl acétate (4.34%) et α -terpineol (3.7%).

Les composés chimiques qui ont une grande efficacité et à plus large spectre sont présents dans l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*, ce qui explique l'activité de cette dernière. Ces composés sont des phénols (1,8 cinéole, carvacrol, octanol,..), des alcools (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), des aldéhydes et des cétones (Camphor, etc.) [82].

c) Composition chimique de l'huile essentielles *ThymusBoussneti*

Tableau 4: Composition chimique de l'huile essentielle *ThymusBoussneti*

N°	Comosés	RT	Area %	Famille ou classe de molécules
1	β -Thujene	7.363	1.015	Hydrocarbure Monoterpénique
2	2-Norpinene	7.663	0.959	
3	Camphene	8.322	0.122	
4	SABINENE	9.598	0.368	
5	β -PINENE	9.760	0.900	
6	Myrcene	10.677	1.536	
7	α -Phellandrene	11.386	0.259	
8	Terpinolene	12.253	2.617	
9	o-Cymene	12.958	14.367	
10	Diprene	13.141	1.011	
11	gamma-Terpinene	15.651	16.859	

12	4-Carene	17.714	0.183	
13	Linalool	18.936	1.074	Monoterpénols
14	4-Carvomenthenol	26.344	1.355	
15	β -Terpineol	27.749	0.426	
16	(-)- α -Terpineol	28.161	1.783	
17	Thymol	34.531	20.005	
18	Carvacrol	35.019	21.407	
19	Eucalyptol	13.295	3.638	Oxyde monoterpénique
20	Menthone	23.684	0.385	Cétone
21	Pinocamphone	25.706	0.494	
22	Isopulegone	31.697	1.146	
23	carvone	31.901	2.186	
24	Caryophyllene	38.754	1.840	hydrocarbure sesquiterpénique
25	Bisabolene	41.389	0.116	
26	Isoledene	41.798	0.129	
27	Caryophyllene Oxide	43.394	0.467	Sesquiterpènes oxygéné
28	4-Tert-Butyl-2-Methylphenol	31.609	0.783	autres
29	3-Octanone	10.344	0.317	
30	Methyl Tetracosanoate	56.492	0.171	
Totale		97.918		

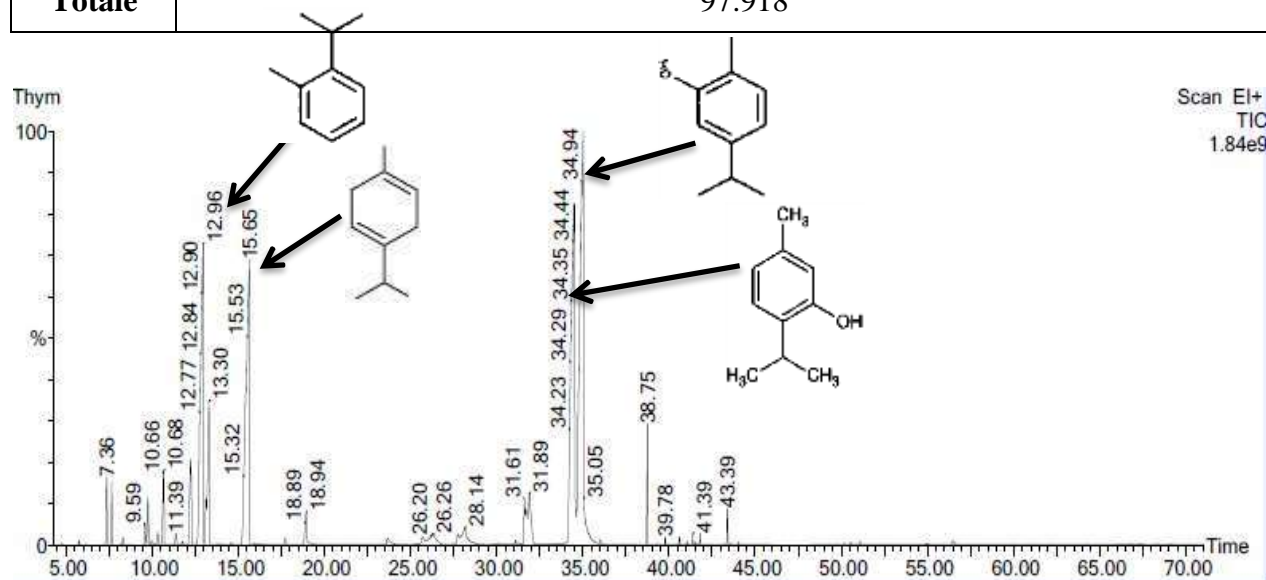


Figure 19: Chromatogramme de l'huile essentielle de *Thymus Broussneti* obtenu par analyse GC-MS

L'huile essentielle (HE) de *Thymus Broussneti* cultivée à la région de Taounat, obtenue par entraînement à la vapeur de la partie aérienne de la plante, a été étudiée par (GC/SM). 30 composés correspondant à 99,62% ont été identifiés. Les composés majoritaires de cette HE sont le Carvacrol (21.407%) (monoterpènes), Thymol (20.005%) (sesquiterpène), γ -terpinene (16.859%), terpinolene (2.617%) et carvone (2.186%). Cette composition chimique est différente à celle obtenue à la région de Meknès en 2008 [83], constituée majoritairement par le carvacrol (70,92%), accompagné d'autres constituants à des teneurs relativement faibles: p-cymène (6,34%), γ -terpinène (4,92%), linalool (3,86%), β -caryophyllène (3,57%) et β -pinène (2,48%). Il est relativement comparable à celle cultivées au centre nord du Maroc en 2013 [84] qui est riche en γ -terpinène (22,25%) et en thymol (41,39%).

d) Composition chimique de l'huile essentielles *L'Eucalyptus camaldulensis* Dehneh

Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle L'Eucalyptus camaldulensis Dehneh

N°	Composés	RT	Area%	Famille ou classe de molécules
1	β -Thujene	7.372	0.064	Hydrocarbure Monoterpénique
2	α-Pinene	7.814	20.168	
3	Camphene	8.318	0.076	
4	β -Phellandrene	9.577	0.091	
5	β -pinène	9.740	0.677	
6	β -myrcene	10.619	0.937	
7	Gamma-terpinene	11.378	0.140	
8	2-carene	12.228	0.051	
9	β -ocymene	14.592	0.195	
10	Gamma-Terpinene	15.288	0.343	
11	Terpinolene	17.673	0.685	
12	Linalyl acetate	18.861	0.168	Ester monoterpénique
13	Eucalyptol	13.708	68.034	Oxyde monoterpénique
14	Thujone	20.036	0.214	cétone
15	Isopinocarveol	22.008	0.055	Monoterpénols
16	Ocimenol	25.064	0.075	
17	α -Terpineol	27.707	1.307	
18	Isoledene	38.383	0.363	

19	Calarene	39.084	0.072	hydrocarbure sesquiterpénique
20	(+)-Aromadendrene	39.309	0.648	
21	Alloaromadendrene	39.980	0.399	
22	α -Bisabolene	41.001	0.296	
23	Trans-Caryophyllene	44.190	0.084	
24	Ledol	42.973	0.158	Alcool sesquiterpénique
25	Globulol	42.798	0.094	
26	Epiglobulol	43.432	1.370	
27	alpha-eudesmol	43.669	0.469	
28	Viridiflorol	43.940	0.223	
29	β -Eudesmol	44.532	0.170	Divers
30	3-Octyne	19.086	1.074	
Totale		98.7		

