

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministre 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 Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Agronomiques  
Spécialité / Option : Phytopharmacie et protection des végétaux  
Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

### Etude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles pour le contrôle des agents phytopathogènes

Présenté par : Boudjehem Weil Heythem

Devant le jury composé de :

Président :	Mme Benbelkacem S.	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Examineur :	Mme Chahat N.	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Encadreur :	Mme Allioui N.	(MCB)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Co-Encadreur:	Mr. Ksouri S .	(MCA)	Université 8 Mai 1945 Guelma

Juin 2019

## **REMERCIEMENTS**

*Avant tout je remercie Dieu "Allah" tout puissant qui m'a donné la force, le courage, la volonté, la puissance et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.*

*Je tiens à remercier vivement mon encadreur Madame **Alliouí N.**, pour la proposition du thème et le suivi de ce travail ; pour ses conseils durant la période de la réalisation de ce travail ; je suis très honoré par son accompagnement et son aide ; je lui exprime ma gratitude pour tous ses efforts, tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également à mon Co-encadreur Dr. **Ksourí S.**, pour son aide très précieuse et sa présence à tout les moments durant toute la période de la réalisation de ce travail ; pour sa gentillesse et son soutien, qu'il trouve dans ces pages l'expression de mon grand respect et ma gratitude.*

*Nos remerciements s'adressent à Madame **Benbelkacem S.**, pour avoir accepté de présider le jury et juger ce travail ; et à Madame **Chahat N.**, qui nous fait l'honneur de faire partie du jury, et pour avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Nos vifs remerciements vont également à Dr. **Zitouní A.** pour son aide dans le traitement statistique des résultats, et à Madame **Belebjaoui A./B.**, pour la fourniture de l'inoculum de la septoriose.*

*Nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires de notre faculté, dans lesquels ce travail a été réalisé pour la sympathie et l'aide qu'ils nous ont accordé durant toute la période de la réalisation du travail, et particulièrement Mesdames Louíza, Radía, Leíla, ainsi que les mesdames Houría et Asma.*

*Nous remercions aussi Dr. Bourouhou M., pour son aide et son accueil chaleureux au niveau de la station régionale de la protection des végétaux (SRPV. El Taref).*

*Un énorme remerciement pour tous les membres de ma famille qui m'ont aidés et encouragés durant toute la période de réalisation de ce travail.*

*Un grand merci pour mes amis Tebaní Saíf eddîne, et Adjabi Reda, pour leurs encouragements.*

*Enfin, une profonde reconnaissance à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et qui ne sont pas cités ici, nous les remercions tous très chaleureusement.*

<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 01 : Revue bibliographique sur les plantes médicinales et aromatiques</b> .....	<b>3</b>
1.1. Définitions .....	3
1.1.1. Les plantes médicinales.....	3
1.1.2. Les plantes aromatiques .....	3
1.2. Intérêts des plantes médicinales et aromatiques .....	3
1.2.1. Historique .....	3
1.3. Quelques espèces botaniques de plantes médicinales et aromatiques.....	4
1.3.1. La famille des Lamiacée .....	4
1.3.1.1. Description morphologique .....	4
1.3.1.2. Systématique des Lamiacées .....	5
1.3.1.3. Répartition des Lamiacées dans le monde .....	5
1.4. Quelques espèces de l'Algérie.....	5
1.4.1. La lavande .....	6
1.4.1.1. Habitat et origine .....	6
1.4.1.2. Description botanique .....	6
1.4.1.3. Systématique botanique .....	6
1.4.1.4. Utilisation.....	7
1.4.2. L'origan.....	7
1.4.2.1. Origine et définition.....	7
1.4.2.2. Description.....	7
1.4.2.3. Systématique botanique .....	8
1.4.2.4. Utilisation.....	8
1.4.3. L'Eucalyptus .....	8
1.4.3.1. Origine et définition.....	8
1.4.3.2. Description.....	9
1.4.3.3. Systématique botanique .....	9
1.4.3.4. Utilisation.....	9

---

1.4.4. Autres familles .....	10
<b>Chapitre 02 : Les huiles essentielles et leurs intérêts en pharmacopée .....</b>	<b>11</b>
2.1. Définition.....	11
2.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes .....	12
2.3. Rôle physiologique des huiles essentielles.....	13
2.4. Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles.....	13
2.4.1. Les composés terpéniques .....	14
2.4.1.1. Les monoterpènes .....	14
2.4.1.2. Les sesquiterpènes .....	14
2.4.2. Les composés aromatiques (les phénylpropanes) .....	14
2.4.2.1. Les phénols .....	15
2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	15
2.6. Actions biologiques et effets thérapeutiques des huiles essentielles.....	16
2.6.1. Effets antibactérien.....	16
2.6.2. Effets antifongiques.....	16
2.6.3. Effets viricide .....	16
2.7. Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	17
2.7.1. Toxicité des huiles essentielles .....	17
2.8. Les utilisations des huiles essentielles.....	17
2.8.1. En pharmacie.....	17
2.8.2. En parfumerie.....	17
2.8.3. En agronomie et en industrie alimentaire.....	18
2.9. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles .....	18
2.9.1. Les facteurs intrinsèques .....	18
2.9.1.1. Le cycle végétatif .....	19
2.9.1.2. L'organe producteur .....	19
2.9.1.3. L'origine botanique.....	19
2.9.1.4. Le chémotype génétique .....	19
2.9.2. Facteurs extrinsèques .....	20
2.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	20
2.10.1. Hydrodistillation.....	21
2.10.2. Entraînement à la vapeur d'eau .....	21

---

2.10.3.	Expression à froid.....	21
2.10.4.	L'extraction assistée par microondes .....	21
2.10.5.	Extraction par CO2 supercritique .....	21
2.11.	Conservation des huiles essentielles .....	22
<b>Chapitre : 03 Matériel et méthodes.....</b>		<b>23</b>
3.1.	Objectif de l'étude .....	23
3.2.	Matériel végétal et fongique utilisés.....	23
3.2.1.	Matériel végétal .....	23
3.2.1.1.	Origines des espèces végétales utilisées : .....	23
3.2.1.2.	Situation géographique et caractéristiques pédoclimatiques des zones de collecte du matériel végétal .....	26
3.2.1.3.	Traitement des échantillons .....	26
3.2.1.4.	Extraction des huiles essentielles .....	26
3.2.2.	Matériel fongique.....	28
3.2.2.1.	Présentation des espèces fongique utilisées .....	28
3.2.2.2.	Origine des souches .....	28
3.2.2.3.	Culture et conservation des souches .....	29
3.3.	Composition des huiles essentielles des plantes utilisées.....	30
3.4.	Détermination du rendement en huiles essentielles.....	30
3.5.	Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles testées .....	30
3.5.1.	Matériel utilisé.....	31
3.5.2.	Préparation des suspensions sporales des différentes souches fongiques .....	32
3.5.3.	Concentrations des huiles essentielles testées .....	32
3.5.4.	Technique de confrontation.....	32
3.5.5.	Tests relatifs aux témoins positifs .....	33
3.6.	Etude de la nature de la fongitoxicité des huiles essentielles testées à l'égard des souches fongiques étudiées.....	34
3.7.	Analyse statistique des résultats .....	36
<b>Chapitre 04 : Résultats et discussion .....</b>		<b>35</b>
4.1.	Rendement en huiles essentielles des plantes utilisées.....	35
4.2.	Composition chimique des huiles essentielles testées .....	37
4.3.	Activités antifongiques des huiles testées .....	39
4.3.1.	Effets des huiles testées sur <i>Zymoseptoria tritici</i> .....	39

4.3.2. Effets des huiles testées sur <i>Fusarium roseum</i> .....	42
4.3.3. Effets des huiles testées sur <i>Botrytis cinerea</i> .....	46
<b>Conclusion</b> .....	52
<b>Résumés</b>	
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

## Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
01	Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles	14
02	Photographie de l'aspect botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	23
03	Photographie de l'aspect botanique de l' <i>Origanum floribundum</i>	23
04	Photographie de l'aspect botanique de <i>Lavandula stoechas</i>	24
05	Photographie du montage de type Cleverger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	26
06	Photographie de <i>Zymoseptoria tritici</i> , contenant les conidiospores libérées après une nuit en chambre humide	28
07	Microplaque utilisée pour la technique de micro-dilutions	34
08	Rendements en huiles essentielles des plantes utilisées	35
09	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Zymoseptoria tritici</i> avec l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	39
10	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Zymoseptoria tritici</i> avec l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	40
11	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Zymoseptoria tritici</i> avec les huiles essentielles testées, comparées au fongicide	41
12	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Fusarium roseum</i> avec l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	42
13	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Fusarium roseum</i> avec l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	44
14	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Fusarium roseum</i> avec les huiles essentielles testées comparées au fongicide	45
15	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> (Diamètre interne)	46
16	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec l'huile essentielle <i>Lavandula stoechas</i> (Diamètre externe)	47
17	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i> (Diamètre interne)	49
18	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i> (Diamètre externe)	49
19	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec les huiles essentielles testées comparées au fongicide (Diamètre interne)	51

## Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	Origine des espèces végétales utilisées	24
02	Caractéristiques des fongicides utilisés pour les tests de témoins positifs	32
03	Concentrations en matière (s) active (s) utilisées pour le test de témoin positif dans les boîtes de Pétri.	33
04	Les concentrations d'huiles essentielles utilisées pour déterminer la nature de la fongitoxité des huiles essentielles à l'égard des souches fongiques étudiées.	34
05	Rendement en huiles essentielles des espèces végétales utilisées	35
06	Résultats de l'analyse de variance pour <i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Lavandula stoechas</i> .	40
07	Résultats de l'analyse de variance pour <i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Origanum floribundum</i> .	41
08	CMI et CMF de <i>Zymoseptoria tritici</i> confronté aux différentes huiles testées.	42
09	Résultats de l'Analyse de variance pour <i>Fusarium roseum</i> / <i>Lavandula stoechas</i> .	43
10	Résultats de l'analyse de variance pour <i>Fusarium roseum</i> / <i>Origanum floribundum</i> .	44
11	CMI et CMF de <i>Fusarium roseum</i> confronté aux différentes huiles testées.	46
12	Résultats de l'Analyse de variance pour <i>Botrytis cinerea</i> / <i>Lavandula stoechas</i> (Diamètre externe).	48
13	Résultats de l'analyse de la variance pour <i>Botrytis cinerea</i> / <i>Lavandula stoechas</i> (Diamètre interne).	48
14	Résultats de l'Analyse de la variance pour <i>Botrytis cinerea</i> / <i>Origanum floribundum</i> (Diamètre interne).	50
15	Résultats de l'Analyse de la variance pour <i>Botrytis cinerea</i> / <i>Origanum floribundum</i> (Diamètre externe).	50
16	CMI et CMF de <i>Botrytis cinerea</i> confronté aux différentes huiles testées.	52

# *Introduction*

## Introduction

Chaque année 31 à 42 % des pertes mondiales des cultures sont causées par les maladies et les ravageurs, et 14.1 % sont causées par les maladies seules (**Agrios, 2005**).

