

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la Vie
Filière : Sciences Agronomiques
Département : Ecologie et génie de l'environnement
Spécialité/Option : Phytopharmacie et protection des végétaux

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antifongique de deux plantes aromatiques (*Myrtus communis* L. et *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise des végétaux

Présenté par :
- ESSALHI Fatiha Manal

Devant le jury composé de :

Mme Chahat N.: Présidente	(MCB)	(Université 8 Mai 1945 Guelma)
Mme Benbelkacem S.: Examinatrice	(MAA)	(Université 8 Mai 1945 Guelma)
Mme Alloui Nora : Encadreur	(MCA)	(Université 8 Mai 1945 Guelma)

Juin 2022

Dédicace

Après avoir rendu grâce au bon dieu le tout puissant qui nous a donné la force de résister et la volonté de travailler et la puissance pour accomplir ce modeste travail que je dédie :

A mon grand-père **Chadli** : vous avez toujours attendu ce jour-là mais le bon dieu a voulu autrement, je ne pourrais jamais vous oublier, j'espère que vous êtes fiers de moi là où vous êtes, puisse ton âme repose en paix. Que dieu, le tout puissant te couvre de sa sainte miséricorde et t'accueille dans son éternel paradis.

A la perle rare, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; celle qui a toujours su m'encourager et être à mes côtés, à ma chère **maman Deloulti** Je ne pourrais jamais vous remercier assez, je vous promets seulement d'être votre fierté et être à la hauteur de vos espérances.

A l'homme exceptionnel, mon idole éternelle, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui ne m'a jamais privé de conseils, et de l'aide, à celui qui m'a accompagné pas à pas durant tout mon cursus universitaire ; à toi mon cher **père**.

Maman et Papa que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi. Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte, ce travail représente le fruit de votre soutien. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mes chers frères **Moundhir** et **Rassim** , malgré votre jeune âge mais vous m'étiez de bonnes épaules, je vous dédie ce travail et j'espère vous voir réussir et atteindre vos objectifs.

A ma chère tante tata **Nanou** et ma grand-mère **Mama Gamra** merci pour votre soutien moral et de croire en moi.

A mon âme sœur **Rania** merci d'être toujours l'a mes coté de me supporter et de M'encourager.

À ma chérie la plus douce **Amira Baaziz** mes remerciements ne pourront jamais égaler ton grand cœur qui m'a apporté du soutien au moment où j'avais besoin d'aide. Merci encore.

A mes amis intime **Chhinez** et **takwa** , **Mohammed** , **Oussama** pour votre présence et de partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

A mes chères amis **Sara**, **Gigi**, **Amira** que j'ai connue grâce à l'université on a passé des bon moments plein de souvenirs, merci d'être toujours là pour moi et pour votre soutien et aide.

A mes chers amis de la Syrie que j'ai partagés avec eux la moitié de l'année universitaire merci de m'encourager de prêt et de loin merci pour votre soutien et votre connaissance d'où j'ai pu me faire une idée sur mon travail de fin d'études
Hiba, Hayat, Hayder, Maha, Mehammed, Ammar, Ali.

À toute ma famille paternelle **Essalhi** et maternelle **Bendjeddou**

A tous ceux qui sont chères de mon cœur ; et a tous ceux qui M'aiment et qui aurait voulu partager ma joie.

Remerciements

Je remercie **DIEU** le tout puissant de m'avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon encadreur, Dr. **ALLIOUI N.** pour ses conseils précieux ; son aide pratique et son soutien moral ainsi que ses encouragements sa patience, sa rigueur et son aide efficace durant la réalisation de ce travail. Elle m'a orienté vers le succès avec ses connaissances, ses idées pertinentes et ses encouragements tout au long de cette épreuve, comme elle a été présente à tout moment. Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans son aide je lui remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel.

Mes remerciements vont également aux membres de jury, Dr. **CHAHAT N.** et Dr. **BENBELKACEM S.** pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner ce modeste travail.

J'adresse mes profonds remerciements à tous mes professeurs tout au long de mon cursus universitaire pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles afin de nous encadrer et de bien nous préparer pour affronter la vie professionnelle.

Je remercie vivement Dr. **ZITOUNI A.** pour son aide dans le traitement statistique des résultats. Un grand merci s'adresse également à ma collègue **Khelil Meriem Yassamine**, pour son aide dans la manipulation du logiciel Minitab et le traitement des données.

Je remercie vivement madame **LOUIZA** responsable du laboratoire 08 pour sa disponibilité durant mon travail, son accueil, sa sympathie et ses idées constructives.

Merci aussi à tous mes collègues de la promotion phytopharmacie et protection des végétaux 2022, plus particulièrement, **Marwa Atti, Hadjer Meliani, Meryem Yasamine Khelil, Nouha Beliroun, Rayene Tirouche** et **Aridj Abdi**, pour leur aide et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.

Sommaire

	Page
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Introduction générale	01
Chapitre 01: Matériel et méthodes.....	08
1.1- Matériel végétal utilisé.....	08
1.1.1 Origines des espèces végétales utilisées.....	08
1.1.2 Situation géographique et caractéristiques climatiques des zones d'origine du matériel végétal.....	09
1.1.3 Traitement des échantillons	09
1.1.4 Extraction des huiles essentielles.....	10
1.1.5 Détermination du rendement en huiles essentielles.....	10
1.2- Détermination de l'activité antifongique.....	11
1.2.1- Matériel et réactifs utilisés.....	11
1.2.2- Matériel fongique.....	12
1.2.3- Origine de la souche utilisée.....	12
1.2.4- Culture et conservation de la souche.....	12
1.2.5- Préparation de la suspension sporale.....	12
1.2.6- Volumes testés des huiles essentielles et de l'extrait aqueux.....	13
1.2.7- Technique de confrontation.....	13
1.3- Traitement statistique des résultats.....	14
Chapitre 02 : Résultats et discussion.....	15
2.1- Rendement en huiles essentielles des plantes utilisées.....	15
2.2- Effet des huiles essentielles testées sur la croissance de <i>Botrytis cinerea</i> ...	15

2.2.1- Effet de l'huile essentielle de Myrte sur la croissance de <i>Botrytis cinerea</i>	18
2.2.2- Effet de l'huile essentielle de Yerba Mate sur la croissance de <i>Botrytis cinerea</i>	20
2.2.3- Effet de l'extrait aqueux de Yerba Mate sur la croissance de <i>Botrytis cinerea</i>	22
Conclusion	26
Résumés	
Références bibliographiques	

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Cycle de vie de <i>Botrytis cinerea</i> sur vigne [1]	02
Figure 02	Symptômes de pourriture grise causée par <i>Botrytis cinerea</i> sur fraise [2]	03
Figure 03	Caractéristiques botaniques du myrte (<i>Myrtus communis</i>) [3]	05
Figure 04	Caractéristiques botaniques de la yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)[4]	06
Figure 05	Yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) de l'Argentine commercialisée.	08
Figure 06	Feuilles séchées de la Yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) utilisée dans cette étude.	09
Figure 07	Photographie du montage de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	10
Figure 08	Rendements en huiles essentielles des plantes utilisées	15
Figure 09	Caractéristiques de l'huile essentielle de myrte (<i>M. communis</i> L.)	17
Figure 10	Caractéristiques de l'huile essentielle de la yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)	18
Figure 11	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>Botrytis cinerea</i> confronté à l'HE de myrte (<i>Myrtus communis</i>)	18
Figure 12	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>Botrytis cinerea</i> confronté à l'HE de Yerba Mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)	20
Figure 13	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de <i>Botrytis cinerea</i> confronté à l'extrait aqueux de Yerba Mate (<i>Ilex paraguriensis</i>)	22

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Position systématique de <i>Botrytis cinerea</i>	01
Tableau 02	Résultat de l'analyse de la variance pour l'huile essentielle de Myrte.	19
Tableau 03	Résultat du test de Dunnett pour l'huile essentielle de Myrte.	20
Tableau 04	Résultat de l'analyse de la variance pour l'huile essentielle de Yerba Mate.	21
Tableau 05	Résultat du test de Dunnett pour l'huile essentielle de Yerba Mate	21
Tableau 06	Résultat de l'analyse de la variance pour l'extrait de Yerba Mate.	24
Tableau 07	Résultat du test de Dunnett pour l'extrait de Yerba Mate	25

Introduction générale

Introduction générale

Les champignons du genre *Botrytis* (contenant actuellement ~ 35 espèces) sont capables d'infecter plus de 1400 différentes espèces de plantes et causent des pertes dans un large éventail de cultures d'importance économique. *B. cinerea*, est l'une des espèces les plus étudiées (Valero-Jiménez et al., 2019). Selon Walker (2013), *B. cinerea* est un champignon nécrotrophe, attaquant des tissus vivants mais également capable de saprophytisme. On lui dénombre environ 270 espèces de plantes dicotylédones sauvages (notamment des Rosaceae sauvages), mais également cultivées (Solanaceae, Cucurbitaceae, Vitaceae, Rosaceae, Fabaceae principalement), pour lesquelles il peut provoquer la perte totale de la récolte.