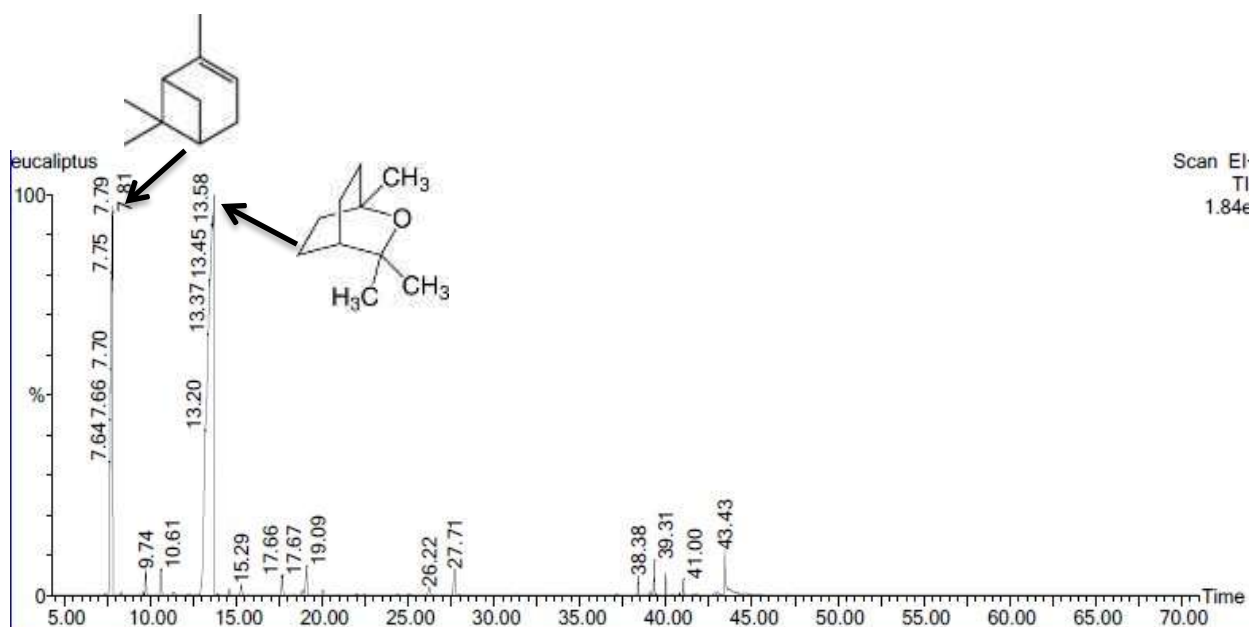


Figure 20: Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehneh obtenu par analyse GC-MS

L'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehneh présente 98.7% de l'ensemble de ces constituants participe au mélange est caractérisée par sa richesse en hydrocarbure monterpénique notamment l'Eucalyptol ou (1,8- cinéole) (68.034%) qui est le composé dominant et en α -pinene (20.168%). Cette composition est relativement comparable à celle de l'huile essentielle d'E. camaldulensis de Sidi Amira (Maroc), qui est plus riche en 1,8-cinéole (50,69%) et p-cymène (11,24%) et moins riche en α -pinène (11,23%) et γ -terpinène (1%)[85].L'huile essentielle d'E. camaldulensis du Cameroun est également plus riche en 1,8-

cinéole (54,29%), p-cymène (14,59%), γ -terpinène (14,80%) et pauvre en α -pinène (12,13%) [86]. De même en Sidi yahya Maamoura 2008, l'étude de la composition chimique des huiles d'*E. camaldulensis* a montré une dominance le 1,8- cinéole (42,30%), l' α -pinène (28,30%), suivi de γ -terpinène (7,30%) et de p-cymène (6,50%) [78].

e) **Composition chimique de l'huile essentielles *L'Artémia herba alba***

Tableau 6: *Composition chimique de l'huile essentielle L'Artémia herba alba*

N°	Composés	RT	Area (%)	Famille ou classe de molécules
1	α - Pinene	7.63	0.1	Hydrocarbure Monoterpénique
2	Camphene	8.30	0.7	
3	α - Phellandrene	9.59	2.3	
4	β - Myrcene	10.58	0.1	
5	(+)-4-Carene	12.13	0.2	
6	p-Cymene	12.66	0.5	
7	γ - Terpinene	15.23	0.5	
8	Eucalyptol	13.08	0.6	Oxyde monoterpénique
9	Cis-Verbenol	24.03	0.4	Monoterpénols
10	Terpinen-4-ol	26.36	0.9	
11	Trans-Carveol	30.84	0.1	
12	Cis-Carveol	31.10	0.6	
13	Thymol	34.75	0.1	
14	Lilac alcohol	43.42	0.4	
15	Bornyl acetate	33.64	0.1	Ester monoterpénique
16	Myrtenyl acetate	41.19	0.1	
17	Xanthoxylin	45.47	0.1	Monoterpène oxygéné
18	α- Thujone	20.02	65.0	Cétone
19	β- Thujone	20.74	14.4	
20	Chrysanthenone	20.80	0.4	
21	Camphor	22.83	6.0	
22	Pinocarvone	24.51	0.3	
23	Carvone	31.39	0.1	
24	Carvenone	31.93	0.3	
25	2-Undecanone	34.14	0.9	
26	α - Thujenal	27.01	0.2	

27	Myrtenal	27.97	0.3	Aldéhyde
28	β -Copaene	37.23	0.2	hydrocarbure sesquiterpénique
29	β -Ylangene	39.78	0.2	
30	Spathulenol	43.51	0.2	Alcool sesquiterpénique
Totale			96.3	

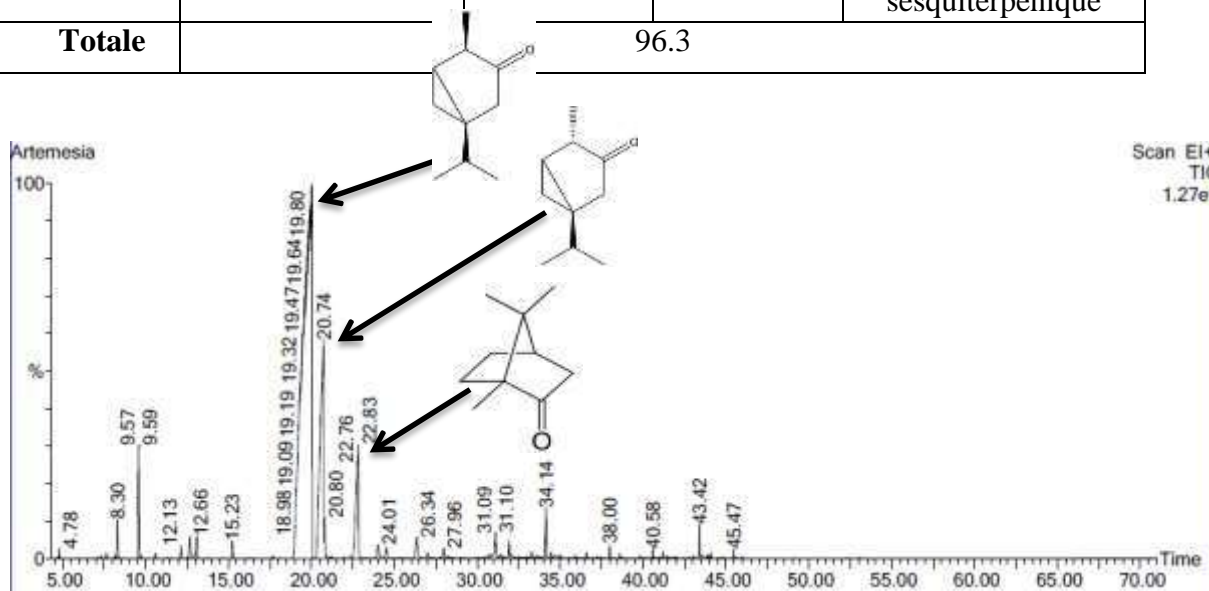


Figure 21: Chromatogramme de l'huile essentielle de L'Artemisia Herba alba obtenu par analyse CPG