. La lutte contre ces ravageurs repose principalement sur l'utilisation des pesticides.

Cependant, l'application excessive des pesticides de synthèse a été avertie suite à leur toxicité et à la pollution résiduelle qui en découle. De même, beaucoup de microorganismes pathogènes peuvent développer des résistances à ces fongicides. Pour cela, la lutte contre les microorganismes est orientée vers l'utilisation des méthodes biologiques.

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale: méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeables (15%) d'espèces endémiques. L'investigation de ces espèces représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances (**Belmekki, 2009**).

Les huiles essentielles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques (**Hellal, 2011**). Beaucoup de recherches ont été effectuées sur l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, notamment contre différentes espèces fongiques (**Bouaine, 2017**). Les huiles essentielles de *citrus*: d'orange douce, de citron, de mandarine et, pamplemousse ont montré une activité antifongique contre *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium chrysogenum* et *P. verrucosum*. L'activité des huiles volatiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui les constituent, comme les terpénoïdes (**Hellal, 2011**).

Les axes de recherches portant sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sont très diversifiés, mais peu de travaux sont réalisés sur l'activité antifongique des huiles essentielles sur les champignons phytopathogènes, qui occasionnent chaque année des pertes considérables dans le rendement des cultures.

Deux objectifs principaux sont visés par cette étude :

- Etudier le potentiel de rendement en huiles essentielles de quelques espèces végétales spontanées, très répandues dans le nord de l'Afrique, plus particulièrement dans l'Est Algérien et réputées par leur large usage en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies infectieuses, notamment, la Lavande (*Lavandula stoechas*), l'origan (*Origanum floribundum*), et l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*).
- Tester l'effet antifongique de ces plantes sur des champignons phytopathogènes à intérêt économique remarquable, notamment, l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (*Zymoseptoria tritici*), l'agent causal de la fusariose du blé (*Fusarium roseum*), et l'agent causal de la pourriture grise chez beaucoup d'espèces végétales (*Botrytis cinerea*).

Le présent document comporte deux parties :

- La première partie est consacrée pour la synthèse bibliographique qui est composée de deux chapitres principaux : Le premier chapitre donne des informations générales sur les plantes médicinales, et une description botanique et géographiques de quelques espèces phytothérapeutiques existantes dans la région de Guelma, et un deuxième chapitre qui donne une revue bibliographique sur les huiles essentielles et leurs activités.
- Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude ainsi que les résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, ce manuscrit se terminera par une conclusion générale, qui récapitule les résultats obtenus et présente des perspectives pour des études complémentaires dans cet axe de recherche.

# *Chapitre 01*

*Revue bibliographique sur  
les plantes médicinales et aromatiques*

## **Partie 01 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **1.1. Définitions**

#### **1.1.1. Les plantes médicinales**

Selon la pharmacopée française (1965), une plante médicinale est une plante, qui, utilisée entière ou sous forme de parties, possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. **(Bouaine, 2017)**

Une plante médicinale peut être également définie comme étant, une plante dont les organes (feuilles, écorce ou fruits) possèdent des vertus curatives lorsqu'elle est utilisée à un certain dosage et d'une manière précise **(Chabrier, Jean-Yves, 2010)**.

#### **1.1.2. Les plantes aromatiques**

Les plantes aromatiques sont définies comme étant des espèces ayant une odeur agréable et non toxique. Elles appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales, et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particulier aux aliments **(Bouaine, 2017)**.

### **1.2. Intérêts des plantes médicinales et aromatiques**

#### **1.2.1. Historique**

Depuis les temps les plus reculés l'Homme a cherché un moyen d'assouvir sa faim. Il a trouvé chez les végétaux des aliments nourrissants, mais aussi des remèdes à ses maux et il a appris à ses dépens à discerner les plantes toxiques. Ces connaissances, transmises d'abord oralement, l'ont ensuite été dans les écrits et il subsiste des traces de l'emploi des plantes comme médicaments par les anciens dans les plus vieilles civilisations **(Chabrier, Jean Yves, 2010)**.

Autour du Moyen-âge, c'est essentiellement le monde arabe médiéval qui a, le premier, tenté de codifier la pharmacognosie d'une manière scientifique entre les VIII<sup>e</sup> et XIII<sup>e</sup> siècles. C'est en particulier l'œuvre de Al - Bîrunî (973-1048), qui compte parmi les plus grands des savants arabes. Astronome, mathématicien, physicien, géographe, historien, linguiste, philosophe, poète, il fut aussi cet immense pharmacologiste dont la renommée lui valut le titre de "père de la Pharmacopée arabe dans le monde médiéval". Sa Pharmacopée

témoigne d'une méthode de classification des végétaux, qui sera retrouvée par Linné sept siècles plus tard. Par ailleurs, en plus d'exposer des propriétés médicinales, il a eu le mérite d'indiquer le nom arabe de chaque plante mais également l'équivalent en grec et en latin, ce qui facilite l'identification botanique. Son remarquable travail fut imité, au XIIIe, par un autre pharmacologiste arabe Ibn - Beitar (1197-1248) qui décrivit quelques 1500 drogues, en grande partie végétales (**Chabrier, 2010**).

Ces dernières années, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique. En effet, les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits (**Lanseur, 2017**).

Les plantes médicinales et aromatiques ont connus ces dernières années un important regain d'intérêt et ceci devant le recul des produits chimiques (**Touahri, et al., 2014**).

### **1.3. Quelques espèces botaniques de plantes médicinales et aromatiques**

Le continent africain est doté de la plus riche biodiversité dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et à des fins thérapeutiques (**Lanseur, 2017**).

#### **1.3.1. La famille des Lamiacée**

Beaucoup de Lamiacées sont utilisées en pharmacie et en parfumerie pour leurs essences : Hysope, Lavande, Menthe, Mélisse (appelée aussi Citronnelle), Sauge officinale... De grandes quantités d'aromates appartiennent à cette famille : Thym, Romarin, Origan, Marjolaine, Sarriette, Basilic... (**Dupont, 2015**).

Le genre *Origanum* est l'une des plantes économiquement importantes de cette famille; ainsi que le genre *Rosmarinus* qui est caractérisé par une vaste diversité morphologique et chimique (**Lanseur, 2017**).

##### **1.3.1.1. Description morphologique**

La famille des Lamiaceae (labiées) du Latin (*Labia* : lèvre), signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres, leur tige est carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portent des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs bisexuées, irrégulières, groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins

allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses, à calice tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développé, ordinairement caduque et à 2 lèvres. Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (**Khorsi, 2013**).

### 1.3.1.2. Systématique des Lamiacées

La systématique des Lamiacées selon Quezel et Santa, (1963) cité par (**Belmekki, 2009**) est comme suit :

<b>Règne</b>	: Végétal
<b>Embranchement</b>	: Phanérogames
<b>Sous-embranchement</b>	: Angiospermes
<b>Classe</b>	: Eudicotylédones
<b>Sous classe</b>	: Gamopétales
<b>Ordre</b>	: Lamiales
<b>Famille</b>	: Lamiaceae.

### 1.3.1.3. Répartition des Lamiacées dans le monde

Les Lamiacées comprennent 7200 espèces dont l'aire de dispersion est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes. Elles comprennent environ 260 genres et 7000 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (**Mechergui, 2010**). Elles sont rares, par contre, dans les régions arctiques et en haute montagne.

La famille des Lamiaceae est parmi les familles les plus importantes dans la flore Algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels. Les espèces de cette famille sont réputées actives contre une variété de micro-organismes grâce aux composés bioactifs qu'elles renferment (**Lanseur, 2017**).

## 1.4. Quelques espèces de l'Algérie

L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. Environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques (**Lanseur, 2017**). Parmi ces espèces nous citons :

### 1.4.1. La lavande

#### 1.4.1.1. Habitat et origine

Plante originaire des montagnes du bassin méditerranéen, aujourd'hui elle est cultivée à travers le monde, partout où elle peut trouver du soleil (Nedjai, Salma, *et al.*, 2017).

#### 1.4.1.2. Description botanique

La lavande est un sous-arbrisseau vivace, caractérisé par ses feuilles linéaires et persistantes portant des épis au bout de ses tiges, sa hauteur peut atteindre 1 mètre, ses fleurs sont bilabiées bleues pourpre à violettes, elles représentent les parties les plus aromatiques de la plante (Nedjai, Salma et Nedjai, 2017). Elle est communément appelée par la population locale «**khzama**».

#### 1.4.1.3. Systématique botanique

Selon Dupont et Guignard (2007) cité dans (Chemloul, 2014), la lavande appartient à l'embranchement des Spermaphytes, et suivant la systématique classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit :

<b>Règne</b>	: Plante
<b>Division</b>	: Magnoliophyta (Angiospermes)
<b>Classe</b>	: Magnoliopsida (=Dicotylédones)
<b>Sous- classe</b>	: Asteridées
<b>Ordre</b>	: Lamiales
<b>Famille</b>	: Lamiacées
<b>Genre</b>	: <i>Lavandula</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Lavandula stoechas</i>

#### 1.4.1.4. Utilisation

L'huile essentielle de lavande est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. La lavande est également employée en herboristerie, en aromathérapie et est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. En effet, celle-ci est utilisée pour soigner des plaies et brûlures superficielles et présente des effets sédatifs, antibactériens, antifongiques, antidépresseurs et anti-inflammatoires. Les propriétés médicinales et le parfum des huiles essentielles de lavande sont principalement attribués aux composés organiques volatils de la famille des terpènes (Yann, 2010). (Nedjai, Salma Nedjai Et Ibtissem, 2017) signale que, la lavande est utilisée contre plusieurs maladies, y compris, les spasmes, les insomnies, les maladies infectieuses, les affections des voies respiratoires (asthme, bronchite, tuberculose...).

#### 1.4.2. L'origan

##### 1.4.2.1. Origine et définition

Le nom de l'origan est dérivé des mots grecs *oros ganos* qui veulent dire «ornement des montagnes» ou «joie des montagnes». Une autre interprétation possible est «délice des montagnes». Issu d'Europe, l'origan s'est particulièrement bien exporté au Moyen-Orient. Connue et reconnue par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé et ses vertus médicinales (Bouziaine, *et al.*, 2016).

##### 1.4.2.2. Description

C'est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées. La plante atteint généralement une taille variant entre 30 et 80 Cm. Les tiges rouges, à section carrée, sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées. Les fleurs sont roses ou pourpres, et sont regroupées en petits panicules (Tayeb-Cherif, *et al.*, 2016).