Selon Ajouz (2009), comme beaucoup d'autres champignons *B. cinerea*, connaît une double classification (Tab. 01) :

- **une forme parfaite** (téléomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetzell.
- **une forme imparfaite** (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers.

Aissat (2008), rapporte que c'est sous sa forme imparfaite, *Botrytis cinerea*, que ce champignon provoque la pourriture grise (Grey mould) sur plusieurs espèces végétales, la reproduction asexuée conduit à la formation de spores, très nombreuses, qui assure la dissémination et la contamination.

Tableau 01 : Position systématique de *Botrytis cinerea*
(Barnett et Hunter (1998) in Aissat, 2008)

	Forme imparfaite	Forme parfaite
Super-Classe	Septomycètes	Septomycètes
Classe	Adélomycètes	Ascomycètes
Sous-Classe	-	Discomycètes
Ordre	Moniliales	Pézizales
Famille	Moniliacées	Hélotiacées
Genre	<i>Botrytis</i>	<i>Botrytinia</i>
Espèce	<i>cinerea</i>	<i>fuckeliana</i>
Identification microscopique	Conidiophores et conidies	Apothécie

Le cycle de développement de *B. cinerea* est résumé dans la **figure 01**. Durant l'hiver, *B. cinerea* survit dans les débris des végétaux sous diverses formes comme les conidies, les mycéliums et les sclérotes qui ont la propriété de persister dans le sol plusieurs années. De plus, son mode saprophyte lui permet de se conserver facilement dans la matière organique. Comme *B. cinerea* est très polyphage, il peut attaquer des centaines de plantes cultivées et adventices qui pourront constituer par la suite une source d'inoculum. Lorsque les conditions redeviennent favorables, les sclérotes ou les mycéliums produisent beaucoup de conidies qui se propagent dans l'air et peuvent ainsi se déposer sur les feuilles et germer en présence d'eau. De plus, les sclérotes présents à proximité des feuilles en contact avec le sol peuvent également germer et former du mycélium qui les colonisera. Le tube germinatif des conidies et le mycélium des sclérotes vont par la suite pénétrer dans les tissus, dans le parenchyme foliaire en détruisant les parois des cellules et leur contenu. Le champignon pénètre alors soit directement par la cuticule soit par les blessures déjà présentes au moment de la colonisation. En quelques jours *B. cinerea* colonise rapidement tous les tissus (**Vásquez, 2017**).

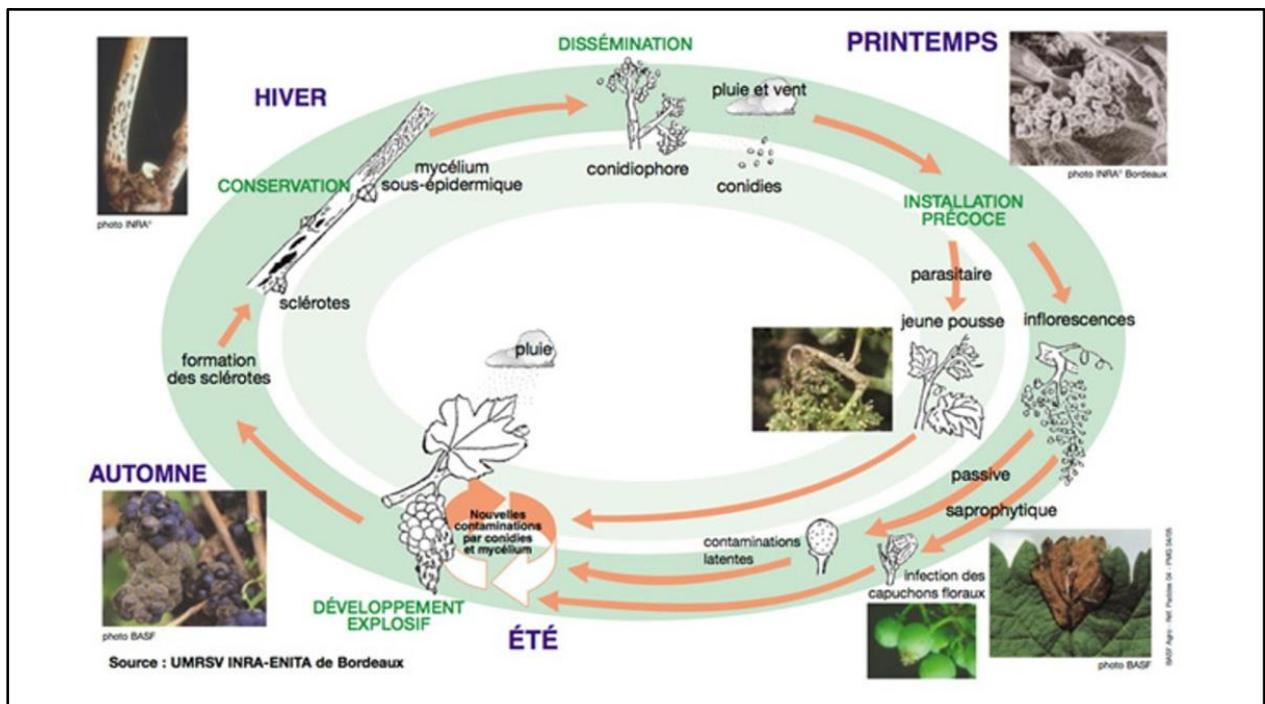


Figure 01 : cycle de vie de *Botrytis cinerea* sur vigne [1]

Vásquez (2017) ajoute que, les attaques de *B. cinerea* ne se limitent pas à un seul organe. En effet, il colonise principalement les feuilles sénescentes en contact avec le sol mais il peut également attaquer le reste de la partie aérienne, les inflorescences et les fruits. Sur les feuilles sénescentes, les symptômes apparaissent sous forme de pourriture humide marron à brune ; sur les jeunes feuilles, on observe des tâches humides et brunes qui se développent surtout en bordure du limbe ; et sur les inflorescences, *B. cinerea* provoque une pourriture qui contamine les graines récoltables chez certaines espèces. Quel que soit la partie de la plante attaquée par le pathogène, les tissus se couvrent d'un feutrage gris caractéristique, constitué des fructifications du champignon (**Fig. 02**).



Figure 02 : Symptômes de pourriture grise causée par *Botrytis cinerea* sur fraise [2]

La lutte contre *B. cinerea* repose plus particulièrement sur l'utilisation de fongicides. **Aissat (2008)** rapporte que les fongicides agissent par différents modes d'action (inhibition de la synthèse des stérols, action sur la respiration, contre la mitose, ...) et à des niveaux distincts ; on distingue trois types de fongicides :

- Fongicide systémique : pénètre dans la plante et agit après transport par la sève,
- Fongicide pénétrant : pénètre dans la plante mais n'est pas transporté,
- Fongicide de contact : reste à la surface de la plante et ne pénètre pas la cuticule.

Cependant, la lutte chimique ne constitue pas une solution adéquate pour combattre ce pathogène polyphage, car, d'une part, *B. cinerea* possède une capacité à s'adapter rapidement aux différents fongicides (**Ajouz, 2009**), et d'autre part, les effets néfastes des fongicides sur l'environnement et sur la santé publique ont été rapportés par plusieurs auteurs. Pour cela, la lutte contre les microorganismes est orientée vers l'utilisation des méthodes alternatives par utilisation

de molécules naturelles biodégradables et sans risque sanitaire pour l'utilisateur et le consommateur, ainsi que pour les auxiliaires biologiques et l'environnement.

En phytopathologie, la lutte biologique est un moyen de lutte qui consiste à combattre les ennemis des plantes par des êtres vivants (antagonistes), tels que les bactéries, les champignons, les virus, ... ou par l'utilisation de molécules naturelles d'origines biotiques, notamment les protéines virales, les lipopeptides bactériens, les extraits végétaux,...

Qessaoui et al. (2021) ont testé 76 isolats de *Pseudomonas sp.* isolés au niveau des racines de tomate, contre *B. cinerea*, et ils ont trouvé que tous les isolats testés inhibent la croissance de ce pathogène, notamment les isolats nommés Q6B, Q13B, Q7B, Q14Bet Q1B, qui causent une inhibition significative allant de 65 à 73 %. Les auteurs ont confirmé que tous les isolats testés produisent des métabolites à effets antifongiques.