Dans l'huile essentielle isolée d'A. herba-alba, 30 composants ont été identifiés (tableau 6), correspondant à 96,3% de l'huile totale, il semble que les composants de cette huile sont des composés terpéniques. L' α -thujone (65,0%) était le composé le plus abondant trouvé, suivi de trois autres constituants principaux, la β -thujone (14,4%), le camphre (6,0%) et l' α -phellandrène (2,3%).

Par contre l'Armoise blanche collectée à la région d'Errachidia [87] on trouvé que Les composés majoritaires sont Davanone (37,71%), de caryophyllène oxyde (13,17%) 5,8,11-Heptadecatrien-1-ol (7,68%) et spathuléol (6,48%) et l' α -campholène aldéhyde (4,18%).

Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction.

II.3. Test antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles de *l'Artemisia Herba Alba*, *Rosmarinus officinalis*, *lavande officinale*, *Eucalyptus caunaldulensis* et le *Thymus Broussneti* a été évalué

in vitro vis-à-vis de *Botrytis cinerea*; elle est exprimée par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

En premier temps, la croissance mycélienne de souche fongique était normale (Témoin). Contrairement en présence des huiles essentielles. L'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet des huiles essentielles contre *Botrytis cinerea*.

a) Action de l'huile essentielle *Romarin* sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

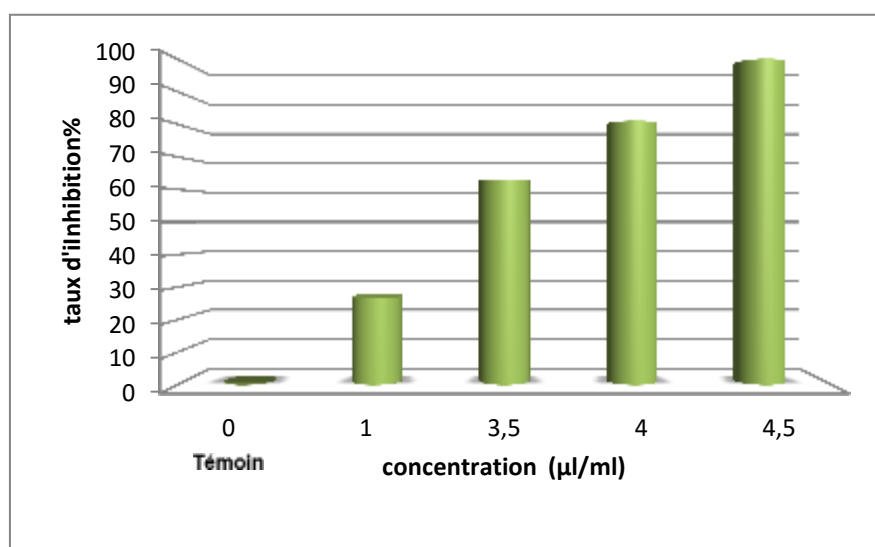
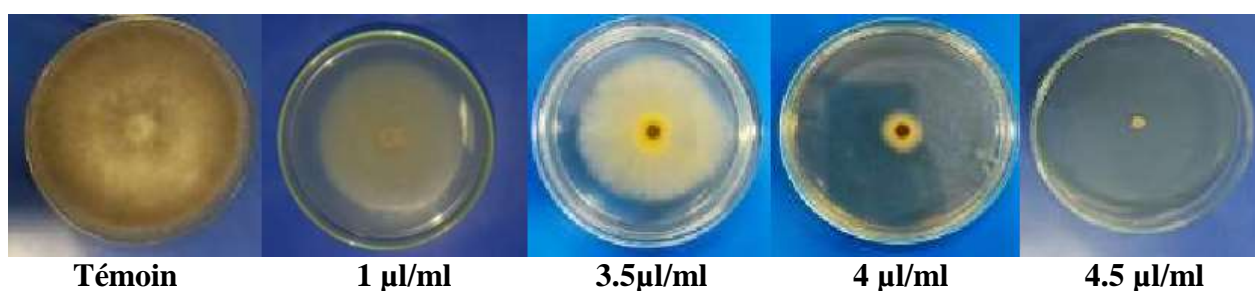


Figure 22: Activité inhibitrice de l'huile essentielle de *Romarin* sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*



L'huile essentielle de *Romarin* a donné des taux d'inhibition de 63%, 81% et 100% pour des concentrations allant respectivement de 3.5, 4 et 4.5 µl/ml. Pour la concentration 1 µl/ml le taux d'inhibition est inférieure à 50%. L'huile essentielle du romarin qu'on a testé est fongicide.

Le monoterpène hydrocarboné α -pinène possède une activité antifongique importante contre *B.Cinerea* qui est un composé apolaire doué d'un grand pouvoir pénétrant et qui est

capable de traverser des membranes cellulaires en altérant leurs fonctions cellulaires notamment la pompe à protons ATPase et aboutir à la mort du champignon [88].

b. Action de l'huile essentielle *Lavande* sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

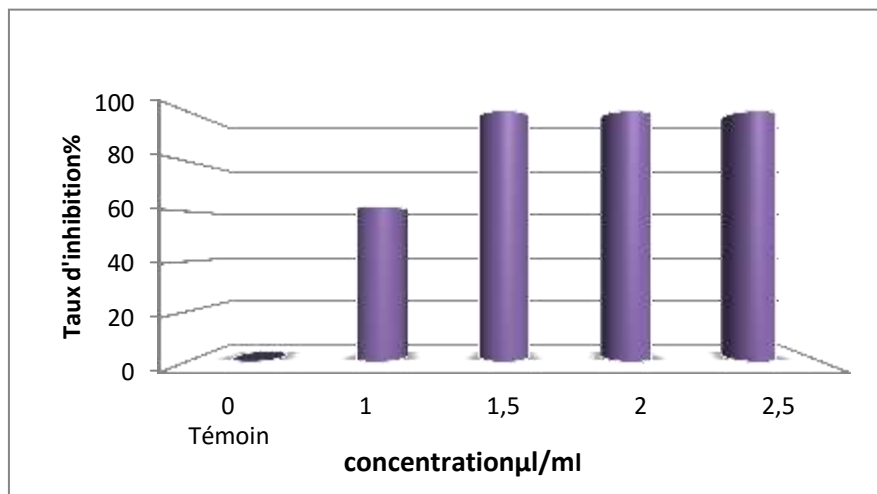
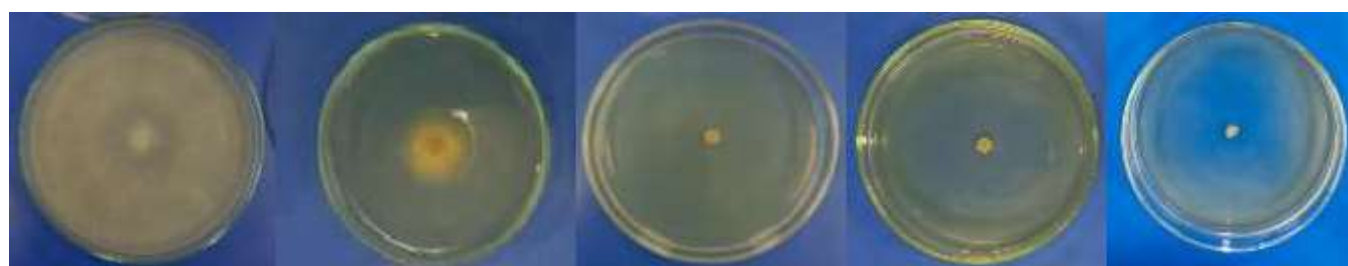