D'après Quezel et Santa (1963) cités par (Lanseur, 2017), seulement trois espèces du genre *Origanum*, sont répertoriées au niveau du territoire Algérien à savoir : *Origanum majorana* L, *Origanum glandulosum* Desf. et *Origanum floribundum* Mundy.

#### 1.4.2.3. Systématique botanique

(Tayeb-Cherif et Menacer, 2016), rapporte que, la systématique de l'origan est comme suit :

<b>Règne</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	: <i>Tracheobionta</i>
<b>Division</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	: <i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	: <i>Asteridae</i>
<b>Ordre</b>	: <i>Labiées</i>
<b>Famille</b>	: <i>Labiatae</i>
<b>Genre</b>	: <i>Origanum</i>

#### 1.4.2.4. Utilisation

*Origanum glandulosum* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques (contre la coqueluche, la toux, la fièvre et la bronchite). En raison de la variabilité de la composition chimique, les plantes d'*Origanum* sont largement utilisées comme herbe culinaire, pour aromatiser les produits alimentaires et pour leurs propriétés pharmacologiques, y compris les activités antibactériennes, antioxydantes, antithrombines et antihyperglycémiques (Lanseur, 2017).

### 1.4.3. L'Eucalyptus

#### 1.4.3.1. Origine et définition

Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur, originaire d'Australie, notamment de la province de Tasmanie ; *Eucalyptus* fut rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen (Rabiai, 2014).

L'Eucalyptus est originaire de l'Australie, son introduction en Algérie date de 1863. Grâce à leur facilité d'adaptation, les espèces *E. globulus*, *E. camaldulensis* et *E. gomphocephala* sont les plus répandues dans la région méditerranéenne. Près de 600 espèces sont connues dans le monde. Certains eucalyptus s'hybrident facilement entre elles étant

donné la facilité avec laquelle les graines de pollen se transfèrent d'une espèce à une autre, ce qui complique encore plus leur identification (**Ghenaiet, et al., 2016**).

#### 1.4.3.2. Description

L'eucalyptus est un arbre de 30 à 35 mètres, au tronc droit, lisse, grisâtre, qui porte des rameaux dressés. Les jeunes feuilles sont bleuâtres, opposées et étroitement attachées sur la tige, les feuilles adultes sont d'un vert sombre, alternées et tombantes. Les fleurs sont visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles. Le calice a la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines mais sans pétales, ni sépales. Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines (**Ghenaiet et Aouidet, 2016**).

#### 1.4.3.3. Systématique botanique

(**Rabiai, 2014**) rapporte que la systématique des eucalyptus est comme suit :

<b>Règne</b>	: <i>Plantae</i>
<b>Division</b>	: <i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	: <i>Magnoliopsida-Dicotylédones</i>
<b>Sous-classe</b>	: <i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	: <i>Myrtales</i>
<b>Famille</b>	: <i>Myrtaceae</i>
<b>Genre</b>	: <i>Eucalyptus</i>

#### 1.4.3.4. Utilisation

Son action anti-malarique est vérifiée par la disparition de moustiques en Campanie (Italie), en Sicile, en Sardaigne et au lac Fezara en Algérie. Au XIXe siècle, l'eucalyptus est considéré comme, antalgique des céphalées, et antispasmodique. L'écorce était considérée antispasmodique et antipyrétique. Les feuilles d' *E. globulus* sont traditionnellement utilisées par voie orale et en usage local en cas de rhume et de nez bouché. Cette essence présente également des propriétés antirhumatisme, stimulante et tonifiante.

Elle est employée dans les affections des voies respiratoires telles que la tuberculose pulmonaire (**Bey-Ould-Si-Said, 2014**).

#### **1.4.4. Autres familles**

Outre que les Lamiacées, des genres répartis dans une cinquantaine de familles sont capables d'élaborer des substances, notamment des composants d'huiles essentielles ; parmi lesquels figurent, des Astéracées, des Rutacées, des Lauracées ou des Magnoliacées (**Belmekki, 2009**).

# *Chapitre 02*

Les huiles essentielles et leurs  
intérêts en pharmacopée

## Chapitre 02 : Les huiles essentielles et leurs intérêts en pharmacopée

### 2.1. Définition

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles, sont appelées aussi « essences ».

Une huile essentielle appelée est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexes issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (Nedjai, *et al.*, 2017).

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolés des plantes par hydro- distillation ou par expression mécanique (Tayeb-Cherif, *et al.*, 2016).

Une huile essentielle (H.E) peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur. Il s'agit d'un produit parfumé et volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique. Le terme « volatil » s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement. C'est pourquoi il est nécessaire de les conserver correctement afin qu'elles gardent intacts leurs principes actifs. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (Bouaine, 2017).

Selon la **Pharmacopée française (1965)**, les huiles essentielles sont des "Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation" (Boumaaza, *et al.*, 2013).

### 2.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les H.E n'existent quasiment, que dans les végétaux supérieurs. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire (Sanon *et al.*, 2002). Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graine (Bouaine, 2017).

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal. Il existe en fait quatre structures sécrétrices (Ghenaiet, *et al.*, 2016) :

- Les cellules sécrétrices : Chez les Lauracées et les Zingibéracées.
- Les poils glandulaires épidermiques : Chez les Lamiacées, Géraniacées, etc.
- Les poches sphériques schizogènes : Les glandes de type poche se rencontrent chez les familles des : Astéracées, Rosacées, Rutacées, Myrtacées, etc.
- Les canaux glandulaires lysigènes : Chez les Conifères, Umbellifères, etc.

### 2.3. Rôle physiologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent les H.Es en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **Bakkali (2008)**, les H.Es peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables (**Hellal, 2011**).

Les composés terpéniques possèdent un caractère toxique et répulsif vis-à-vis de nombreux insectes ravageurs de plantes, ainsi ils semblent jouer un rôle de défense important dans le règne végétal. Par exemple, les esters de monoterpènes pyrethroides qui se produisent dans les feuilles et les fleurs des espèces de *Chrysanthemum* montrent une activité insecticide très saisissante. Les huiles essentielles offrent aussi un caractère de toxicité pour la plante vis-à-vis des herbivores potentiels avant même que ces derniers fassent une morsure d'essai. Ces substances attirent les ennemis naturels des ravageurs, ce qui empêche la manifestation d'autres dégâts (**Menaceur, 2015**).

### 2.4. Composition chimique et biosynthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques. L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ses composés principaux (alcools, phénols, composés terpéniques...) et à leurs actions synergiques (**Mayer, 2012**).

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques tels que les monoterpènes et terpènes sesquiterpéniques ; et les composés aromatiques dérivés du

phénylpropane, beaucoup moins fréquents comme l'alcool cinnamique. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils comme les acides, alcools, aldéhydes, esters, etc). La biosynthèse des constituants de ces huiles essentielles emprunte deux voies utilisant comme intermédiaires soit l'acide mévalonique, soit l'acide shikimique respectivement pour les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Lanseur, 2017**). Les principales familles biochimiques des HE sont présentées ci-dessous :

#### **2.4.1. Les composés terpéniques**

Les terpénoïdes constituent un vaste groupe de métabolisme secondaire de structure diverse, important dans de nombreuses interactions biotiques (**Judd et al., 2002**). C'est le groupe le plus important. Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale  $(C_5H_8)_n$  (**Bouaine, 2017**).

##### **2.4.1.1. Les monoterpènes**

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est  $C_{10}H_{16}$  (**Rahal, 2004**). Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) et monoterpènes bicycliques (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols (**Lamamra, 2018**).

##### **2.4.1.2. Les sesquiterpènes**

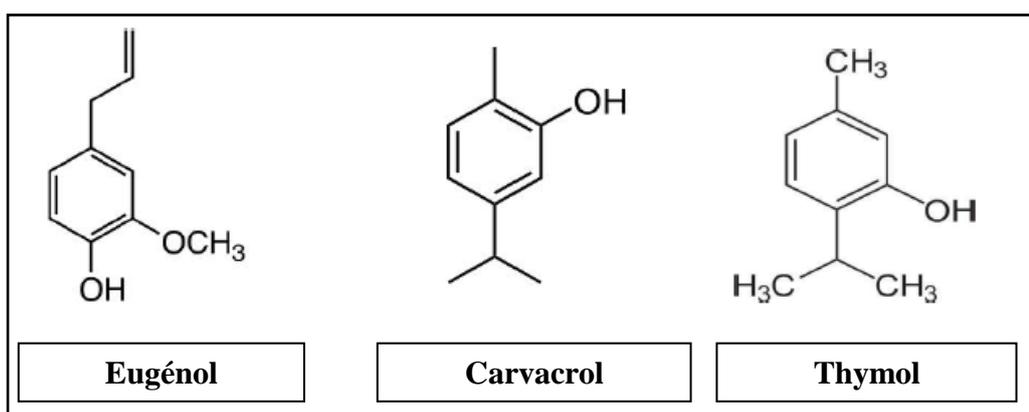
Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{15}H_{22}$  (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (**Bouaine, 2017**).

### 2.4.2. Les composés aromatiques (les phénylpropanes)

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, le carvacrol et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc. (Bouaine, 2017). Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane. Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle (Hellal, 2011).

#### 2.4.2.1. Les phénols

Ce sont des composés chimiques aromatiques avec une fonction hydroxyle. Les phénols sont les molécules aromatiques avec le plus grand coefficient antibactérien et le plus large spectre (Mayer, 2012). La figure 01 Indique la structure de trois substances importantes : L'eugénol, le carvacrol et le thymol.



**01** : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles(Mayer, 2012).

## **2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle à l'état liquide et à température ordinaire. Toutes les huiles essentielles sont volatiles et odorantes. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les huiles végétales, dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques (**El-Azrak, 2017**).

Les huiles essentielles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé (**Desmares et al., 2008**). Elles sont pour la plupart colorées : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de romarin. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (**Lanseur, 2017**).

## **2.6. Actions biologiques et effets thérapeutiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne ; elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Bouaine, 2017**).

### **2.6.1. Effets antibactérien**

Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique). Plusieurs travaux ont montré que les HE et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (**Bouaine, 2017**). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HES sur les bactéries, comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électrons et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Laib, 2012**).

### **2.6.2. Effets antifongiques**

Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont nombreux, (**Bouaine, 2017**). Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre les

champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Laib, 2012).

### **2.6.3. Effets viricide**

Belmekki (2009) rapporte que, les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales, l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès a été démontré, ainsi que leur impact sur le rétrovirus HIV.

## **2.7. Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles**

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HE ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganismes ciblés et leur éventuelle adaptation aux HE (Bey-Ould-Si-Said, 2014).