Les extraits des plantes, et plus particulièrement, les huiles essentielles, constituent un moyen de lutte qui a attiré l'attention des chercheurs ces dernières années, et des résultats satisfaisants ont été obtenus dans la lutte contre *B. cinerea*, par les huiles essentielles de différentes espèces végétales : l'Origan, la lavande, le romarin, la menthe, le basilic, le thym,.... (**Soylu et al., 2010 ; Adebayo et al., 2013 ; Dogu et Zobar, 2014**).

Beaucoup d'autres espèces botaniques ont fait l'objet de travaux sur les activités biologiques et antimicrobiennes, notamment, l'arbre de thé, le clou de girofle, la rue, la menthe... Le myrte (*Myrtus communis* L.), un arbrisseau à feuilles persistantes vert foncé, à fleurs blanches (**Fig. 03**) et à baies noir bleuâtre (**Kanoun, 2011**), est une plante de la famille des Myrtaceae, de l'ordre des Myrtales, largement utilisée en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. La teneur en huiles essentielles et en composés phénoliques, des feuilles et des fruits justifie la large utilisation de la plante comme plante médicinale et aromatique (**Hennia, 2016 ; Usai, 2018**).

Selon **Al Hadeethi (2016)**, *Myrtus communis* L. est une espèce modeste ayant sa place dans la famille des Myrtacées qui contient entre 100 genres et 3000 espèces se développant dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées.



Figure 03 : Caractéristiques botaniques du myrte (*Myrtuscommunis*) [3]

Alyousef (2021) rapporte que, *Myrtus communis* L., est originaire du bassin méditerranéen et depuis l'Antiquité, différentes parties du myrte, en particulier ses feuilles et ses fruits, ont été utilisées dans la préparation des aliments et appliquées dans les médecines traditionnelles comme antiseptique général, désinfectant et thérapeutique pour de nombreux types de maladies infectieuses. De nombreuses études antérieures sur *Myrtus sp.* ont démontré que les différentes parties de cette plante ont des compositions chimiques différentes ainsi que des activités pharmacologiques, telles que, antifongique, antibactérienne, antivirale, anticancéreuse, anti-inflammatoire, analgésique, effets antioxydants, antidiabétiques et antimutagènes.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles du myrte, de différentes origines a été étudié par plusieurs auteurs, les travaux réalisés ont montré une activité importante à l'égard d'*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., *Fusarium oxysporum f. sp. ciceri*, *Botrytis cinerea*, et *Fusarium solani f.sp. pisi* (**Shybat et al., 2021**), de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, et *Escherichia coli* (**Mohamadi et al., 2021**).

En plus des espèces sauvages et spontanées, et parmi les espèces botaniques cultivées, les activités biologiques de la yerba maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) (**Fig. 04**), consommée comme boisson (le maté, para gametea, Mate tea, thé du Paraguay, thé des indiens, ...), dans beaucoup de pays ont été rapporté par plusieurs travaux (**Heck et De Mejia, 2007 ; Burris et al., 2012 ; Martin et al., 2013 ; Nowacki et al., 2021**).



Figure 04 : Caractéristiques botaniques de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*)[4]

Selon **Berté et al. (2011)**, le mot maté vient du *quechua* « *mati* », qui désigne une sorte de récipient traditionnellement utilisé pour prendre le maté (herbe sèche) et pour boire l'infusion avec l'eau chaude. Maté signifie « gourde ». Le maté, qui est consommé fortement au Brésil et ailleurs, provient généralement du sud du Brésil, et est connu en Argentine sous le nom de chimarrão. L'infusion de maté (chimarrão) est devenue une boisson traditionnelle et a un rôle social très fort. Les études phytochimiques sur cette plante ont indiqué la présence de divers composés, notamment les polyphénols, les tanins, l'acide chlorogénique, la caféine, la théobromine, le magnésium, le calcium, le fer, le sodium le manganèse, le potassium, et les vitamines (A, C, B1, B2 et B6).

Berté et al. (2011), rapportent que, la Yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) est un arbre qui appartient à la famille des Aquifoliacées, division Magnoliophyta (angiospermae) et classe Magnoliopsida (dicotyledonae), et l'ordre des Celastrales. Son habitat naturel comprend la zone régionale de quatre pays d'Amérique du Sud : Brazil, Argentine, Paraguay, et Uruguay. De ces régions, l'Argentine est le plus grand producteur, cultivant environ 152 000 hectares de maté par an dans le Nord-Est du pays. Cela équivaut à environ 280000 tonnes par an. Le Brésil et le Paraguay sont respectivement les 2ème et 3ème producteurs.

L'objectif visé par cette étude est de déterminer le potentiel de rendement en huiles essentielles d'une plante spontanée, le myrte (*Myrtus communis* L.) cultivée de la région de Guelma (Algérie), et une plante cultivée en Amérique du sud, le maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.), commercialisée comme préparation pour infusion, et de tester l'activité antifongique de ces deux plantes à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise chez beaucoup d'espèces végétales, et ce, à travers des tests réalisés sur les huiles essentielles des deux plantes et l'extrait aqueux de la herba mate, en vue de contribuer à l'augmentation de la liste des produits et des molécules naturelles pouvant être utilisées pour la protection des cultures, en méthodes alternatives à la lutte chimique.

Chapitre 01: Matériel et méthodes

Chapitre : 01 Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal utilisé

Notre travail a porté sur les parties aériennes (Feuilles) de deux espèces de plantes:

- Le myrte (*Myrtus communis* L.).
- La Yerba mate (*Ilex paraguariensis*).

1.1.1. Origines des espèces végétales utilisées

- *Myrtus communis* L. a été collecté le mois de février de la forêt de Maouna (Guelma) et fourni par Docteur Allioui N. (Encadreur), enseignante à la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, université du 08 Mai 1945 de Guelma.

- *Ilex paraguariensis* (**Fig. 05**), originaire de l'Argentine, a été acheté du marché. Les parties utilisées sont les feuilles séchées (**Fig. 06**).



Figure 05 : Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) de l'Argentine commercialisée (Photo personnelle)



Figure 06 : Feuilles séchées de la Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) utilisée dans cette étude.
(Photo personnelle)

1.1.2. Situation géographique et caractéristiques climatiques des zones d'origine du matériel végétal

- **Guelma**, origine du myrte, se situe dans le Nord–Est de l'Algérie, à une latitude de 36°27'43" Nord et une longitude de 7°25'33" Est. L'altitude par rapport au niveau de la mer est de 305 m. Elle se caractérise par un climat méditerranéen subhumide, et un sol de type argileux.

- **L'Argentine**, pays d'origine de la yerba mate, est un pays d'Amérique du Sud qui s'étend dans la partie sud du continent, des Andes à l'océan Atlantique. L'Argentine est délimitée au nord par la Bolivie et le Paraguay, à l'Est par le Brésil, l'Uruguay et l'océan Atlantique, et à l'Ouest par le Chili [5]. La Latitude de l'Argentine est de 38° 24' 57.949" S, et la longitude est de 63° 37' 0.019" W [6]. La yerba mate a besoin de températures tropicales ou subtropicales, avec une moyenne de 20° C, une humidité élevée et des précipitations abondantes, surtout pendant la saison de floraison [7].

1.1.3. Traitement des échantillons

Les plantes de *Myrtus communis* L. ont été nettoyées et séchées à l'abri de la lumière dans un endroit bien aéré et à la température ambiante pendant une période de 10 jours. Après séchage, les échantillons (feuilles), ont été conservés dans des sacs propres jusqu'au moment de l'utilisation.

Pour la yerba mate, *Ilex paraguariensis*, elle a été achetée conditionnée après séchage sous la marque déposée au pays d'origine (YERBA MATE Elaborada Con Palo marque Piporé, de poids net : 250 g).

1.1.4. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) ont été extraites par hydrodistillation en utilisant un appareillage de type *Clevenger* (**Fig. 07**) au niveau des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université 8 Mai 1945 de Guelma.



Figure 07: Photographie du montage de type *Clevenger* utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (Photo personnelle)

-Principe de l'hydro-distillation

Une quantité du matériel végétal de l'espèce utilisée (partie de la plante) contenant la substance volatile est sub-immersée dans l'eau distillée, dans un ballon en verre de 2 L, le tout est porté à ébullition pendant 03 heures de temps, puis les huiles condensées, obtenues en haut de l'appareil, sont récupérées dans des flacons en verre sombre bien fermés pour éviter l'évaporation et la volatilisation des huiles, et conservées au congélateur jusqu'à l'utilisation (**Laghchimi et al., 2014**).

1.1.5. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles des deux espèces végétales est déterminé comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage, à partir de la moyenne de 03 répétitions selon la formule ci-dessous décrite par **Bousbia (2011)**.

$$\text{RHE} = \text{MHE} / \text{MS} \cdot 100$$

Où :

RHE : rendement en huiles essentielles (extraits fixes en g /100 g de matière sèche).