Figure 23: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de lavande sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*



Témoin

1 $\mu\text{l/ml}$

1.5 $\mu\text{l/ml}$

2 $\mu\text{l/ml}$

2.5 $\mu\text{l/ml}$

En ce qui concerne *lavande*, des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne sont 61.8, 100, 100 et 100% respectivement pour des concentrations 1, 1.5, 2 et 2.5 $\mu\text{l/ml}$ (Fig. 23). A partir des résultats enregistrés dans l'histogramme, on trouve que la concentration minimale inhibitrice de *lavande* est de 1.5%. L'HE de lavande testé est fongicide.

Cela est peut-être dû à l'empêchement de la germination des conidies par les composés volatils de l'huile de la lavande.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant [2].

Certains composants de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* sont connus par leurs effets fongicides comme carvacrol et linalol [89].

c. Action de l'huile essentielle d'*Artimisia herba alba* sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

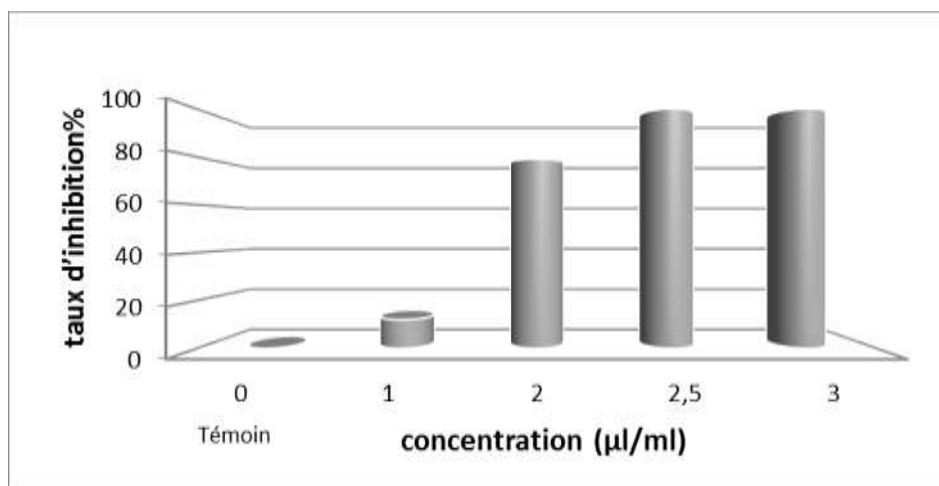
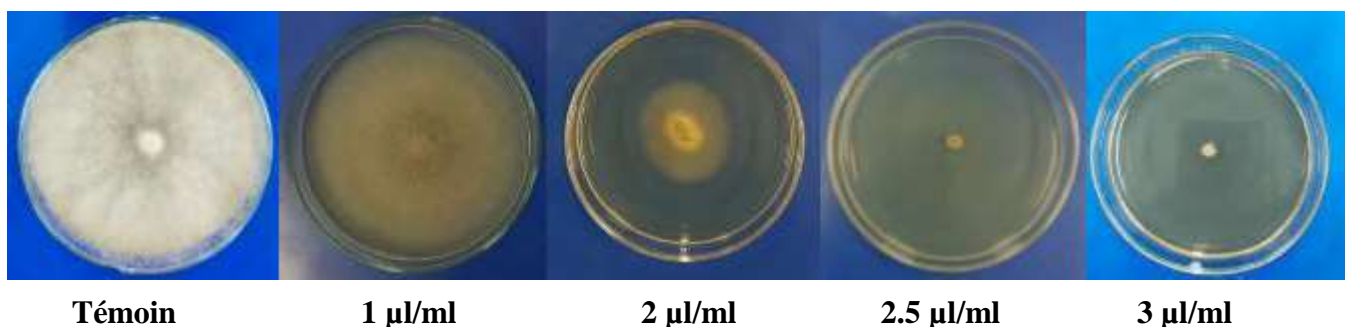


Figure 24: Taux d'inhibition de l'huile essentielle d'*Artimisia herba alba* sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*



Pour l'*Artimisia herba alba*, les taux d'inhibition obtenus varient de 12% et 79% pour les concentrations 1 et 2 µl/ml respectivement. En conséquence, la CMI d'*Artimisia herba alba* est 2.5 µl/ml.

Le pouvoir antifongique d'huile essentiel d'*Artimisia herba alba* pourrait être attribué à la présence de composants antifongiques classé dans la liste des constituants à activité antifongique tels que α -thujone, β -thujone. Cette Huile est fongistatique.

L'activité antifongique des huiles de l'armoise blanche peut être expliquée par leurs richesses en composés oxygénés (α -thujone, β -thujone chrysonthénone, camphre, α -terpin7-al et trans- β -terpinéol). En effet, Kordali et al.[90]et [91].

d. Action de l'huile essentielle *Thymus Broussneti* sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

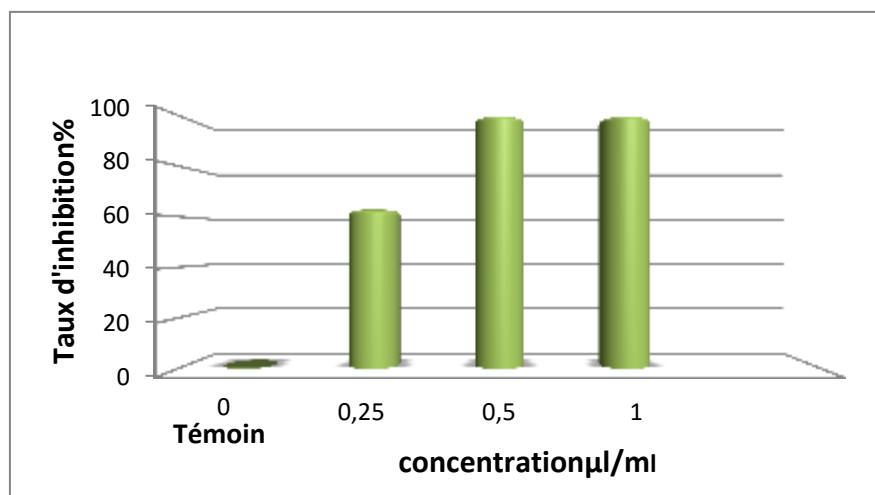
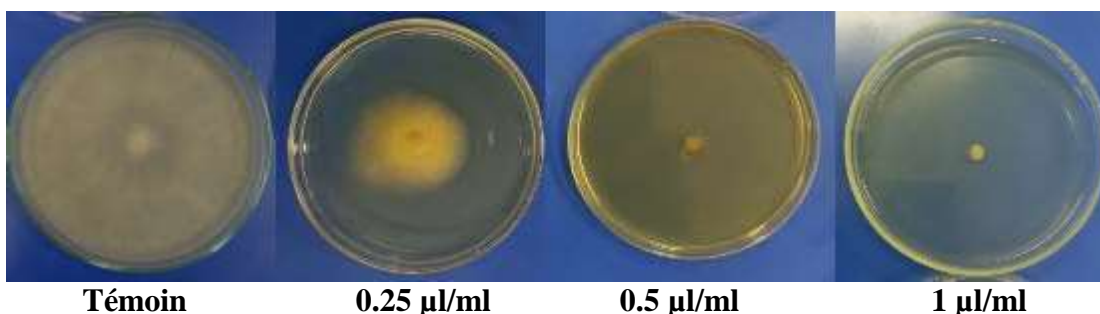