### **2.7.1. Toxicité des huiles essentielles**

La majorité des intoxications par les plantes connues est la cause d'un surdosage ; car leur accumulation dans l'organisme crée des affections dégénératives et même des effets secondaires plus banales (Chemloul, 2014).

(Menaceur, 2015) rapporte que les huiles essentielles, ont une composition chimique très variable, dont certains composants (le linalol, composant de l'huile essentielle de thym) ont un effet toxique sur les cellules cutanées des humains et ceci même à de faibles doses.

## **2.8. Les utilisations des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans les savons, les crèmes, les détergents, lessives et dans l'industrie agro-alimentaire. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues. Elles sont appréciées pour leurs propriétés odorantes et antiseptiques dans le domaine de la parfumerie, de la cosmétologie et de l'industrie alimentaire. Leur intérêt en médecine humaine et vétérinaire est aussi grandissant (Bey-Ould-Si-Said, 2014).

### **2.8.1. En pharmacie**

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique (**Nedjai et Nedjai, 2017**).

### **2.8.2. En parfumerie**

La parfumerie est le principal débouché des huiles essentielles. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont aussi consommateurs, mais le cout élevé des produits naturels conduit à privilégier parfois les produits synthétiques (**Boumaaza et Bourafa, 2013**).

### **2.8.3. En agronomie et en industrie alimentaire**

Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (**Ghenaiet et Aouidet, 2016**).

Les épices et leurs HE, sont utilisés depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, cannelle, d'origan, clou de girofle, et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogènese de plusieurs bactérie et champignons responsables d'infections alimentaires ceci est dû à la présence dans ces dernières, de composées ayant des propriétés antimicrobiennes et anti oxydantes (**Moderres, et al., 2018**).

Les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Menaceur, 2015**).

## **2.9. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles**

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'H.E : la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode utilisée pour l'extraction ; sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer les modifications chimiques (**Hellal, 2011**). Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes

d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories (**Laib, 2012**) :

### **2.9.1. Les facteurs intrinsèques**

Les facteurs intrinsèques sont liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée :

#### **2.9.1.1. Le cycle végétatif**

Pour une espèce donnée la proportion des différents éléments constitutifs de l'huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement (**Moderres et Aichouni, 2018**). L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants (**Bouziaine, et al., 2016**). Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes de *Lavandula* (**Chemloul, 2014**).

#### **2.9.1.2. L'organe producteur**

Tous les organes de mêmes espèces peuvent renfermer une huile essentielle, dont la composition peut varier selon sa localisation (**Moderres et Aichouni, 2018**). Le potentiel et la composition de l'huile essentielle dépend de l'organe. Par exemple les parties fleuries de la sauge, ont une huile essentielle plus riche en certains terpènes que les feuilles (**Bouziaine et Djebour, 2016**).

#### **2.9.1.3. L'origine botanique**

Toutes les plantes ne sont pas aromatiques et même quand elles le sont, les constituants sont variables tant dans leur nature que dans leur proportions (**Moderres et Aichouni, 2018**). La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique (**Bouaine, 2017**).

#### 2.9.1.4. Le chémotype génétique

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes de profils chimiques différents : polymorphisme chimique (**Bouziaine et Djebour, 2016**). Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle (**Moderres et Aichouni, 2018**).

#### 2.9.2. Facteurs extrinsèques

Ceux-ci ont trait aux facteurs environnementaux (température, nature du sol, ensoleillement ...) et aux pratiques culturales qui ont également une influence certaine. (**Moderres et Aichouni, 2018**).

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles (**Moderres et Aichouni, 2018**). Les mêmes auteurs rapportent que, la formation des principes actifs se fait spécialement pendant la période de croissance et durant les temps de métabolismes intensifs comme les périodes de floraison et de fructification. Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle.

La durée d'ensoleillement, représente une cause potentielle de variations de la composition chimique d'un plant aromatique donné (**Moderres et Aichouni, 2018**).

Les facteurs écologiques prépondérants sont le climat et le sol. Chez *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne. Les *Citrus* sp. ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée. Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (**Bouziaine et Djebour, 2016**).

La pluviométrie influe également sur les variations de la composition chimique d'une plante aromatique donné (**Moderres et Aichouni, 2018**).

En plus de tous les facteurs cités ci-dessus, le stockage des matières premières avant distillation peut influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. **Laib (2012)** rapporte que, des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur ont été notées, mais peu d'évolution de la composition.

## **2.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les H.Es, les tanins), le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Hellal, 2011**).

### **2.10.1. Hydrodistillation**

Selon Hajji et *al.*, (1985) cité dans (**Touahri, et al., 2014**) Cette méthode consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètre sur la qualité et le rendement, et la production .

### **2.10.2. Entraînement à la vapeur d'eau**

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (**Moderres et Aichouni, 2018**).

### **2.10.3. Expression à froid**

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (**Chemloul, 2014**).

### **2.10.4. L'extraction assistée par microondes**

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par microondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (**Bey-Ould-Si-Said, 2014**).

### **2.10.5. Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

Le CO<sub>2</sub> permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Moderres et Aichouni, 2018**).

### **2.11. Conservation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles doivent être conservées correctement pour préserver leur qualité. Avec le temps, elles s'oxydent, ce phénomène étant amplifié par la chaleur, l'air, la lumière...etc., Il faut les conserver dans un endroit frais, à l'abri de la lumière, dans du verre brun ou de l'aluminium vitrifié. Une essence bien distillée se conserve trois ans au moins. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles, à noter des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. Les Huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître (**Moderres et Aichouni, 2018**).

# *Chapitre 03*

*Matériel et méthodes*

## Chapitre : 03 Matériel et méthodes

### 3.1. Objectif de l'étude

Cette étude vise à tester l'effet antimicrobien des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques, en vue d'une éventuelle utilisation dans le domaine de la lutte biologique.

### 3.2. Matériel végétal et fongique utilisés

#### 3.2.1. Matériel végétal

Notre travail a porté sur les parties aériennes (Feuilles et sommités fleuries) de trois espèces de plantes aromatiques et médicinales :

- La lavande (*Lavandula stoechas*).
- L'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*).
- L'origan (*origanum floribundum*).

Ces trois espèces de plantes ont été choisies pour les raisons suivantes :

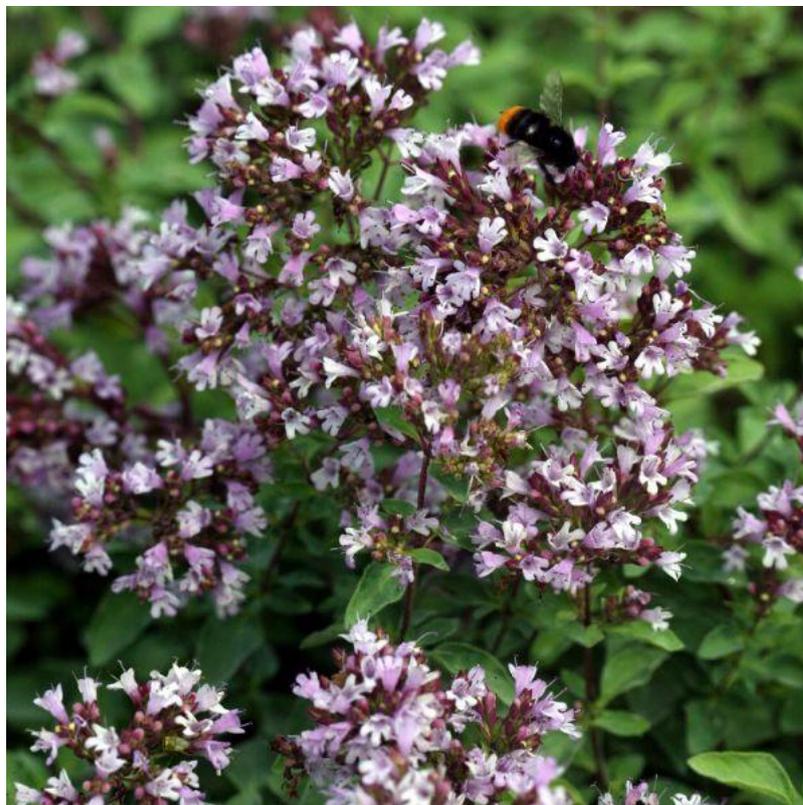
- Leur large utilisation en médecine traditionnelle (Préparation des tisanes et autres), pour le traitement de maladies et d'infection de nature microbienne.
- Leur large répartition, comme ressources botaniques naturelles dans plusieurs régions du pays notamment dans l'Est Algérien.
- Le manque de travaux de recherche sur les propriétés biopesticides, en particulier le pouvoir antifongique des huiles essentielles de ces espèces végétales.

#### 3.2.1.1. Origines des espèces végétales utilisées :

- *Eucalyptus globulus* (Fig. 02) et *origanum floribundum* (Fig. 03) ont été collectés et fournis par Docteur KSOURI Samir, enseignant chercheur 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. Les échantillons utilisés (Feuilles et sommités fleuries) d'eucalyptus sont originaires de la forêt de Beni Salah (Guelma), par contre ceux de l'origan, sont originaires de Djebel Houara (Guelma).

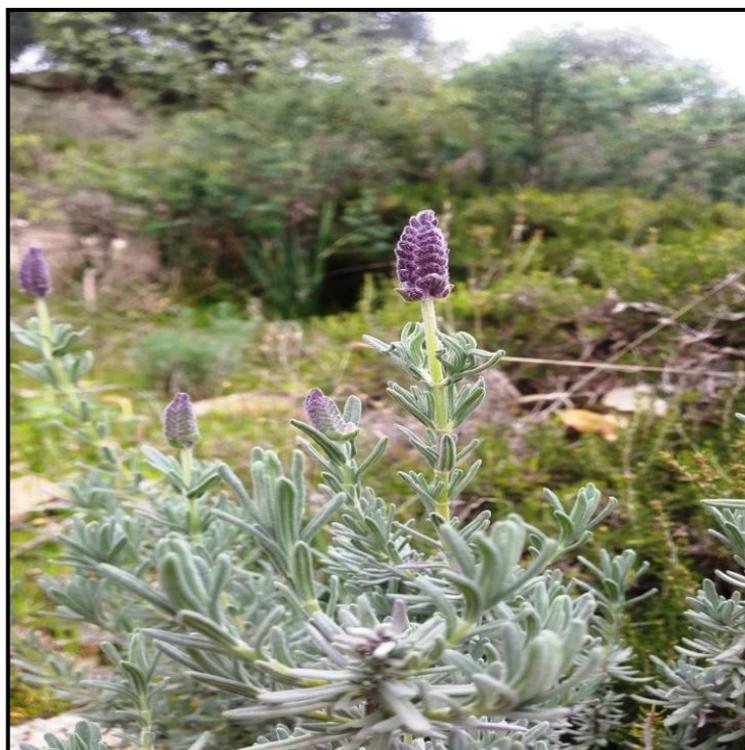


**Figure 02** : Photographie de l'aspect botanique d'*Eucalyptus globulus*  
*Bey Ould Si Said, (2014)*



**Figure 03** : Photographie de l'aspect botanique de l'*Origanum floribundum* [1]

- Les feuilles et les sommités fleuries de *Lavandula stoechas* (Fig. 04) ont été récoltées le mois de mars 2019 de la région de Maouna, wilaya de Guelma.