MHE: quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

MS: quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

1.2. Détermination de l'activité antifongique

Nous tenons à signaler que ce test a porté sur l'effet antifongique des huiles essentielles des deux espèces végétales, le myrte (*Myrtus communis* L.) et la yerba mate (*Ilex paraguariensis*), ainsi que l'extrait aqueux de la yerba mate.

1.2.1. Matériel et réactifs utilisés

Pour la réalisation des différents tests nous avons utilisé le matériel suivant :

- Microscope optique
- Cellule de Malassez
- Bain-marie (Memmert)
- Balance de précision
- Hotte microbiologique
- Etuve, réglée à 24 °C.
- Autoclave
- Flacons de 250 mL
- Bec bunsen,
- Boîtes de Pétri de 60 mm et de 90 mm de diamètre,

- Pipettes Pasteur
- Anse de platine
- Papier Wattman
- Tubes coniques en plastique stérile,
- Micro pipette (2,5 µL, 10 µL et 100 µL)
- Alcool (éthanol 95°)
- Eau distillée
- Eau distillée stérilisée
- Milieu de culture : PDA
- Huiles essentielles des espèces végétales testées
- Extrait aqueux de la herba mate.
- Tween 80

1.2.2. Matériel fongique

L'étude a porté sur une seule espèce fongique *Botrytis cinerea*, un agent polyphage qui s'attaque à des centaines d'espèces végétales appartenant à différentes familles. Notre choix pour cette espèce a été fait en fonction de son importance en phytiatrie et les dégâts engendrés aux cultures (Walker, 2013).

1.2.3. Origine de la souche utilisée

La souche de *B. cinerea* utilisée dans cette étude a été isolée et purifiée par Dr. Alliou N., à partir des fruits de tomate montrant les symptômes de la pourriture grise.

1.2.4. Culture et conservation de la souche

La souche fongique de *B. cinerea* a été cultivée sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar), incubée pendant 07 jours à l'étuve à une température de 24° C, et a fait l'objet de l'inoculum pour la préparation de la suspension sporale.

1.2.5. Préparation de la suspension sporale

La suspension sporale a été préparée à partir d'une culture jeune, âgée de 7 jours, les spores ont été récoltées par grattage dans un tube conique en plastique, stérile de 15 mL, contenant une solution de l'eau distillée stérilisée et 2 gouttes de Tween 80. Après agitation au

vortex, la concentration a été ajustée à 10^4 spores /ml (Soylu *et al.*, 2010), par l'utilisation de la cellule de Malassez.

1.2.6. Volumes testés des huiles essentielles et de l'extrait aqueux

Quatre volumes des huiles essentielles ont été testés : 0, 10, 20 et 40 μ l pour les huiles essentielles des deux plantes, et six volumes ont été testés pour l'extrait aqueux de la yerba mate : 0, 10, 20, 40, 60 et 80 μ l, du fait que l'extrait est moins concentré que l'huile essentielle. Le volume 0 μ l constitue le témoin négatif, pour lequel, les boites sont traitées avec de l'eau distillée stérilisée, sans l'ajout d'huile ni de l'extrait aqueux.

1.2.7. Technique de confrontation

La confrontation Souche fongique-Huile, a été réalisée dans des boites de Pétri de 90 mm de diamètre, par la technique de confrontation directe, par diffusion à travers des disques de papier Wattman. Elle consiste à une diffusion des huiles dans le milieu de culture inoculé par le champignon étudié à travers des disques de papier wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boites. Dans chaque boite de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant le milieu de culture PDA, une quantité de suspension sporale, préparée le jour même, est étalée de manière uniforme sur le milieu. Après séchage de quelques minutes, un disque de papier Wattman de 6 mm de diamètre est placé au centre de la boite à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis imbibé par les différents volumes testés de l'huile essentielle à l'aide d'une micro pipette. Les boites sont ensuite incubées à une température de 24 °C pendant 5 jours.

Pour le test de l'extrait aqueux de la yerba mate (Souche fongique-Extrait aqueux), il a été réalisé par la méthode des puits, creusés dans le milieu PDA préalablement inoculé par la souche fongique, à l'aide d'une pipette pasteur (base de la pipette), puis on y introduit les différents volumes de l'extrait aqueux à tester. Le témoin négatif consiste à déposer 10 μ l d'eau distillée stérilisée dans le puit.

Pour tous les tests réalisés 3 répétitions ont été effectuées, et la moyenne des 3 est retenue. La lecture des résultats a été faite après 5 jours d'incubation à 24 °C, par examen et mesure du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la souche fongique au voisinage des disques chargés d'huile essentielle, ou des puits chargés de l'extrait aqueux de la yerba mate.

1.3. Traitement statistique des résultats

Les moyennes et les écartypes ont été calculés par EXCEL Version 2010. Une analyse de la variance a été effectuée par les résultats obtenus pour déterminer les variations entre les différents volumes d'huile et d'extrait testés, et le test de Dunnett a été mené pour déduire l'importance des variations entre le témoin et les différents traitements. Ces tests ont été réalisés en utilisant le logiciel MINITAB version 2018.

Chapitre 02: Résultats et discussion

Chapitre 02 : Résultats et discussion

Dans ce chapitre nous présentons les résultats de cette étude et leur discussion. Il est divisé en deux parties essentielles, la première concerne l'extraction des huiles essentielles de *Myrtus communis* et *Ilex paraguariensis* et la détermination du rendement, et à la deuxième partie sont présentés les résultats de l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* et ceux de l'huile essentielle d'*Ilex paraguariensis* et de son extrait aqueux sur le champignon *Botrytis cinerea*.

2.1. Rendement en huiles essentielles des plantes utilisées

Les résultats correspondants aux rendements en huiles essentielles des plantes utilisées, représentés dans la **figure 08**, montrent que le rendement le plus élevé a été obtenu pour le myrte (*Myrtus communis* L.), pour lequel nous avons enregistré une valeur de 0.65 %, par rapport au Yerba mate (*Ilex paraguariensis*), qui a donné un rendement plus faible (0.41 %).

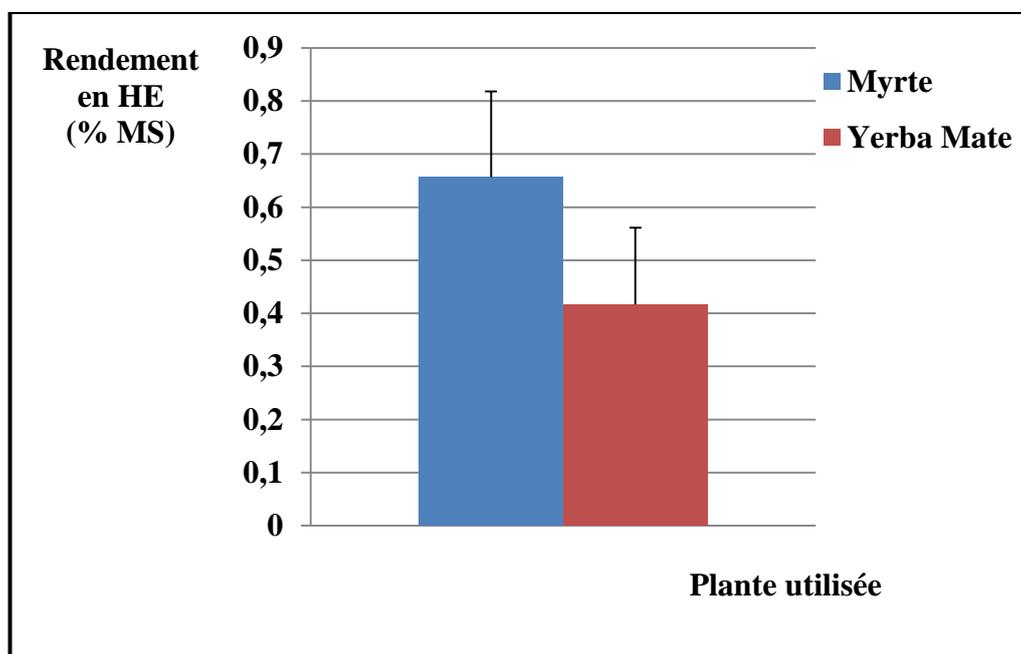


Figure 08 : Rendements en huiles essentielles des plantes utilisées

En comparant nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature, nous remarquons que :

- Les valeurs du rendement rapporté par **Hennia (2016)** pour le myrte récolté de la forêt de Bissa (Chlef, Algérie) pour la période de floraison -juin, juillet et août- sont de l'ordre de 0,55% à 1,15%, respectivement, ces résultats sont en accord avec nos résultats, par contre les rendements en HE des fruits enregistrés par le même auteur, sont de 0,39 % et 0,34 % pour les mois de novembre et décembre, respectivement.