Figure 25: Taux d'inhibition de l'huile essentielle de *Thymus Broussneti* sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*



L'analyse des résultats (Fig.25) relatifs à la croissance mycélienne chez *Botrytis cinerea* soumis à l'action de différentes concentrations des huiles essentielles testées nous permet de constater que l'huile essentielle de *Thym* exerce une action inhibitrice plus forte sur *B.cinerea* avec un taux d'inhibition de 100% pour la CMI de 0.5µl/ml par rapport aux autres essences. C'est une huile fongicide.

Des études ont montrés que le thymol et le carvacrol présentait une forte activité antifongique contre *Botrytis cinerea* Le thymol et le carvacrol ont évidemment changé la morphologie de *B. cinerea*hyphes en perturbant et en déformant le mycélium par microscopie électronique à balayage. La perméabilité membranaire des hyphes de *B. cinerea*.

Par conséquent, les résultats actuels indiquent que le thymol et le carvacrol peuvent être utilisés comme une bonne alternative aux fongicides conventionnels contre *B. cinerea* dans le contrôle des moisissures grises dans les produits horticoles [92] Par conséquent, cette huile

peut être exploitée comme une alternative idéale aux fongicides synthétiques contre la pourriture des tomates.

e. Action de l'huile essentielle d'*eucalyptus camaldulensis* Dehnh sur la croissance mycélienne de *B. cinerea*

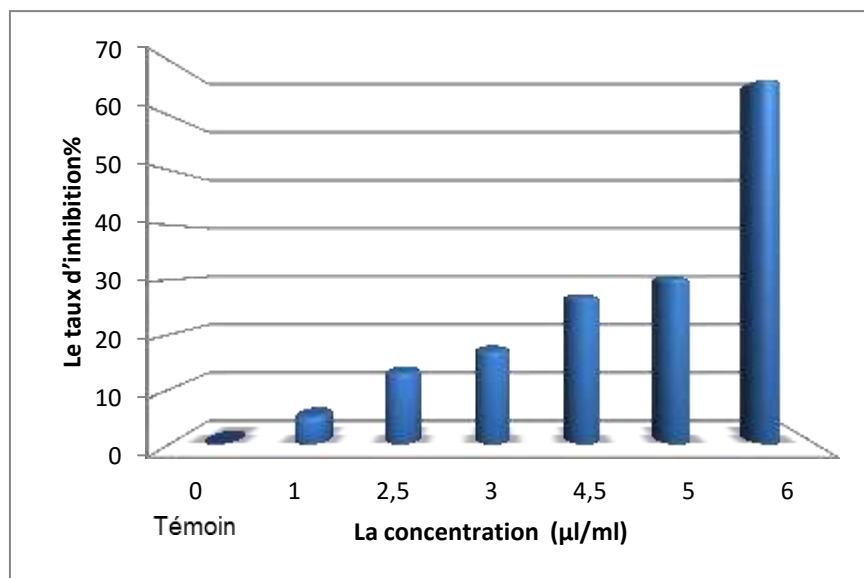
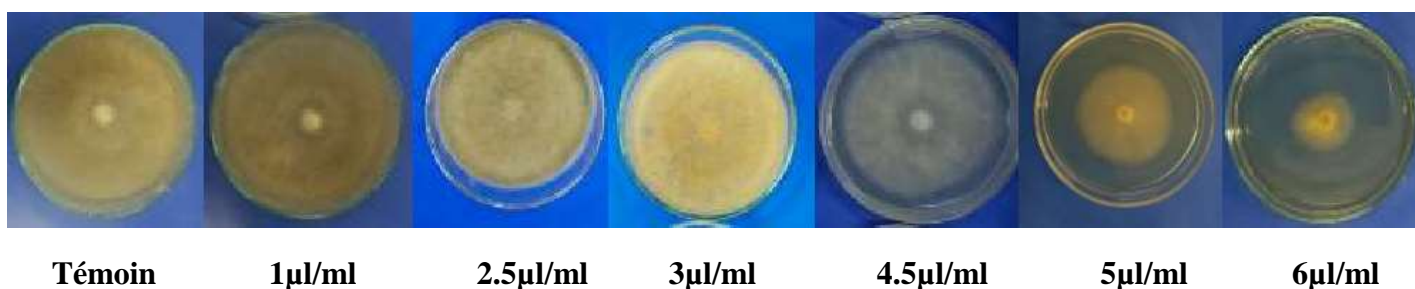


Figure 26: Taux d'inhibition de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*



La propriété antifongique d'huile essentielle d'Eucalyptus récolté au Guiche Rabat n'a pas donné une inhibition totale de *botrytis cinerea* de tomate. Les taux d'inhibition étaient 5, 13, 17, 26,9, 30,33 et 66,88% pour les concentrations 1, 2,5, 3, 4,5, 5 et 6 µl/ml, respectivement on peut dire que le *Botrytis cinerea* est résistant à l'huile essentiel d'*Eucalyptus* récolté au Guiche Rabat. L'HE d'*E.camaldulensis* qu'on a testé est fongistatique.

Cette inactivité peut être attribuée à la composition chimique de cette huile [93] 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; malgré des recherches approfondies sur les effets inhibiteurs des monoterpènes sur les plantes, le mécanisme d'action des

monoterpènes pour inhiber la croissance des cellules fongiques et végétales reste incertain. Cependant, parmi tous les effets possibles des monoterpènes sur les biofilms, les effets néfastes sur les membranes mitochondriales devraient entraîner une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, entraînant une perturbation de divers processus physiologiques et biochimiques au sein des cellules.[94] Les travaux de Chebli et al. [66] et de Vilela et al.[95] ont montré que le 1,8-cinéole pur provoque une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des concentrations plus élevées que les huiles essentielles dans leur totalité; ainsi l'activité de l'huile essentielle est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires [96].