**Figure 04 :** Photographie de l'aspect botanique de *Lavandula stoechas*  
(Photo personnelle)

Le tableau 01 indique l'origine et la date de récolte des différentes espèces :

**Tableau 01:** Origine des espèces végétales utilisées

Espèces végétales	Famille botanique	Origine	Date de collecte	Partie utilisée
• <i>Lavandula stoechas</i>	Lamiaceae	Maouna (Guelma)	mars 2019	Feuilles et sommités fleuries
• <i>Eucalyptus globulus</i>	Myrtaceae	Forêt Beni Salah (Guelma)	Mai- juillet 2015	Feuilles et sommités fleuries
• <i>Origanum floribundum</i>	Lamiaceae	Djebel Houara (Guelma)	Mai- juillet 2015	Feuilles et sommités fleuries

### **3.2.1.2. Situation géographique et caractéristiques pédoclimatiques des zones de collecte du matériel végétal**

Guelma, origine des espèces végétales utilisées, se situe dans le nord-Est de l'Algérie, à une altitude 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 sub-humide, et un sol de type argileux.

- La région de Djbel Houara, lieu de collecte de l'origan, se localise à une altitude de 36°53'28" Nord et une longitude de 7°59'98" Est,
- La région de Djbel beni Salah, lieu de collecte d'eucalyptus, se localise à une altitude de 36°47'43" Nord et une longitude de 7°83 '89" Est.
- La région de Djbel Maouna, lieu de collecte de la lavande, se localise à une altitude de 36°22'07.0 » Nord et une longitude de 7°23'30.0 » Est [2].

### **3.2.1.3. Traitement des échantillons**

Les plantes sélectionnées 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 07 à 20 jours selon l'espèce, Après séchage, les échantillons (feuilles et sommités fleuries), isolés du reste des parties de la plante ont été conservés dans des sacs propres jusqu'au moment de l'utilisation.

### **3.2.1.4. Extraction des huiles essentielles**

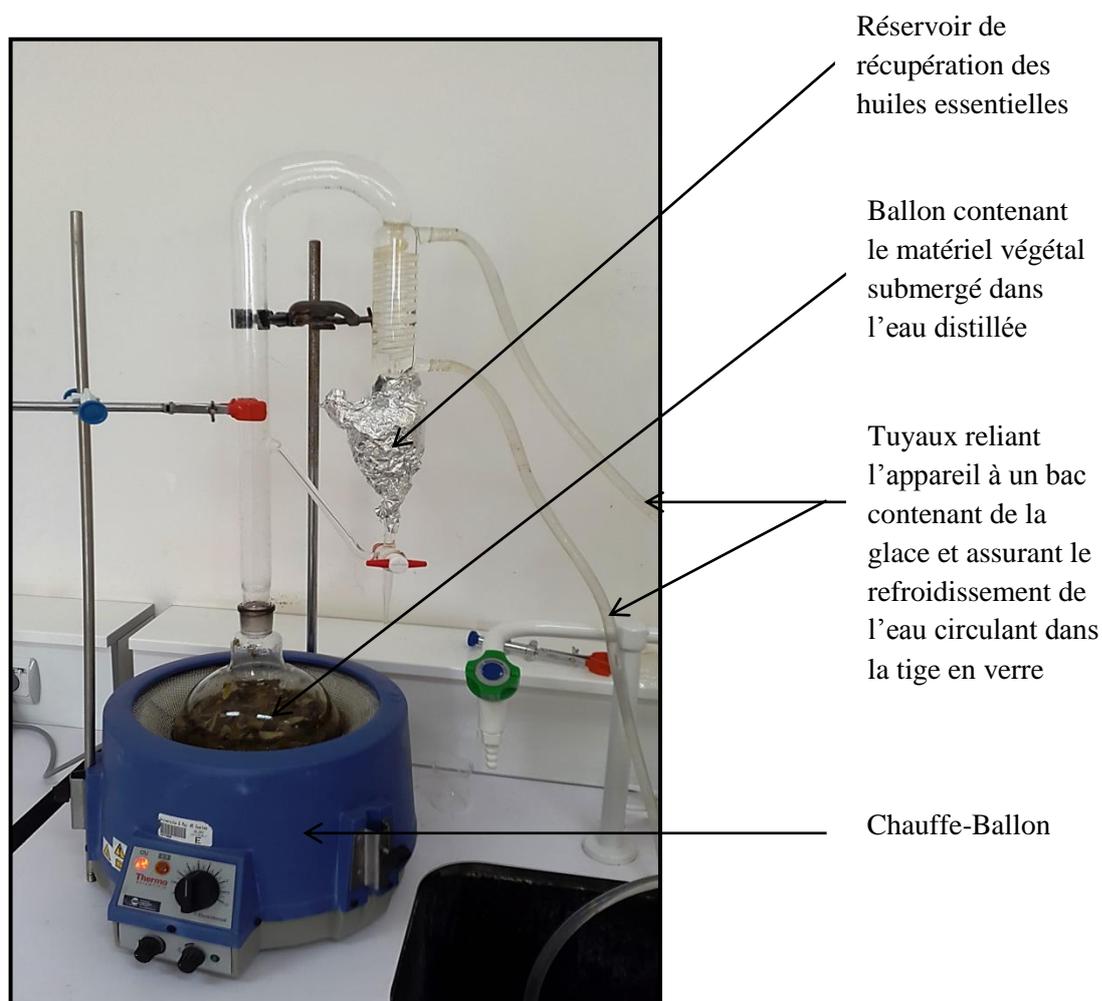
Les huiles essentielles (HE) ont été extraites par hydrodistillation en utilisant un appareillage de type Clevenger (Fig. 05) au niveau des laboratoires de la faculté des sciences de la nature et de vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université 8 Mai 1945 de Guelma.

#### **- Principe de l'hydro-distillation**

Une quantité du matériel végétal de l'espèce utilisée (Plante ou 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 02 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 (Chemloul, 2014).

Une quantité de 200 g de matière chèche a été prise pour la lavande, 250 g pour l'origan et 275 g pour l'eucalyptus, et ce pour chaque opération.



**Figure 05:** Photographie du montage de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (photo personnelle)

La méthode d'hydrodistillation est une méthode qui fait parti des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques, les plus anciens, apportés par les Arabes (Sutour, 2011). Laghchimi *et al.* (2014), signalent que cette méthode est décrite par la pharmacopée européenne.

### 3.2.2. Matériel fongique

#### 3.2.2.1. Présentation des espèces fongique utilisées

Trois espèces fongiques ont fait l'objet de cette étude, le choix de ces espèces a été réalisé en fonction de leur importance en phytiatrie et les dégâts engendrés aux cultures par ces espèces :

- *Zymoseptoria tritici* (téléomorphe *Mycosphaerella graminicola*) : champignon Ascomycète, agent causal de la tache septorienne des feuilles chez le blé, l'une des maladies les plus répandues et les plus dévastatrices sur le blé. Les pertes occasionnées peuvent dépasser 40 % (Allioui, 2015).

- *Botrytis cinerea* (téléomorphe *Botryotinia fuckeliana*) : champignon Ascomycète polyphage, responsable de pourritures sur un grand nombre de plantes hôtes d'importance économique en agriculture et en horticulture (Viret *et al.*, 2010 ; Walker, 2013), les dégâts occasionnées par ce champignon sont considérables et peuvent atteindre 20 % des récoltes mondiales des cultures (Alem-Etsouri *et al.*, 2016).

- *Fusarium roseum* : champignon Deutéromycète, responsable de la fusariose du blé et qui peut engendrer des dégâts allant de 30 à 70 % de pertes (Syngenta, 2018).

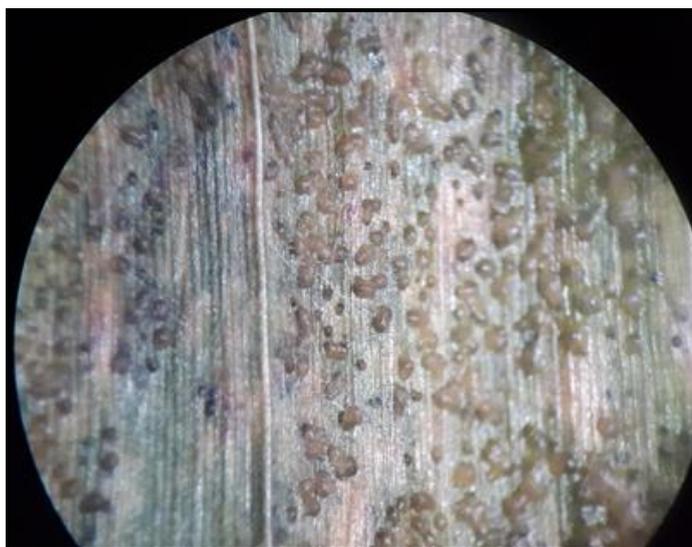
#### 3.2.2.2. Origine des souches

Les souches fongiques utilisées dans cette étude ont été isolées de plantes infectées:

- *Zymoseptoria tritici* : isolée à partir de feuilles de blé tendre fournies par la station régionale de la protection des végétaux (S.R.P.V.) d'El Taref. L'isolement du champignon a été effectué selon la technique décrite par Siah (2009) :

- Des échantillons de feuilles contenant les pycnides de *Zymoseptoria tritici* sont mis dans une chambre humide, à l'obscurité pendant une nuit, pour la libération des cirrhes (Fig. 06),

- Les cirrhes contenant les pycnidiospores sont ensuite récupérés et ont servis à la préparation de la culture monospore du champignon,
- Après germination, une spore est repiquée sur un milieu PDA propre,
- Des cultures âgées de 10 jours ont servis par la suite à la préparation des solutions sporales utilisés dans le test d'étude de l'activité antifongique, après ajustement de la concentration recommandée, à l'aide de la cellule de Malassez.



**Figure 06:** Photographie de *Zymoseptoria tritici*, contenant les conidiospores libérées après une nuit en chambre humide (photo personnelle)

- *Botrytis cinerea* : isolée à partir de plants de tomate montrant les symptômes de la pourriture grise.
- *Fusarium roseum* : isolée du blé et fournie par monsieur BENADA M., enseignant chercheur à l'université de Ghilizane.