- Le rendement moyen en huile essentielle des feuilles et fleurs de *Myrtus communis* trouvé dans cette étude est en accord également avec celui rapporté par **Bouzabata et al. (2014)** pour la même espèce ; les auteurs ont obtenu un rendement de 0,6 - 1 %, pour des échantillons collectés en mai et juin (stade floraison) au niveau de deux groupes d'endroits : MCI (forêt de Baïnem–Tipaza -, Mechroha-Tell Atlas, Guelma - et Saoula - Alger -) ; MCII (Hammam Righa–Aïn Defla-).

- **Brada et al. (2012)** ont obtenu des rendements en huile essentielle de la même espèce récoltée de Miliana (nord-ouest de l'Algérie), wilaya de Bejaïa, extraite des feuilles et fruits, de l'ordre de 0,3 % et 0,1% respectivement. **Berka-Zougali et al. (2010)** ont obtenu un rendement de 0.51 % pour des échantillons de feuilles de la forêt de Baïnem (Nord-ouest d'Alger), mi-novembre (pleine fructification). L'extraction des huiles a été faite par hydrodistillation pour tous les travaux cités ci-dessus.

Le rendement en huile essentielle enregistré pour *Ilex paraguariensis* est en moyenne $0,416 \pm 0,144\%$; qui est faible par rapport au rendement obtenu en HE de *Myrtus communis* L. ($0,656 \pm 0,161 \%$).

Cassel et al. (2008) ont analysé des échantillons de feuilles de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*), ils ont obtenu un rendement de 0.64%, qui est légèrement supérieur au rendement obtenu dans cette étude, pour la même espèce.

L'huile essentielle de *Myrtus communis* L. a une couleur jaune pâle (**Fig. 09**), et une odeur caractéristique et spécifique de l'espèce.



Figure 09 : Caractéristiques de l'huile essentielle de myrte (*M. communis* L.)
(Photo personnelle)

Mohamadi et al. (2021) signalent que l'huile essentielle de myrte (*M. communis*), obtenu par hydrodistillation est un produit jaune pâle à odeur agréable. Les populations étudiées ont un rendement moyen de $0,68 \pm 0,6$ %. Le plus haut rendement (2,52 %) est obtenu pour des échantillons d'Ibourassen (Bedjaia, Algérie), le rendement le plus faible (0,1%) est obtenu pour des échantillons de Boulimat (Ouest de Bedjaia, Algérie). Les auteurs ont interprété la différence de rendement en huile essentielle des échantillons, à la différence d'altitude des zones de collecte du matériel végétal. Le plus haut rendement a été enregistré pour les échantillons issus des zones à altitude élevée, alors que les rendements les plus faibles sont obtenus pour les échantillons provenant de basses altitudes.

L'huile essentielle de la yerba mate est sans couleur (très semblable à l'eau), et elle ne peut être distinguée de l'eau que par sa densité, qui lui permet de former une couche condensée sous l'effet du refroidissement, au niveau du réservoir de récupération des molécules volatiles (**Fig. 10**).



Figure 10 : Caractéristiques de l'huile essentielle de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*)
(Photo personnelle)

2.2. Effet des huiles essentielles testées sur la croissance de *Botrytis cinerea*

2.2.1. Effet de l'huile essentielle de Myrte sur la croissance de *Botrytis cinerea*

La **figure 11** présente les résultats du test in vitro de l'activité de l'huile essentielle de *Myrtus communis* sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis*) a enregistré une activité antifongique remarquable contre la souche de *Botrytis cinerea* utilisée. Des zones d'inhibition de la croissance, de diamètres importants ont été notées même à de faibles volumes d'HE (5 μ L) avec une moyenne de 8 mm. L'inhibition de la croissance du champignon au voisinage de l'huile essentielle de myrte augmente proportionnellement avec l'augmentation des volumes de l'HE. Une moyenne des diamètres de l'ordre de 10.66 mm a été notée au volume de 40 μ L d'HE.

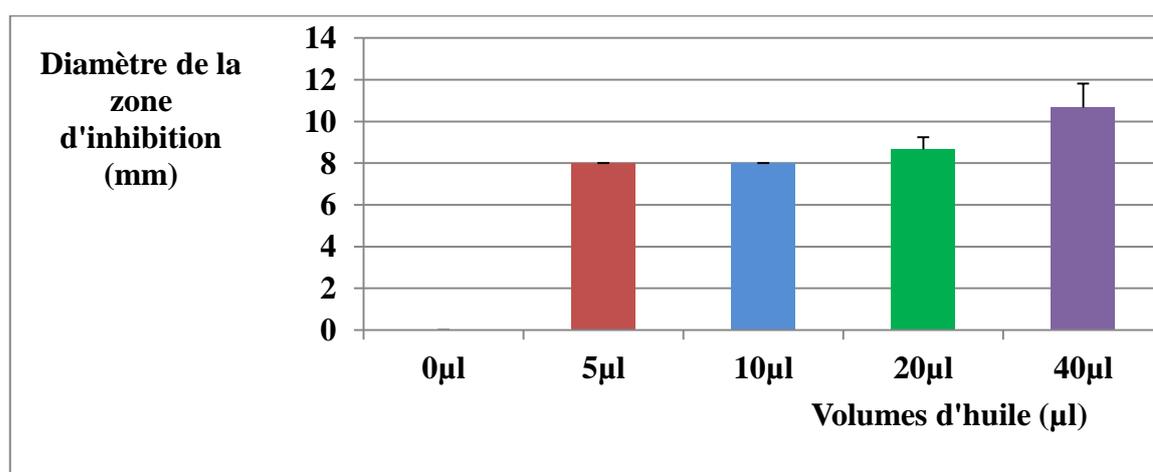


Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* confronté à l'HE de myrte (*Myrtus communis*)

Curini et al. (2003) ont testé l'effet de différentes concentrations de l'huile essentielle de myrte, sur la croissance de différents champignons phytopathogènes, ils ont noté un taux d'inhibition de 28.09 ± 2.47 pour *Rhizoctonia solani* avec une concentration de 800 ppm, et un taux d'inhibition de 60.00 ± 2.84 à 1600 ppm. Pour *Fusarium solani*, des taux d'inhibition de 4.50 ± 2.03 avec une concentration de 400 ppm, et des taux d'inhibition de 8.53 ± 1.79 avec une concentration de 800 ppm.

Mohamadi et al. (2021), ont testé l'activité antibactérienne des HE. du myrte, ils ont obtenu des diamètres des zones d'inhibition allant de 8 à 14 mm pour des échantillons de la région de Berrihane (W. El Taref, Algérie), et 40 mm pour la population de Laouinet (W. Tébessa) contre *Staphylococcus aureus*.

Shybat et al. (2021) ont testé l'activité antifongique *in vitro* de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. marocain sur *Botrytis cinerea* et d'autre espèces des champignons à différentes concentrations, il a obtenu un taux d'inhibition de l'ordre de 2.38 ± 1.3 % à la concentration de 0.010 mg/ml, et un taux d'inhibition de 15.25 ± 1 % à la concentration de 0.050 mg/ml.

L'analyse de la variance (**Tab. 02**) a montré des différences très hautement significatives entre les volumes utilisés ($p = 0.000$). Le test de Dunnett (**Tab.03**) a affiché des différences significatives ente le témoin et tous les volumes testés.

Tableau 02 : Résultat de l'analyse de la variance pour l'huile essentielle de Myrte.

Sources de variation	DL	SCE	CM	Valeur F	Valeur de p
Volumes	4	201,600	50,4000	151,20	0,000 ***
Erreur	10	3,333	0,3333		
Total	14	204,933			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

*** $p < 0.001$: différence très hautement significative.

Tableau 03 : Résultat du test de Dunnett pour l'huile essentielle de Myrte.

HE Myrte	0µl	5µl	10µl	20µl	40µl
Moyenne ± σ	0 ± 0	8 ± 0 *	8 ± 0 *	8,666 ± 0,577 *	10,666±1,154 *

HE : Huile Essentielle

µl : microlitres

* : différences significatives ($\alpha = 0.05$).

σ : écartype

2.2.2. Effet de l'huile essentielle de Yerba Mate sur la croissance de *Botrytis cinerea*

La **figure 12** affiche les résultats du test *in vitro* de l'activité de l'huile essentielle d'*Ilex paraguariensis* sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de cette espèce végétale a donné une activité plus ou moins satisfaisante contre la souche de *Botrytis cinerea* utilisée. Des zones d'inhibition de la croissance du champignon ont été notées même aux volumes faibles (5µl) d'HE. Une moyenne de l'ordre de 09.333 ± 0.577 mm a été notée au volume 40 µl.