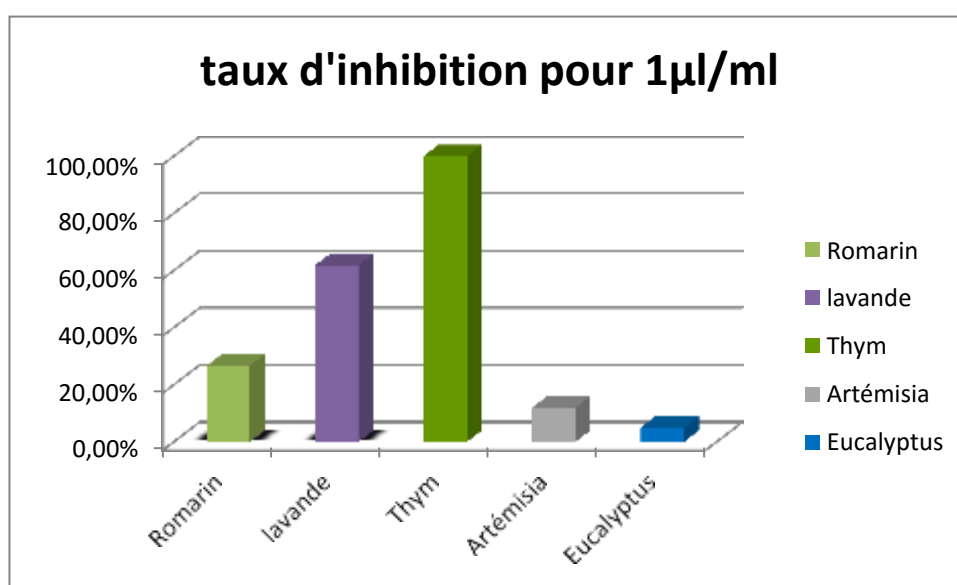


Figure 27: Comparaison entre les cinq plantes pour la concentration 1µl/ml

La comparaison entre les différents pourcentages d'inhibition pour la concentration commune entre les cinq huiles essentielles (1µl/ml) montre que l'HE de Thym est la plus efficace contre *Botrytis cinérea* suivé par lavande, le Romarin puis l'Artémisia et enfin L'Eucalyptus qui a donné la plus faible efficacité.

En premier temps, la croissance mycélienne de souche fongique était normale (Témoin). Contrairement en présence des huiles essentielles. L'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet des huiles essentielles contre *Botrytis cinerea*. Les composés majoritaires ou mineurs peuvent augmenter l'activité antifongique. Cette activité d'huile essentielle, 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 des huiles essentielles [97].

Conclusion

Ce travail a été consacré à l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles des cinq plantes aromatiques et médicinales marocaines obtenus par hydrodistillation vis-à-vis de champignon *Botrytis cinerea* de tomate par la méthode de contact direct. Les huiles essentielles ont montré une activité plus ou moins variée. Pour la mise en évidence de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles, les résultats obtenus mentionnent le grand pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle de *Thymus Broussneti* sur la croissance mycélienne de *B.cinerea*. Il semble d'après ces résultats que le *Thymus Broussneti* a une CMI la plus faible (0.5µl/ml) par rapport aux autres huiles essentielles étudiées tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE de *Romarinus officinalis* avec une concentration de (4.5 µl/ml), Alors que *L'Eucalyptus camaldulensis Dehnh* était incapable d'inhiber complètement la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* on peut dire que *B.Cinerea* est résistant à l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis Dehnh* récolté au Guiche Rabat.

L'activité antifongique est révélée par l'absence et la présence de croissance mycélienne. Nos résultats indiquent que l'huile essentielle de thym a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne pour la souche testée (*Botrytis cinerea*), tandis que l'huile essentielle d'*Eucalyptus* n'a pas une capacité inhibitrice importante de la croissance mycélienne. Ainsi, selon leurs activités sur le phytopathogène (*Botrytis cinerea*), ces huiles ont été classées dans l'ordre décroissant suivant: *Thymus Broussneti* > *Lavande officinalis* > *Artimisia herba alba* > *Romarin* > *L'Eucalyptus camaldulensis Dehnh*.

En effet, *Thymus Broussneti* que nous avons utilisé est riche en Thymol (20.005%), Ce dernier peut être responsable du fort pouvoir fongicide, à faibles concentrations, de cette huile essentielle sur la croissance mycélienne de moisissure testée [98]. lavande est constituée principalement en linalyl-acetate (26.175%) et l'*Artimisia herba alba* à 65% de α -Thujone, puis le Romarin et *L'Eucalyptus camaldulensis Dehnh*. Sont constitués respectivement par α -Pinene (32.818%) et l'Eucalyptol (68.034%) L'activité antifongique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent,

mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique.

Nos résultats ont révélé que les cinq huiles essentielles étudiées présentent une excellente activité antifongique qui est dû à la richesse de ces essences en composés chimiques. Donc les huiles essentielles testées au cours de cette étude, constituent une bonne alternative des fongicides conventionnels.

Les variations de l'activité antifongique évaluées sont liées à plusieurs paramètres dont la nature et la concentration de l'HE, la méthode d'application ainsi que la souche fongiques utilisée.

Perspectives

À la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autres perspectives. Dans le but de proposer une formulation biofongicide commerciale et d'approfondir les recherches concernant les effets des facteurs environnementaux sur la capacité antifongique des huiles essentielles, il serait intéressant de compléter le travail plus particulièrement par:

- Poursuivre l'étude phytochimique et continuer la recherche sur les espèces étudiées afin d'isoler, de purifier et d'identifier d'autres métabolites secondaires contenus dans ces cinq plantes.
- Elargir l'étude du spectre de l'activité biologique des cinq plantes (contre d'autres champignons, contre les insectes, contre les bactéries ...)
- Etude de faisabilité de la commercialisation des produits antifongiques à base des huiles essentielles, des extraits et des produits purs isolés des plantes qu'on a testé. Cette étude nécessite un suivi in vivo de l'effet antifongique à grand échelle.
- Culture en masse en utilisant la culture in vitro des cinq plantes pour amplifier la quantité des huiles essentielles extraites et qui constitue un réservoir riche en molécules. La recherche d'un milieu et des conditions de culture sont indispensables.

Références bibliographiques

- [1] Jean Duval, agr., M.Sc., « LA POURRITURE GRISE DES FRAISES ». 1994.
- [2] I. LAIB, « Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs ». UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE INSTITUT DE LA NUTRITION, DE L'ALIMENTATION ET DES TECHNOLOGIES ARGO-ALIMENTAIRES, 2011.
- [3] O. CHAUIYAKH, « caractérisation de la composition chimique et étude des activités biologiques de l'huile essentielle de *teucrium polium* ». UNIVERSITE IBN TOFAIL FACULTE DES SCIENCES, 2019.
- [4] ali Bouguerra, « Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire ». Université Mentouri Constantine Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, 2012 2011.
- [5] basma aghoutane, « effet de deux huiles essentielles sur le développement d'un champignon et détermination de leur composition chimique ». Faculté des sciences rabat, 2018.
- [6] A. ADJEBLI, « Caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Botrytis cinerea* ; agent causal de la pourriture grise sur tomate ». Université A.MIRA-BEJAIA Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2014.
- [7] P. Rattanapitigorn, M. Arakawa, et M. Tsuru, « Vanillin enhances the antifungal effect of plant essential oils against *Botrytis cinerea* », *Aromatherapy*, p. 193-198, 2006.
- [8] -Fernández-Acero F. J., Carbú M., El-Akhal M. R., Garrido C., GonzálezRodríguez V. E., et Cantoral J. M, « Development of proteomics-based fungicides: new strategies for environmentally friendly control of fungal plant diseases. », p. 795-816, 2011.
- [9] Agrios G.N, « Plant pathology », *Elsevier Academic Press, Oxford, UK*, p. 922, 2005.
- [10] W. Belhouan et amel Boussaha, « Activité antifongique de trois huiles essentielles sur deux champignons pathogènes de la tomate; *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum* ». Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et de l'univers, 2017.
- [11] Alilou, H, « étude phytochimique et antifongique de deux plantes du sud du Maroc ». 2012.