### 3.2.2.3. Culture et conservation des souches

Les souches fongiques ont été cultivées sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar), incubées pendant 07 jours à l'étuve à une température de 24° C, puis conservées à + 4° C jusqu'à l'utilisation.

### 3.3. Composition des huiles essentielles des plantes utilisées

La composition chimique des huiles essentielles utilisées dans cette étude a été déterminée par Dr. KSOURJ Samir, par la méthode de chromatographie en phase gazeuse (CPG), pour des échantillons collectés en 2015, aussi bien pour l'eucalyptus et l'origan (mêmes échantillons utilisés dans cette étude), que pour la lavande (pour laquelle nous avons utilisé des échantillons collectés de la même région mais en 2019).

### 3.4. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles des différentes 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 **Bourkhis *et al.* (2001)** et (**Tiachadine, *et al.*, 2017**).

$$R_{HE} = M_{HE} / M_S . 100$$

Où :

**R<sub>HE</sub>** : rendement en huiles essentielles (extraits fixes en g /100 g de matière sèche).

**M<sub>HE</sub>**: quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

**M<sub>S</sub>**: quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

### 3.5. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles testées

L'activité antifongique de deux huiles seulement (Huile d'origan et huile de lavande) a été testée à l'égard des souches fongiques citées ci-dessus, *in vitro*, sur un milieu PDA, par la méthode de diffusion par disque, selon le protocole décrit par **Adebayo, *et al.*, (2013)**

Pour l'huile d'eucalyptus, suite à des contraintes de manipulations, ce test a été éliminé et on s'est contenté à la détermination du rendement et la comparaison de la composition de cette huile avec les autres huiles testés dans cette étude.

**Sasidharan *et al.*, (2012)**, signalent que le milieu PDA est le milieu adéquat pour tester les activités des extraits de plantes à l'égard des champignons.

### **3.5.1. Matériel utilisé**

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

- Microscope optique
- Cellule de Malassez
- Bain-marie (Mammert)
- Balance de précision
- Hotte microbiologique
- Etuve, réglée à 24 °C.
- Autoclave
- Vortex
- Flacons de 250 mL
- Bec bunsen,
- Boîtes de Pétri de 50 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, 100 µL et 1000 µL) + embouts
- Alcool (éthanol 95°)
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Milieux de culture : PDA et Sabouraud liquide
- Antibiotique (Gentamicine)
- Huiles essentielles des espèces végétales testées.
- Microplaques

### 3.5.2. Préparation des suspensions sporales des différentes souches fongiques

Pour les différentes souches fongiques, les solutions sporales ont été préparées à partir de cultures jeunes, âgées de 5 jours pour *Botrytis cinerea* et *Fusarium roseum*, et de 7 jours pour *Zymoseptoria tritici*. Les spores ont été récoltées par grattage dans des tubes coniques en plastique, stériles de 15 mL, contenant une solution de l'eau physiologique à 0.9 % et 2 gouttes de Tween 20. Après agitation au vortex, les concentrations sont ajustées aux valeurs spécifiques aux différents agents pathogènes étudiés, en utilisant la cellule de Malassez :

- Pour *Zymoseptoria tritici* : une concentration sporale de  $3 \cdot 10^6$  spores / mL a été utilisée (Perellô *et al.*, 2013).
- Pour *Botrytis cinerea* : une concentration sporale de  $10^4$  spores / mL a été utilisée (Soylu *et al.*, 2010).
- Pour *Fusarium roseum* : une concentration sporale de  $10^5$  spores / mL a été utilisée (Remmal *et al.*, 1993).

### 3.5.3. Concentrations des huiles essentielles testées

Cinq concentrations des huiles essentielles ont été testées : 0%, 25 %, 50 %, 75 % et 100 %. La concentration 0% constitue le témoin négatif, pour lequel, les boîtes sont traitées avec de l'eau physiologique sans ajout d'huile. La concentration 100% a consisté à l'utilisation de l'huile pure. Les autres concentrations ont été préparées par dissolution d'huile dans de l'eau physiologique.

### 3.5.4. Technique de confrontation

La confrontation Souche fongique-Huile a été réalisée dans des boîtes 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 les champignons étudiés à travers des disques de papier wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boîtes.

Dans chaque boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant le milieu de culture PDA, une quantité de 50  $\mu$ L de suspension sporale, préparée le jour même, est étalée de manière uniforme sur le milieu. Après séchage de quelques minutes à 24 °C à l'étuve, un disque de

papier Wattman de 6 mm de diamètre est placé au centre de la boîte à l'aide d'un emporte-pièce stérile, puis imbibé par 5 µL de l'huile essentielle à tester, à l'aide d'une micro pipette. Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 24 °C pendant trois jours pour *Botrytis cinerea*, cinq jours pour *Fusarium roseum* et dix jours pour *Zymoseptoria tritici*. La lecture des résultats se fait par examen et mensuration du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la souche fongique au voisinage des disques chargés par les différentes concentrations des huiles testées.

Les tests réalisés sont effectués en trois répétitions pour chaque souche et chaque huile testée.

### 3.5.5. Tests relatifs aux témoins positifs

En plus des deux huiles testées (Huiles de lavande et d'origan), des tests de témoins positifs ont été réalisés en vue de comparer le niveau d'activité antifongique des huiles essentielles testées à des fongicides commercialisés. Pour ce test, deux types de produits fongicides ont été testés. Ces fongicides ont été préparés en fonction de la dose recommandée pour lutter contre les différentes souches fongiques phytopathogènes, en se référant aux fiches techniques des différents produits. Le tableau 02 présente les différents produits utilisés et leurs caractéristiques.

**Tableau 02** : Caractéristiques des fongicides utilisés pour les tests de témoins positifs

N°	Formulation du fongicide	Matière(s) active(s)	Famille(s) chimique(s)	Champignon Cible	Dose recommandé
01	Suspension concentrée	-37,5 g /L Métalaxyl -500 g/L Chlorothalonil	- Chloronitriles - Phénylamides	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Zymoseptoria tritici</i>	250 -300 L/ha
02	Suspension concentrée	- 125 g/L d'époxiconazole	- Chlorophényl - Fluorophényl- triazole	<i>Fusarium roseum</i>	0,7 - 1 L/ha

Le test a été réalisé dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA, selon la même technique utilisée pour les tests des différentes huiles essentielles. La suspension sporale, de chacune des souches testées, a été étalée sur le milieu ; ensuite les disques de papier Wattman sont placés au centre de chaque boîte, et imbibés d'une quantité de 5  $\mu$ L du produit fongicide préparé selon la dose recommandée, les dilutions utilisées sont présentées dans le tableau 03.

N°	Matière(s) active(s)	Quantité du produit	Quantité d'eau distillée	Quantité / disque ( $\mu$ L)
01	-37,5 g /L Métalaxyl -500 g/L Chlorothalonil	0,5 mL	66,7 mL	5 $\mu$ L
02	- 125 g/L d'époxiconazole	0,5 mL	200 $\mu$ L	5 $\mu$ L

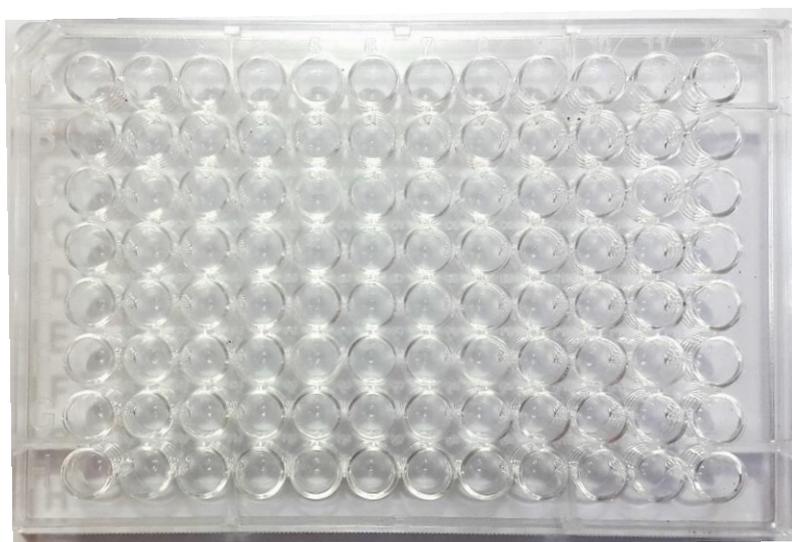
**Tableau 03 :** Concentrations en matière (s) active (s) utilisées pour le test de témoin positif dans les boîtes de Pétri.

### 3.6. Etude de la nature de la fongitoxicité des huiles essentielles testées à l'égard des souches fongiques étudiées

L'étude de la nature de l'inhibition des huiles essentielles a été réalisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), la concentration minimale fongistatique (CMF) et la concentration minimale fongicide ou létale (CML). La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'huile essentielle qui va inhiber la croissance visible d'un microorganisme, après la durée d'incubation (**Laghchimi et al, 2014 ; Mahboubi et Kazempour, 2015**). Cette dernière a été déterminée par la méthode de micro-dilutions, selon la technique décrite par **Mahboubi et Kazempour (2015)** :

Des microplaques de 96 puits (Fig. 07) ont été utilisées pour la réalisation de ce test. Le milieu de culture utilisé étant le milieu Sabouraud liquide avec l'ajout d'un antibiotique (Gentamicine). Pour chaque souche fongique et par huile testée, 12 puits sont préparés : 10 puits comportant les différentes concentrations (dilutions) de l'huile, le puit 11 comporte le témoin négatif (suspension sporale dans le milieu sans huile), et le puit 12 comportant le milieu de culture non inoculé, et sans ajout d'huile pour vérifier l'état du milieu utilisé.

Les tests ont été réalisés en deux répétitions pour chaque souche et pour chaque huile testée. Les concentrations des huiles utilisées sont indiquées dans le tableau 04.



**Figure 07 :** Microplaques utilisée pour la technique de micro-dilutions  
(Photo personnelle)

**Tableau 04 :** Les concentrations d'huiles essentielles utilisées pour déterminer la nature de la fongitoxicité des huiles essentielles à l'égard des souches fongiques étudiées.

Champignons	Les concentrations d'huiles exprimées en $\mu\text{L}/200\ \mu\text{L}$ du milieu de culture									
	<i>Zymoseptoria tritici</i>	75	37,5	18,75	9,38	4,69	2,34	1,17	0,59	0,29
<i>Botrytis cinerea</i>	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,2	0,1
<i>Fusarium roseum</i>	25	12,5	6,25	3,13	1,56	0,78	0,39	0,2	0,1	0,05

Les plaques ont été incubées à 35 °C pendant 05 jours pour *Botrytis cinerea* et *Fusarium roseum* et 10 jours pour *Zymoseptoria tritici*.