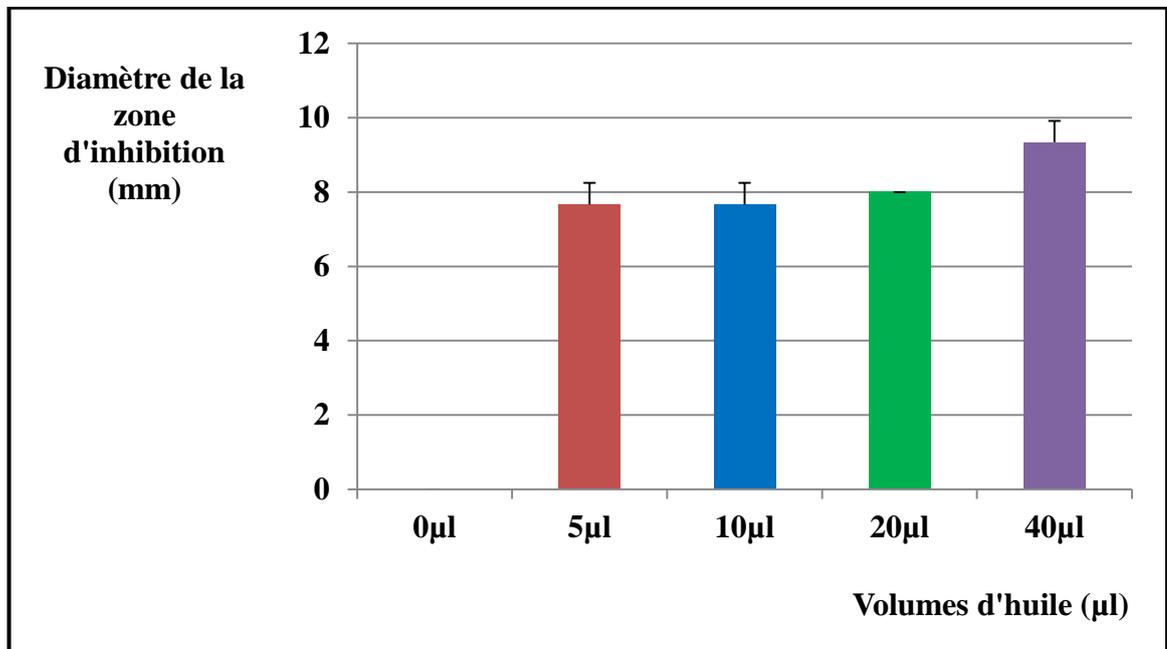


Figure 12: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* confronté à l'HE de Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*)

Burris et al. (2011) et Burris et al. (2012), signalent que la yerba mate est particulièrement riche en différents composés notamment, les polyphénols, les xanthines, les saponines, et les minéraux, qui lui attribuent son activité pharmacologique. Cependant, l'utilisation de la yerba mate dans la protection des cultures contre les attaques microbiennes est moins abordée et peu de travaux ont été signalés dans la littérature ; beaucoup de composés isolés de cette espèce ont montré une bonne activité contre un large spectre de bactéries (gram⁺ et gram⁻).

L'analyse de la variance (**Tab. 04**) a montré des différences très hautement significatives entre les volumes utilisés ($p = 0.000$). Le test de Dunnett (**Tab. 05**) a affiché des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés.

Tableau 04 : Résultat de l'analyse de la variance pour l'huile essentielle de Yerba Mate.

Sources de variation	DL	SCE	CM	Valeur F	Valeur de p
Volumes	4	165,733	41,4333	207,17	0,000 ***
Erreur	10	2,000	0,2000		
Total	14	167,733			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

*** $p < 0.001$: différence très hautement significative.

Tableau 05: Résultat du test de Dunnett pour l'huile essentielle de Yerba Mate

HE Yerba Mate	0 μ l	5 μ l	10 μ l	20 μ l	40 μ l
Moyenne $\pm \sigma$	0 \pm 00	7,666 \pm 0,577 *	7,666 \pm 0,577 *	8 \pm 0 *	9,333 \pm 0,577 *

HE : Huile Essentielle

* : différences significatives ($\alpha = 0.05$).

μ l : microlitres

σ : écartype

2.2.3. Effet de l'extrait aqueux de Yerba Mate sur la croissance de *Botrytis cinerea*

L'objectif de ce test est d'évaluer l'effet de l'extrait aqueux de cette espèce végétale et comparer les résultats obtenus à ceux obtenus par l'huile essentielle, en vue de valoriser au maximum cette plante, du fait que le rendement en huile essentielle est faible.

En comparant les résultats obtenus relatifs à l'effet antifongique de l'extrait aqueux (**Fig. 13**), avec ceux obtenus pour l'huile essentielle de cette plante (**Fig. 12**), nous remarquons que l'extrait aqueux a donné des résultats très satisfaisants et a inhibé la croissance du champignon au voisinage des puits contenant l'extrait aqueux.

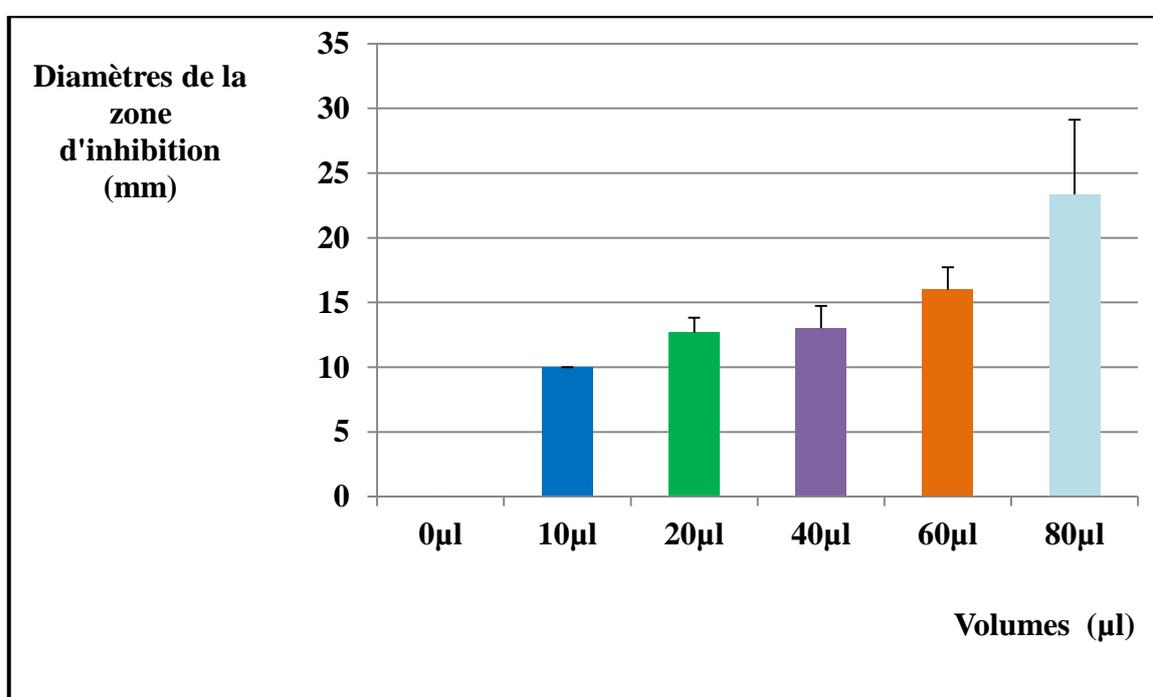


Figure 13: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* confronté à l'extrait aqueux de Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*)

L'examen des résultats obtenus révèle que les diamètres des zones d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* confronté à l'extrait aqueux sont plus importants que ceux obtenus pour la confrontation avec l'huile essentielle de la même plante (*Ilex paraguariensis*). Au volume 40 µl, nous avons enregistré une moyenne de $13 \pm 1,732$ mm pour l'extrait aqueux contre $9,333 \pm 0,577$ mm pour l'huile essentielle.

Les diamètres des zones d'inhibition sont plus importants pour des volumes élevés de l'extrait aqueux ($23,333 \pm 5.773$ mm à 80 μ l).

L'efficacité de l'extrait aqueux de la yerba mate à l'égard de *Botrytis cinerea* en comparaison avec l'huile essentielle de la même plante, peut être probablement dû à la présence de molécules bioactives dans l'extrait aqueux, qui sont moins concentrées ou absentes dans les huiles essentielles.

Fernandes et al. (2017) signalent que les extraits, provenant des fruits *d'Ilex paraguariensis* sont riches en caféine et en acide palmitique, et contiennent également de théobromine, des phytols, du squalène, de la vitamine E, du sitosterol et du stigmasterol.