- [12] Dik, A.J. et Wubben, J.P., « Epidemiology of Botrytis cinerea diseases in greenhouses », *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands*, p. 319-331, 2004.
- [13] Leroux P., « Patterns of cross-resistance to fungicides in Botryotinia fuckeliana (Botrytis cinerea) isolates from French vineyards », *Crop Protection*, p. 687-697, 1999.
- [14] Thomashow, L. S., Weller, et D. M., « Current concepts in the use of introduced bacteria for vacuoles by both InsP3 and cyclic ADP-ribose », *Science* 268, p. 735-737, 1996.
- [15] Yedida I, Benhamou N, et Chet I, « Induction of defense responses in cucumber plants (Cucumis sativus L.) by the biocontrol agent Trichoderma harzianum », *Applied and Environmental Microbiology* 65, p. 1061-1070, 1999.
- [16] Dubos B., Jailloux F., et Bulit J., « Microbial antagonism in the control of grey mould of grapevine. », *EPPO Bulletin*, p. 171-175, 1982.
- [17] Dubos B, Bulit J, Bugaret Y, et Verdu D, « The possibilities of using Trichoderma viride for the biological control of Botrytis cinerea and Phomopsis viticola on grapevines. », *Comptes Rendus des Seances de l'Academie d'Agriculture de France*, p. 1159-68, 1978.
- [18] Ouis N., « Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil ». Université d'Oran, 2015.
- [19] J. Garnerio, « Huiles essentielles. », *Techniques de l'ingénieur K*, p. 1-45, 1996.
- [20] VALNET, J., *Aromathérapie*, 11ème édition. Edition Vigot, 2003.
- [21] Mme Benin roumayssa et Mme redouani kaoutar, « Extraction et caractérisation physicochimique et biologique des huiles essentielles extraites à partir d'une plante médicinale (Mentha aquatica L.) de la région d'El oued », p. 98.
- [22] Dorosso Sonate J., « Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. », 2002.
- [23] Kaloustian J et Hadji-Minaglo F, « La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie. », Paris, 2012.
- [24] PAR ROBIN DESCHEPPER, « VARIABILITÉ DE LA COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES ET INTÉRÊT DE LA NOTION DE CHÉMOTYPE EN AROMATHÉRAPIE ». Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, 26 avril 2017.
- [25] Mustapha El Ajjouri *et al.*, « Activité antifongique des huiles essentielles de Thymus bleicherianus Pomel et Thymus capitatus (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre », n° 345-351, 2008.
- [26] Brunton J., « Pharmacognosie photochimie plantes médicinales », paris.
- [27] Mme ALLOUN Kahina, « Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de Crithmum maritimum L., de Melissa officinalis L. et de Thymus

pallescens de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym ». ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE, 2019.

[28] HESSAS Thafsouth et SIMOUD Sounia, « Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus sp* », 2018.

[29] GUIGNARD, J.-L., *Biochimie végétale*. Edition Masson, 1996.

[30] BAUDOUX, D, BLANCHARD, J-M, et MALOTAUX, A.F., « Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, Soins palliatifs », Edition Inspir., Edition Inspir, 2006.

[31] Françoise, COUIC-MARINIER, et Annelise LOBSTEIN, *Composition chimique des huiles essentielles*, Elsevier Masson SAS. 2013.

[32] M. Kfoury, « Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes », p. 226.

[33] charchari S., Dahoun A., Bachi F., benslimani A, « in vitro antimicrobial of essential oils of artemisia herba-alba and artemisiajudacia algeria », Rivista-italiana-EPPOS, 1996.

[34] Amrati F *et al.*, « composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de thymus algeriendid Boiss, and peut, et thymus ciliatus », p. 141-148, 2010.

[35] Benabid A, « Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité », Paris, France, p. 359, 2000.

[36] « Activité antifongique. » février 2018. [En ligne]. Disponible sur: www.infectiologie.com

[37] Pierron C, « Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatriegérontologie et soins palliatifs », FRANCE, p. 257, 2014.

[38] Chemloul F., « Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen ». Tlemcen, 2014.

[39] Mayer F, « utilisation thérapeutique des huiles essentielles. » Université de Lorraine, 2012.

[40] Velé H., « Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments ». Université Angers, 2015.

[41] Franchrome P, Jollois R, et Pénoel D, « L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation des extraits aromatiques. », paris, 2001.

[42] MAROC-PAM. 2006.

- [43] HURABIELLE. M, MALSOT, M, et PARIS M, « contribution à l'étude chimique de deux huiles d'Artemisia: Artemisia herba alba asso et artemisia vulgaris linnaeus; interet chimiotaxonomique », p. 296-299.
- [44] « genre Artemisia, Flore du Maroc, famille des Asteraceae, clé d'identification ». <https://www.floramarocana.fr/artemisia-cle.html> (consulté le 11 mai 2022).
- [45] Assia ZAIM, Lahsen EL GHADRAOUI, et Abdellah FARAH, « Effets des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba sur la survie des criquets adultes d'Euchorthippus albolineatus », Rabat, p. 127-133, 2012.
- [46] Dupont F, « Botanique - Systématique Moléculaire », paris, p. 110-125, 2004.
- [47] « Armoise herbe blanche - Artemisia herba-alba - plante vivace », *GAEC Les Senteurs du Quercy*. <https://www.senteursduquercy.com/artemisia-armoise/77-artemisia-herba-alba-armoise-herbe-blanche.html> (consulté le 11 mai 2022).
- [48] Gharabi et Sand R.L, « Artemisia herba alba Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa », p. 49-49, 2008.
- [49] Twaij Ha. et Al-Badr A, « Hypoglycaemic activity of Artemisia herba-alba », *J Ethnopharmacol*, p. 123-126, 1988.
- [50] BOUDJELAL A, « Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (Ajugaiva, Artemisia herba alba et Marrubium vulgare) de la région de M'Sila, Algérie. », p. 61, 2013.
- [51] Touhami A, « Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres Thymus récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement », algérie, p. 173, 2017.
- [52] Goetz P et Guedira K, « Phytothérapie anti-infectieuse. » Springer, paris, 2012.
- [53] Aissani F, « Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles essentielles Thymus ciliatus (Zaitra) et Ammoïdes verticillata (Nunkha). », Université ABOUBAKER BELKAID Tlemcen, 2015.
- [54] S. Zrira, « Plan d'action de l'ENEV au Maroc: Cas des plantes médicinales et aromatiques », p. 22.
- [55] D. Thym, « MANUEL DES BONNES PRATIQUES DE COLLECTE », p. 12.
- [56] Lamiae BACHIRI, « Etude ethnobotanique de quelques lavandes marocaines spontanées », Meknes, Maroc, p. 1308-1318, 2015.
- [57] Maud Belmont, « Lavandula angustifolia M., Lavandula latifolia M., Lavandula x intermedia E. : études botaniques, chimiques et thérapeutiques ». univérisité joseph fourier faculté de pharmacie, 5 septembre 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00858644>