La lecture des plaques est effectuée par visualisation des puits à la lumière blanche, et le niveau de turbidité du milieu, signale la présence ou l'absence de croissance de la souche fongique en présence des différentes concentrations d'huiles.

La distinction entre la concentration minimale fongistatique (CMF) et la concentration minimale fongicide ou létale (CML) est déterminée par le transfert et l'étalement (par écouvillonnage) de quelques microlitres des suspensions sporales amendées par les concentrations d'huiles, et où aucune croissance n'a été observée, dans des boîtes de Pétri, sur un nouveau milieu PDA dépourvu de cette huile. La concentration est fongistatique si la croissance du champignon reprend à nouveau, et fongicide ou létale s'il n'y a pas de croissance (**Laghchimi *et al.*, 2014**).

### **3.7. Analyse statistique des résultats**

Une analyse de la variance a été conduite pour les différents résultats obtenus en utilisant le Logiciel Minitab 18.1 ; et le test de Dunnett a servi pour vérifier l'importance des variations dans les valeurs enregistrées entre le témoin (concentration 0%) et les différentes concentrations des huiles testées. La moyenne et l'Ecart-type ont été calculés par EXCEL Version 2010.

# *Chapitre 04*

*Résultats et discussion*

## Chapitre 04 : Résultats et discussion

### 4.1. Rendement en huiles essentielles des plantes utilisées

Les huiles essentielles des trois plantes utilisées dans cette étude, extraites par hydrodistillation, à partir des feuilles et des sommités fleuries, ont montré des couleurs variables, allant du jaune clair pour l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et la lavande (*Lavandula stoechas*), au jaune foncé pour l'origan (*Origanum floribundum*), et avec de fortes odeurs.

Les rendements moyens obtenus en huiles essentielles (Tab. 05 et Fig. 08) varient d'une plante à une autre.

Tableau 05 : Rendement en huiles essentielles des espèces végétales utilisées

Plantes	Quantité de la matière végétale (g)	Rendement	
		Poids d'HE (g)	Poids d'HE dans 100 g (%)
<i>Lavandula stoechas</i>	200	3,257	1,62 ± 0,51
<i>Origanum floribundum</i>	200	4,14	2,07 ± 0,23
<i>Eucalyptus globulus</i>	250	1,6	0,64 ± 0,46

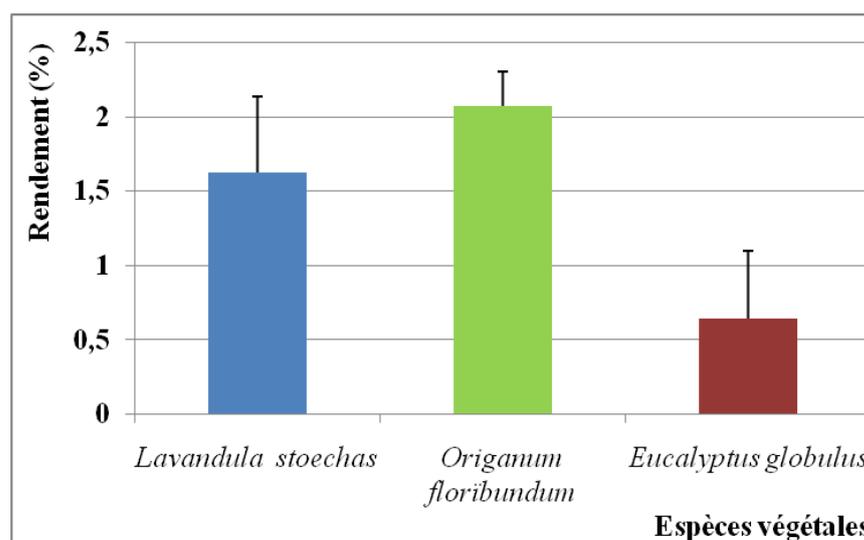


Figure 08 : Rendements en huiles essentielles des plantes utilisées

Les résultats relatifs aux rendements en huiles essentielles des plantes utilisées, représentés dans la figure 07, montrent que le rendement le plus élevé a été obtenu pour l'origan (*Origanum floribundum*), pour lequel nous avons enregistré une valeur de 2.07 %, suivi de la lavande (*Lavandula stoechas*), avec un rendement de 1.62 % , alors que l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), a enregistré le rendement le plus faible (0.64 %).

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

- Pour l'origan (*Origanum floribundum*), le rendement obtenu dans cette étude (2.07 %) est inférieur à celui obtenu par **Hadjadji et Chemlel (2018)**. En utilisant les mêmes échantillons, les auteurs ont enregistré des rendements de l'ordre de 3.36 %.

- Cependant nos résultats ont affiché des valeurs supérieures à ceux enregistrées par **Ksouri (2015)**, qui a trouvé un rendement en huile de cette même espèce de l'ordre de 1.68 %, pour des échantillons récoltés de Djebel houara en juin 2010, à ceux de **Belyagoubi (2007)** qui a enregistré un rendement de 1,90 % , et à ceux obtenus par **Bouras (2014)** qui a enregistré un rendement de 0,82 % pour cette même espèce, pour des échantillons de feuilles, à origine inconnue (achetés de la région d'Annaba), traités par hydrodistillation.

- Pour la lavande (*Lavandula stoechas*), le rendement enregistré dans cette étude (1.62 %), est supérieur à celui obtenu par **Tiachadine et Mendil (2017)**, qui ont enregistré un rendement de 0.43 % pour des échantillon de la même espèce, comportant toute la partie aérienne (tige, feuille et fleurs), récoltés en novembre 2016 de la région de Timezrit wilaya de Boumerdes, et traités par hydrodistillation.

**Benabdelkader et al. (2011)** ont montré que le rendement des HE, extraites par hydrodistillation, à partir de 11 populations de *L. stoechas* poussant à l'état sauvage dans les régions du Nord d'Algérie varie entre 0,34 % et 1,63 %.

**Dob et al. (2006)** ont trouvé un rendement de 1,1 %, et **Mohammedi (2010)**, a obtenu un rendement qui varie de 1 % à 2 % selon la région de cueillette pour *Lavandula stoechas*.

**Christos (2010)** qui a travaillé sur *L. stoechas* de la Grèce a trouvé un rendement qui varie entre 0,06 % et 1,46 %, selon la période de cueillette.

Pour l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), le rendement en huile essentielle obtenu dans cette étude (0,64 %), est inférieur à celui obtenu par **Bey ould si said (2014)** pour la même espèce, pour des échantillons récoltés au mois de Février de l'année 2014 dans l'arboretum de la commune d'Erguinah, wilaya de Bejaïa, qui a obtenu une teneur en huile essentielle de 2,53 % . **Raho et al.(2012)** ont obtenu une valeur de 1,2 % pour la même espèce.

Par contre nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Rabiai (2014)** sur les feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltés de la région de M'sila en Février – Mars 2014 qui a obtenu un rendement de 0.43 %.

Les variations des teneurs en huiles essentielles peuvent être attribuées à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des plantes, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (**Laib, 2012**).

#### 4.2. Composition chimique des huiles essentielles testées

Les résultats relatifs à la composition des huiles essentielles extraites des parties aériennes des plantes étudiées, obtenus à travers l'analyse chromatographique sur phase gazeuse (CPG), réalisée par Dr. KSOURI Samir (Annexe) révèlent que :

Au total 29 constituants, ont été repérés dans l'huile essentielle d'eucalyptus (*E. globulus*), 23 constituants dans l'huile essentielle de l'origan (*O. floribundum*), et 37 constituants dans l'huile essentielle de la lavande (*Lavandula stoechas*).

Pour l'huile d'eucalyptus, les constituants principaux étant, le 1,8-cineole qui représente 40.27 %, le  $\alpha$ -pinene qui représente 14.23 % et le veridiflorol qui représente 8.14 %. **Bey ould si said (2014)**, a travaillé sur la même espèce, et a trouvé comme composé majoritaire, dans les HEs des feuilles, le 1,8-cineole (55,9 %), en plus du  $\alpha$ -pinene avec une teneur de 4,67 % et l'isovaleraldéhyde avec une teneur de 10,16 %.

**Gakuubi et al. (2017)**, et dans une huile essentielle d'*E. camaldulensis* collectée en 2015 de Kenya, entre octobre et novembre ont trouvé comme constituants principaux : le 1,8-cineole (16.2 %), le  $\alpha$ -pinene (15.6 %), et le  $\alpha$ -phellandrene (10 %).

Pour l'huile d'origan, le constituant principal est un composé phénolique, le Carvacrol, qui représente un taux très élevé, de l'ordre de 46,82 % de la composition de l'huile, suivi du P-Cymene (18,35 %), puis le Gamma.-Terpinene (11,32 %).

Des études rapportées dans la littérature, réalisées sur cette espèce végétale, ont montré que les huiles essentielles *d'Origanum floribundum Munby*, contiennent principalement du carvacrol (**Benjilali et al., 1986 ; Houmani et Abed, 1999**).

**Baser et al. (2000)**, révèlent que les principaux composés dans l'huile essentielle *d'Origanum floribundum Munby* récolté de Chrea (Blida), sont essentiellement représentés par le carvacrol (40 %), le linalool (16.1 %), le p-cymène (12.4 %) et Gamma-terpinène (12.2 %).

En Italie, Tomaino *et al.* (2004), cité in **Ksouri (2015)**, ont enregistré comme constituants majeurs *d'Origanum floribundum Munby*, le carvacrol (48.9 %), le p-cymene (11.7 %) et le thymol (5.03 %).

En comparant nos résultats à ceux de ces travaux, on note que l'huile essentielle d'origan testée dans notre étude, originaire de Guelma, est plus riche en Carvacrol (46.82 %) que celle originaire de Blida (40 %), mais légèrement moins riche en ce composé que celle originaire de l'Italie (48.9 %). Notre huile contient des teneurs supérieures en P-Cymene (18.35 %), par rapport aux huiles originaires de Blida (12.4 %) et celles originaires de l'Italie (11.7 %), utilisées dans les travaux cités ci-dessus.

Le Carvacrol est un constituant qui a été également détecté dans l'huile d'eucalyptus, à une teneur de 1,59 % (**Djeddi et al., 2007**)

L'huile de la lavande (*Lavandula stoechas*), est riche en  $\alpha$ -thujone qui représente 25.49%, suivi du l-camphor qui représente 20.06 % et le camphene (7.31 %).