Heck et De Mejia (2007) révèlent que les extraits de la yerba mate contiennent des polyphénols, notamment, l'acide Feruloylquinique, l'acide Caffeique, la Caffeine, l'acide Caffeoylshikimic, l'acide chlorogénique, l'acide quinique, la théobromine, ... En moyenne, la quantité des polyphénols extraits des feuilles de la yerba mate est de 92 mgEquivalents d'acide chlorogénique par gramme de matière sèche. En plus des polyphénols, ils contiennent aussi des xanthines (alcaloïdes de la classe des purines), tels que, la theophylline (1,3-dimethylxanthine), la théobromine (3,7-dimethylxanthine) et la caféine (1,3,7-trimethylxanthine). Comme ils contiennent des saponines.

Kaltbach et al. (2021) signalent que les infusions de la yerba mate contiennent beaucoup de composés volatiles qui n'existent pas dans les huiles essentielles de la même plante, les huiles essentielles contiennent : Benzaldehyde ; 5-Hepten-2-one <6-methyl-5>, Heptadienal <(2E,4Z)->, Heptadienal <(2E,4E)->, Cymene <p->, Limonene, Eucalyptol, Ocimene <(E)- β ->, 2-octenal <(E)->. En plus de ces composés, l'infusion contient : Hexanal, Oxime-metoxy-phenyl, Pinene < α ->, Camphene, Pinene < β ->, Myrcene < β ->, Pentyl furan <2->, Octanal, Terpinene < γ ->.

Kasmi et al. (2017) ont testé les extraits de quelques plantes aromatiques (*Lavandula officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* et *Melissa officinalis* contre *Botrytis cinerea* et ils ont démontré que les extraits de *Lavandula officinalis*, *Thymus vulgaris* et *Cymbopogon*

citratus sont très efficaces contre ce champignon, alors que les extraits de *Melissa officinalis* n'ont aucun effet sur ce pathogène.

Martin et al. (2013) ont testé l'activité des extraits méthanoliques et éthanoliques de l'*Ilex paraguariensis* sur 4 espèces de bactérie : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* et *Escherichia coli*, et ils ont trouvé que cette espèce a une activité antimicrobienne contre toutes les espèces de bactéries testées, à l'exception d'*E. coli* avec une zone d'inhibition minimale de moyenne 10.00 ± 0.00 mm, contre les bactéries *L. monocytogenes* et *S. Enteritidis* (extrait méthanolique) et une inhibition maximale avec un diamètre moyen de 23.67 ± 0.57 mm contre la bactérie *S. aureus* (extrait éthanolique).

Plusieurs auteurs révèlent que les composés phénoliques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux agents antimicrobiens (**Clériver et al., 1996**).

L'analyse de la variance (**Tab. 06**) a montré des différences très hautement significatives entre les volumes utilisés de l'extrait aqueux, et le test de Dunnett (**Tab. 07**) a révélé des différences significatives entre le témoin et tous les volumes testés de l'extrait aqueux de la yerba mate.

Tableau 06: Résultat de l'analyse de la variance pour l'extrait de Yerba Mate.

Sources de variation	DL	SCE	CM	Valeur F	Valeur de p
Volumes	5	877,17	175,433	25,88	0,000 ***
Erreur	12	81,33	6,778		
Total	17	958,50			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

*** $p < 0.001$: différence très hautement significative.

Tableau 07 : Résultat du test de Dunnett pour l'extrait de Yerba Mate

Extrait de Yerba Mate	0 μ l	10 μ l	20 μ l	40 μ l	60 μ l	80 μ l
Moyenne \pm σ	0 \pm 0	10 \pm 0 *	12,666 \pm 1,154 *	13 \pm 1,732 *	16 \pm 1,732 *	23,333 \pm 5.773 *

HE : Huile Essentielle

* : différences significatives ($\alpha = 0.05$). μ l : microlitres σ : écartype

Conclusion

Conclusion

Ce travail a porté sur l'activité antifongique des huiles essentielles et de la solution aqueuse de la partie aérienne (feuilles et sommités fleuries) de deux espèces végétales, contre *Botrytis cinerea* ; l'une des plantes utilisées est largement répandue en Algérie, le myrte (*Myrtus communis* L.) et la deuxième connue par ses propriétés pharmacologiques, originaire de l'Amérique du sud et utilisée comme infusion dans beaucoup de pays, notamment les pays arabes, il s'agit de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*).

L'extraction des huiles essentielles est faite par hydrodistillation, par l'utilisation du dispositif *Clevenger*, et les rendements obtenus pour *Myrtus communis* sont de l'ordre de $0,656 \pm 0,161\%$ et qui sont plus élevées que ceux de la yerba mate ($0,416 \pm 0,144\%$). Ces résultats sont plus ou moins similaires à ceux rapportés dans la littérature.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des deux huiles essentielles (huile de myrte et huile de yerba mate) contre le champignon polyphage *Botrytis cinerea*, réalisée par la méthode de confrontation directe, par diffusion des huiles à travers des disques de papier Wattman, et de la solution aqueuse de yerba mate, par la méthode des puits, ont montré que tous les traitements (huiles essentielles et solution aqueuse) ont enregistré une activité antifongique satisfaisante contre l'espèce fongique testée :

-L'huile essentielle de myrte (*Myrtus communis*) a montré une activité antifongique très importante et plus élevée par rapport à l'huile de yerba mate (*Ilex paraguariensis*), contre la souche testée de *B. cinerea*,

-La solution aqueuse de l'extrait de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) a montré une activité antifongique plus élevée par rapport aux deux huiles essentielles.

Ce travail, par son originalité, constitue une base de données préliminaire, sur l'utilisation des molécules bioactives de la yerba mate dans le domaine de la phytopharmacie. Des études complémentaires sont utiles pour identifier les molécules à effet antimicrobien des deux plantes étudiées, et tester leur pouvoir antifongique contre d'autres microorganismes phytopathogènes, afin de les utiliser comme moyen de lutte alternative, qui pourra remplacer les pesticides chimiques.

Résumés

Résumé

Botrytis cinerea est le champignon parasite qui cause la pourriture grise chez beaucoup d'espèces végétales. Ce pathogène, très destructif et à propagation rapide, se caractérise par de grandes potentialités de résistance aux traitements fongicides utilisés. L'objectif visé par cette étude est de tester l'activité fongicide de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. et de l'huile essentielle, ainsi que l'extrait aqueux d'*Ilex paraguariensis*. L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation, et l'activité antifongique a été déterminée par la méthode de confrontation directe par diffusion à travers des disques de papier wattman. Les résultats obtenus ont montré que le myrte (*Myrtus communis*) a donné un rendement en huile essentielle plus élevé que celui de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Les différents traitements (HE et extrait aqueux) ont donné des résultats satisfaisants contre *B. cinerea*. Le meilleur résultat est noté pour l'extrait aqueux de la yerba mate.

Mots clés : *Botrytis cinerea*, *Ilex paraguariensis*, *Myrtus communis*, Huile essentielle, extrait aqueux, activité antifongique.

Abstract

Botrytis cinerea is the parasitic fungus that causes grey mould in many plant species. This highly destructive and rapidly spreading pathogen is characterized by potential for resistance to the fungicide treatments used. The objective of this study is to test the fungicidal activity of *Myrtus communis* L. essential oil and essential oil, as well as the aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. Extraction of essential oils is carried out by hydrodistillation, and the antifungal activity has been determined by the direct confrontation through diffusion of wattman paper discs. The results obtained showed that myrtle (*Myrtus communis* L.) gave a higher yield of essential oil than yerba mate (*Ilex paraguariensis*). The various treatments (EO and extract) have given satisfactory results against *B. cinerea*. The best result is noted for the aqueous extract of the yerba mate.

Key words: *Botrytis cinerea*, *Ilex paraguariensis*, *Myrtus communis*, Essential oil, aqueous extract, antifungal activity.

ملخص

يتميز فطر *Botrytis cinerea* المسبب للعفن الرمادي للعديد من الأنواع النباتية بعدوانية شديدة و يسبب خسائر كبيرة للمحاصيل ، كما انه يتميز بقدرات كبيرة تمكنه من مقاومة المبيدات الفطرية المستخدمة لمكافحته. تهدف هذه الدراسة الى اختبار مدى نجاعة الزيوت الأساسية لـ *Myrtus communis* و *Ilex paraguariensis* ، وكذلك مستخلص *Ilex paraguariensis* كمبيدات فطرية. تم استخلاص الزيوت الاساسية عن طريق التقطير المائي ، وتم اختبار النشاط المضاد للفطريات بطريقة المواجهة المباشرة بالانتشار من خلال أقراص واتمان الورقية. بينت النتائج التي تم الحصول عليها أن نبات الريحان *Myrtus communis* يعطي عائداً أعلى من الزيت الاساسي مقارنة بنبات المتة *Ilex paraguariensis* . كما اعطى اختبار المعاملات المختلفة من الزيوت الاساسية و المستخلص نتائج مرضية ضد *Botrytis cinerea* و سجلت افضل نتيجة للمستخلص المائي لـ *Ilex paraguariensis* .