- [58] « Valorisation de la lavande du Maroc », *Transfert de Technologie en Agriculture Maroc*, 14 septembre 2018. <https://www.agrimaroc.net/2018/09/14/valorisation-de-la-lavande-du-maroc/> (consulté le 23 mai 2022).
- [59] « Romarin », *Les Arômes du Maroc*. <https://lesaromesdumaroc.com/project/romarin/> (consulté le 23 mai 2022).
- [60] « document.pdf ». Consulté le: 23 mai 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01550355/document>
- [61] M. NAGGAR et K. IHARCHINE, « Pour une valorisation durable des produits forestiers non ligneux Cas des faciès à romarin de l’Oriental du Maroc », Durban, South Africa, sept. 2015. Consulté le: 23 mai 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01208545>
- [62] Jamal Bellakhdar, « plantes médicinales au Maghreb et soin de base », *Précis de phytothérapie moderne*, février 2006. [En ligne]. Disponible sur: 294-295
- [63] « Rosmarinblätter. », *Pharmacopée française*, 1998.
- [64] Mr FADI Zakaria, « Le romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d’extraction Pour un effet thérapeutique optimal ». UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE-rabat, 2011.
- [65] « Eucalyptus - Définition et Explications », *Techno-Science.net*. <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Eucalyptus.html> (consulté le 23 mai 2022).
- [66] CHEBLI B., ACHOURI M., IDRISSE HASSANI L.M., and HMAMOUCHE M., « Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers », *J. Ethnopharmacol.*, p. 165-169, 2003.
- [67] Bouamer A., Bellaghit M, et MollayAmera., « Etude comparative entre l’huile essentielle de la Menthe vert et la Menthe poivrée de la région de ouargla », 2004.
- [68] « 21-Poster-formation-Burkina-Faso-Eucalyptus-camaldulensis-Dehnh-JdM.pdf ». Consulté le: 23 mai 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.jardinsdumonde.org/wp-content/uploads/2017/08/21-Poster-formation-Burkina-Faso-Eucalyptus-camaldulensis-Dehnh-JdM.pdf>
- [69] Remmal A, Tantaoui-Elaraki A, Bouchikhi T, Rhayour K, et Ettayebi M, « improve method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium.j,ess,oils res », p. 179-184, 1993.
- [70] Fechtal, M., Ismaili, R., and Zine el Abidine, A., « Effet de la transplantation sur la qualité et le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis* L) ». 2001.
- [71] Makhloufi A., « Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l’état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens*

(Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. *Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments* ». 2001.

[72] Laib I., *Nature & Technologie*, 7^e éd. 2012.

[73] N. Chahboun *et al.*, « Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de la *Lavandula Officinalis* vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques (Evaluation of the bacteriostatic activity of the essential oil of *Lavandula Officinalis* towards of the original strains resistant to antibiotics clinic) », p. 6, 2015.

[74] Akrouit A., « Essential oil study of some pastoral plants from Matmata », *south Tunisia*, in French, p. 289-292, 2004.

[75] Boutekedjiret C., Charchari S., Belabbes R. & Bessière J.M., « Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. », p. 39-42, 1992.

[76] A. Zaim, L. E. Ghadraoui, et A. Farah, « Effets des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus* (Lucas, 1849) », p. 7.

[77] K. Ouled Taarabt et A. Mohamed Najib, « Caractérisation des huiles essentielles de deux plantes médicinales et aromatiques du Maroc (*Laurus nobilis* et *Thymus satureioides*) : Essai de valorisation dans la conservation antimicrobienne d'une préparation pharmaceutique », 2019. doi: 10.13140/RG.2.2.17412.86403.

[78] S. Hmiri, R. Mohamed, Z. Habib, B. Satrani, M. Ghanmi, et M. Ajjouri, « Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de mentha pulegium et d'eucalyptus camaldulensis dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation », vol. 80, p. 824-836, janv. 2011.

[79] Joseph Casanova, Félix Tomi, « Spécificité de l'huile essentielle de romarin spontané (*Rosmarinus officinalis* L.) de Corse et de Sardaigne ». Université de Corse-CNRS, UMR SPE 6134, Equipe Chimie-Biomasse, Ajaccio, France.

[80] H. Boughendjioua, « Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda - Algérie. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula officinalis* grown in the region of Skikda - Algeria. », *Bull. Soc. R. Sci. Liege*, janv. 2017, doi: 10.25518/0037-9565.7224.

[81] Verma R.S., Laiq U., Rahman S., Chandan S. Chanotiya K., Rajesh K. Chauhan A., et Yadav.A & Singh A., « Essential oil composition of *Lavandula officinalis* cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. », *J. Serb. Chem. Soc.*, india, p. 343-348, 2009.

[82] L. Imène, « Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs », p. 9, 2012.

- [83] Mustapha El Ajjouri *et al.*, « Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre », *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, p. 345-351, 2008.
- [84] « 598.pdf ». Consulté le: 12 juin 2022. [En ligne]. Disponible sur: <https://revues.imist.ma/index.php/technolab/article/viewFile/724/598>
- [85] FARAH A., FECHTAL M. et CHAOUCH A., « Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc », *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, p. 163-169, 2002.
- [86] DONGMO P. M. J., NGOUNE L.T., DONGMO B. N., KUATE J., ZOLLO P. H. A., and MENUT C., « Antifungal potential of *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus camaldulensis* essential oils from Cameroon against », *Phaeoramularia angolensis*, *European Journal of Scientific Research*, p. 348-357, 2008.
- [87] A. Homrani Bakali, « INDUCTION DU CHEMOTYPE À DAVONE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARMOISE BLANCHE (*Artemisia herba alba*) PAR DOMESTICATION A ERRACHIDIA (SUD-EST DU MAROC) », *ScienceLib Editions Mersenne*, mai 2013.
- [88] Cristani M, Arrigo M, Mandalari G, Castelli F, Sarpietro MG, Micieli D, Venuti V, Bisignano G, Saija A, et Trombetta D, « Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. », *J Agric Food Chem*, p. 6300-6308, 2007.
- [89] H. J. D. Dorman & S. G. Deans., « Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. », *Journal of Essential Oil Research*, p. 308-316, 2000.
- [90] Kordali S, Cakir A, Mavi A, et al., « Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. », *J Agric Food Chem*, p. 1408-16, 2005.
- [91] Kordali S, Kotan R, Mavi A, et al., « Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dranunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *Artemisia dranunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. », p. 9452-8, 2005.
- [92] J. Zhang, S. Ma, S. Du, S. Chen, et H. Sun, « Antifungal activity of thymol and carvacrol against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* », *J Food Sci Technol*, vol. 56, n° 5, p. 2611-2620, mai 2019, doi: 10.1007/s13197-019-03747-0.
- [93] FENG W. and ZHENG X, « Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo », *Food control*, p. 1126-1130, 2007.
- [94] YOSHIMURA H., SAWAI Y., TAMOTSU S., and SAKAI A., « 1,8-cineole inhibits both proliferation and elongation of BY-2 cultured tobacco cells. » *J Chem Ecol.*, 1-9., 2010.

- [95] VILELA G. R., ALMEIDA G. S., REGITANO D'ARCE M. A. B., MORAES M. H.D., BRITO, J. O., DA SILVA M. F. G.F., SILVA S.C., PIEDADE S.M.S., CALORI-DOMINGUES M. A., et and GLORIA E. M., « Activity of essential oil and its major compound, 1,8- cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. », *J. Stored Prod. Res.*, p. 108-111, 2009.
- [96] OURAINI D., AGOUMI A., ISMAILI-ALAOUI M., ALAOUI K., CHERRAH Y., ALAOUI M.A. et et BELABBAS M.A, « Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques », *Phytothérapie*, p. 6-14, 2007.
- [97] B. Fatima, D. Hocème, et L. Abdelbaki, « ÉVALUATION IN VITRO DU POTENTIEL ANTIFONGIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUES D'UNE ASTERACEAE ARTEMISIA ABSINTHIUM L. », p. 10, 2018.
- [98] K.P. Svoboda & J.B. Hampson, « Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. », *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, ScotlandUK., KA6 5HW.*, 1999.