الكلمات المفتاحية :

Botrytis cinerea ، *Myrtus communis* ، *Ilex paraguariensis* ، الزيت الاساسي ، المستخلص ، اختبار التضاد للفطريات.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Adebayo O., Dang T., Bélanger A. et Khanizadeh S. (2013). Antifungal studies of selected essential oils and a commercial formulation against *Botrytis cinerea*. *Journal of Food research Vol. 2, No. 1* : 217-227.
- Aissat K. (2008). Etat sanitaire de la culture de la tomate sous serre et étude épidémiologique de *Botrytis cinerea* (Agent de la pourriture grise). Thèse de doctorat en microbiologie. Université Ferhat Abbas–Setif : 104.
- Ajouz S. (2009). Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. Thèse de doctorat en pathologie végétale. Université d'avignon et des pays de vaucluse : 212p.
- AL-Hadeethi M.A. (2016). Anatomical and Palynological Study of *Myrtus communis L.* *Diyala journal for pure sciences*. Baghdad University: 16p.
- Alyousef A., (2021). Antifungal Activity and Mechanism of Action of Different Parts of *Myrtus communis* Growing in Saudi Arabia against *Candida* Spp. Research Article. Department of clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences. King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia :10.

B

- Berka-Zoughali B.,Hassani A.,Besombes C. et Alf K. (2010). Extraction of essential oil from algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *Journal of chromatography A,1217* : 6134-6142.
- Berté K., Rucker N., Hoffmann-Ribani R. (2011). Yerba maté *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. *Phytothérapie*: 6p.
- Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de Doctorat en sciences alimentaires. Université d'Avignon : 176p.
- Bouzabata A., Cabral C., José Gonçalves M., Cruz M.T., Bighelli A., Cavaleiro C. et al. (2014). *Myrtus communis L.* as source of a bioactive and safe essential oil. *Food and Chemical Toxicology*. doi: 10.1016/j.fct.2014.11.009.
- Brada M., Tabti N., Boutoumi H., Wathelet J.P. et Lognay G. (2012). Composition of the essential oil of leaves and berries of Algerian myrtle (*Myrtus communis L.*). *Journal of Essential Oil Research*, 24:1: 1-3. DOI: 10.1080/10412905.2012.645299.

-**Burris K.P., Davidson P.M., Stewart C.N. and Harte F.M. (2011).** Antimicrobial Activity of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Aqueous Extracts against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science* Vol. 76, Nr. 6 : 456-462.

- **Burris K.P., Federico M., Harte P., Davidson M. C., Neal Stewart Jr., Svetlana Z. (2012).** Composition And Bioactive Properties of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): A REVIEW. *Chilean journal of agricultural research* 72(2) April-June : 262-374.

C

- **Cassel E., Rubem M. F., Vargasa et Gerti W. B. (2008).** Supercritical Extraction of Essential Oil from *Ilex paraguariensis* Leaves. *Natural Product Communications* Vol. 3 No. 3 : 373 – 378.

-**Clérivet A., Alami I., Breton F., Garcia D., Sanier C. (1996)** : Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta hot. Gallica*. N° 143 : 531-538.

-**Curini M., Bianchi A., Epifano F., Bruni R., Torta L., Zambonelli A. (2003).** Composition And In Vitro Antifungal Activity Of Essential Oils Of *Erigeron canadensis* And *Myrtus communis* From France. *Chemistry of Natural Compounds*. N°39 Vol. 2: 191-194.

D

-**Doğu D.M. et Zobar D. (2014).** Effects of Some Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea* and *Tetranychus urticae* on Grapevine. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue: 1, 2* : 1268-1273.

F

-**Fernandes C.E.F., Scapinello J., Bohn A., Boligon A.A., Athyde M.L., Magro J.D. et al. (2017).** Phytochemical profile, antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from Yerva-mate (*Ilex paraguariensis*) fruit using compressed propane and supercritical CO₂. *J Food Sci. Technol.* N° 54: 98-104.

H

-**Heck C.I. & De Mejia E.G. (2022).** Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*). A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *Journal Of Food Science*. Vol. 72, N° 9 :138-151.

- **Hennia A. (2016)**. Extraction et étude de l'activité biologique des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.)". Thèse de doctorat en biochimie végétale. Université abdelhamid ibn badis de Mostaganem. *Séparation* 8,131 :162p.

K

-**Kaltbach P., Gillmeister M., Kabrodt K. et Schellenberg I. (2021)**. Screening of Volatile Compounds in Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea—Brazilian Chimarrão Type—By HS-SPDE and Hydrodistillation Coupled to GC-MS. *Separations*. 103390 : 16p.

-**Kanoun K., (2011)**. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister En Biologie. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen : 4.

-**Kasmi M., Aourach M., El Boukari M., Barrijal S., Essalmani H. (2017)**. Efficacité des extraits aqueux des plantes aromatiques et médicinales contre la pourriture grise de la tomate au Maroc. *Académie des sciences. N° 340*: 386–393.

L

-**Laghchimi A., Znini M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A., & Costa J. (2014)**. Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *J. Mater. Environ. Sci*, 5(6) : 1770-1780.

M

-**Martin J.G.P., Porto E., De Alencar S.M., Da Glória E.M., Corrêa C.B. et Ribeiro Cabral I.S. (2013)**. Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) against food pathogens, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. *Rev. Argent. Microbiol.* 45(2) : 93-98.

-**Mohamadi Y., Lograda T., Ramdani M., Figueredo G., Chalard P. (2021)**: Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis* essential oils from Algeria, *Biodiversitas* Volume 22, N° 2, February : 933-946 .

N

-**Nowacki L.C., Stechman-Neto J., Schiefer E.M., Santos A.F., Stinghen A.E.M., Sasaki G.L. et al . (2021)**. *Ilex paraguariensis* extract as an alternative to pain medications. *Acta Pharm.* 71: 383–398.

Q

-Qessaoui R. , Lahmyed H., Ajerrar A., Furze J.N., Paulitz T., Alouani M., Chebli et al. (2021). Rhizospheric solutions: *Pseudomonas* isolates counter *Botrytis cinerea* on tomato. *AFRIMED AJ –Al Awamia (131)*: 50-72

S

-Shybat Z.L., Fatouma M.L.A., Jalludin M., Ainane A., Ainane T., (2021). Antifungal Activity Of The Essential Oil Of Moroccan Myrtle (*Myrtus Communis L.*). Application In Agriculture. *Pharmacolgy on line. Archives - Vol. 2*: 485-491.

-Soylu E., kurt S., et soylu S. (2010). *In vitro and in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International journal of food Microbiology*. 143: 183- 289.

U

-Usai M., Marchetti M., Nicola C. et Mulas M. (2018). Chemical Composition of Myrtle (*Myrtus communis L.*) Berries Essential Oils as Observed in a Collection of Genotypes. *Molecules* 23. 2502; doi:10.3390/molecules23102502 : 20p.

V

-Valero-Jiménez C.A., Veloso J., Staats M., Kan J.A.L. (2019). Comparative genomics of plant pathogenic *Botrytis* species with distinct host specificity. *Bmc Genomics*. 20:203 : 12 p.

-Vásquez H., (2017). Stimuler les défenses des plantes contre *Botrytis cinerea* par des rayonnements UV-C. Thèse de Doctorat en sciences agricoles, Université d'Avignon : 144p.

W

-Walker A.S. (2013). Diversité et adaptation aux fongicides des populations de *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise, Thèse de doctorat en Biologie, Université Paris-sud : 212p.

Sites Web.

[1]https://www.agro.basf.fr/fr/cultures/vigne/maladies_de_la_vigne/botrytis_de_la_vigne/biologie_botrytis_de_la_vigne/ (consulté le 20/06/2022).

[2] <https://www.agrimaroc.ma/botrytis-pourriture-grise-fraise/> (consulté le 22/06/2022)

[3] <https://www.monaconatureencyclopedia.com/myrtus-communis/?lang=fr> (consulté le 20/06/2022)

[4] http://nature.jardin.free.fr/1103/nmauric_ilex_paraguariensis.html (consulté le 20/06/2022)

[5] <http://www.americas-fr.com/es/geografia/argentina.html> (consulté le 15/06/2022)

[6] <https://www.gps-longitude-latitude.net/coordonnees-gps-de-argentine> (consulté le 15/06/2022)

[7] <https://hannibalfrugal.com/cultiver-yerba-mate/#:~:text=La%20yerba%20mate%20a%20besoin,vous%20pouvez%20utiliser%20une%20serie>. (consulté le 20/06/2022).