**Tiachadine et al. (2017)**, pour la même espèce, sur des échantillons collectés de Timezrit wilaya de Boumerdes, a trouvé que l'huile de *Lavandula stoechas* est riche en Monoterpènes, et comporte comme composés majoritaires : le fenchone (34 %), le camphre

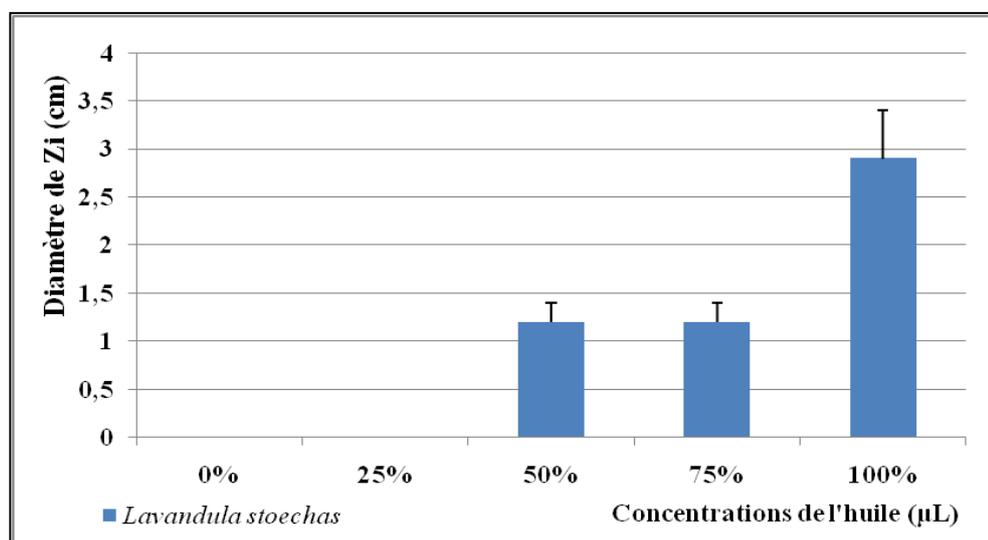
(22.7 %), le 1,8 cineol (6.7 %), le linalyl acétate (5.8 %), le camphene (3.50 %), le linalol (1.88 %) et le limonene (1.01 %). Le taux des autres composés est compris entre 0.08 % (verbenone) et 0.9% ( $\alpha$  -pinene).

### 4.3. Activités antifongiques des huiles testées

#### 4.3.1. Effets des huiles testées sur *Zymoseptoria tritici*

Les résultats des tests réalisés *in vitro*, de l'activité des différentes huiles essentielles testées sur la croissance mycélienne de *Zymoseptoria tritici* sont représentés dans les figures 09,10 et 11.

Pour l'huile essentielle de lavande (*Lavandula stoechas*), aucun effet inhibiteur de la croissance de *Zymoseptoria tritici* n'a été obtenu pour la concentration de 25 %, les concentrations de 50 % et 75 % ont enregistré des diamètres des zones d'inhibition plus ou moins similaires, alors que pour la concentration 100 % (huile pure) le diamètre de la zone d'inhibition est très important (Fig. 09).



**Figure 09 :** Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Zymoseptoria tritici* avec l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

L'analyse de la variance conduite par les résultats obtenus (Tab. 06) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile de lavande et *Zymoseptoria tritici*, et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 06** : Résultats de l'analyse de variance pour *Zymoseptoria tritici* /*Lavandula stoechas*.

Sources de variation	DL	SC	CM	F	p
Concentrations	4	17,1499	4,28747	190,16	0 ***
Erreur	10	0,2255	0,02255		
Total	14	17,3753			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

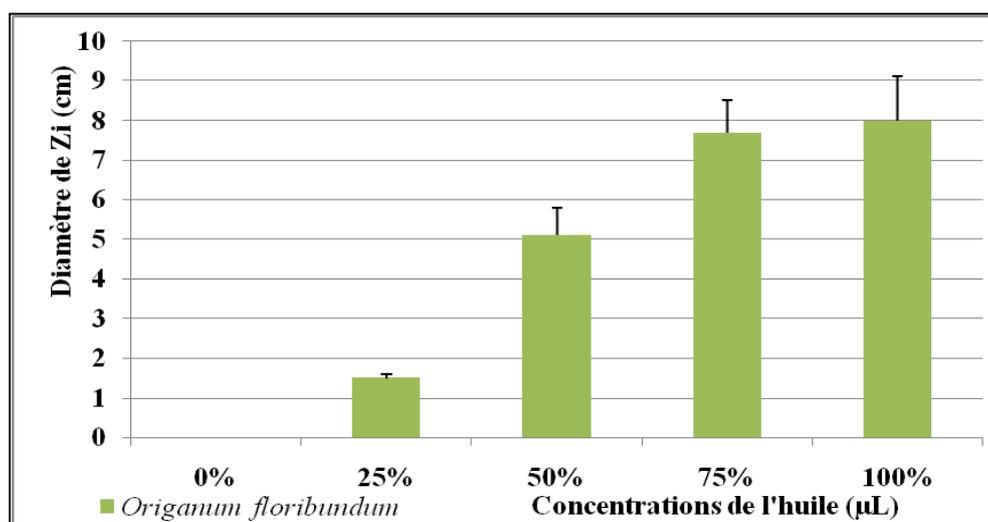
CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

L'origan (*Origanum floribundum*) a montré une activité antifongique très élevée, à l'égard de *Zymoseptoria tritici* (Fig. 10). Des diamètres importants des zones d'inhibitions ont été notés mêmes aux concentrations faibles (1,4 cm à 25 %). A la concentration de 100 % (huile pure) nous avons noté une inhibition presque totale de la croissance du champignon, où des diamètres de l'ordre de 8 cm ont été notés pour cette concentration.



**Figure 10** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Zymoseptoria tritici* avec l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*

L'analyse de la variance (Tab. 07) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile d'origan et *Zymoseptoria tritici* et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 07** : Résultats de l'analyse de variance pour *Zymoseptoria tritici* / *Origanum floribundum*.

Sources de variation	DL	SC	CM	F	P
Concentrations	4	157,723	39,4307	97,6	0 ***
Erreur	10	4,04	0,404		
Total	14	161,763			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

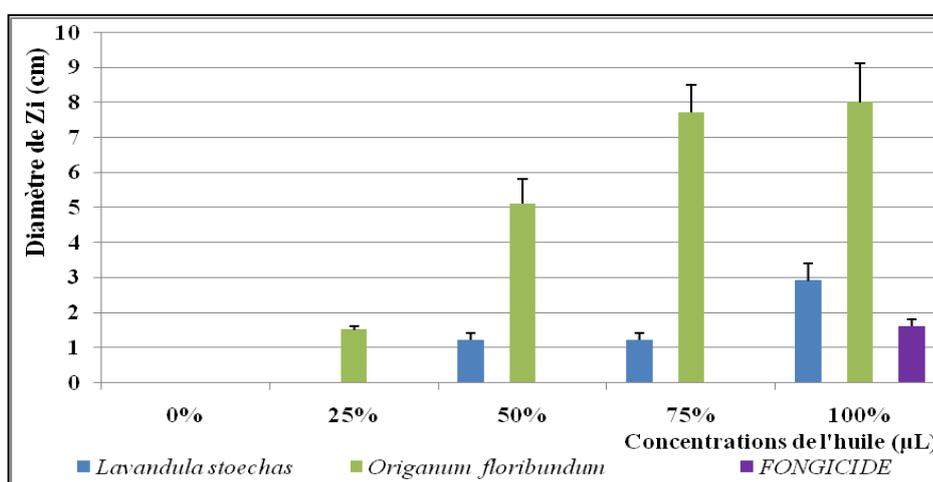
CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

La figure 11 récapitule les effets des deux huiles essentielles testées sur *Zymoseptoria tritici*, en comparaison avec le fongicide utilisé comme témoin positif, et montre que les huiles testées ont enregistré une activité antifongique à l'égard de ce pathogène, qui dépasse celle du fongicide utilisé (Métalaxyl + Chlorothalonil), et ce pour toutes les concentrations testées pour l'origan, et à la concentration de 100 % pour l'huile de lavande.



**Figure 11** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Zymoseptoria tritici* avec les huiles essentielles testées, comparées au fongicide

Les valeurs obtenues du test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) pour *Zymoseptoria tritici* en confrontation avec les différentes huiles testées sont affichées dans le tableau 08. La CMI et la CMF les plus faibles sont obtenus pour *Origanum floribundum*.

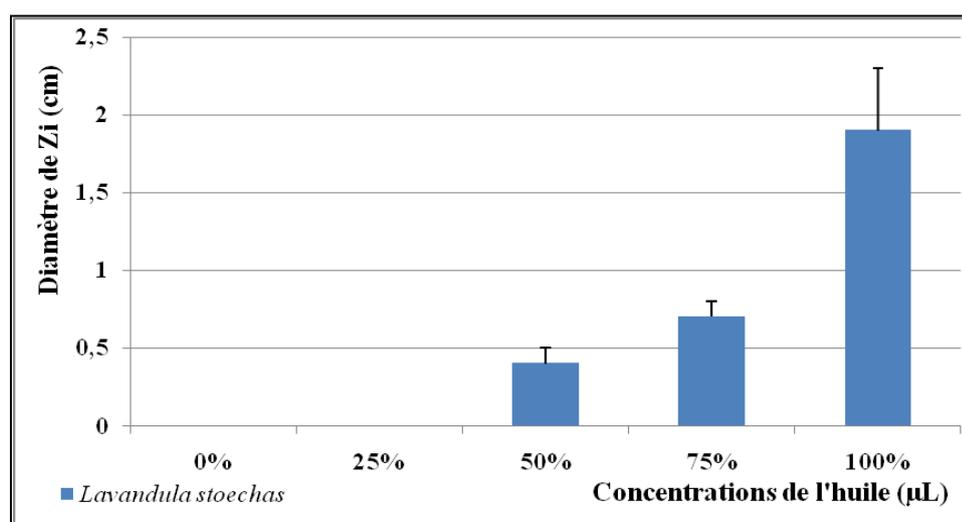
**Tableau 08 :** CMI et CMF de *Zymoseptoria tritici* confronté aux différentes huiles testées.

Huiles	CMI	CMF
<i>Lavandula stoechas</i>	37,50 $\mu\text{L}/\text{mL}$	75,00 $\mu\text{L}/\text{mL}$
<i>Origanum floribundum</i>	18,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$	37,50 $\mu\text{L}/\text{mL}$

#### 4.3.2. Effets des huiles testées sur *Fusarium roseum*

Les résultats relatifs au test de l'activité antifongique des huiles essentielles sur *Fusarium roseum* sont représentés dans les figures 12 et 13.

Un pouvoir antifongique plus ou moins modéré a été noté aux concentrations 50 % et 75 % pour l'huile de lavande (Fig. 11), avec des diamètres des zones d'inhibition de l'ordre de 0.4 cm et 0.7 cm, respectivement. A la dose 100 % la zone d'inhibition était très franche (1.8 cm).



**Figure 12 :** Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Fusarium roseum* avec l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*

L'analyse de la variance (Tab. 09) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile de lavande et *Fusarium roseum*, et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 09** : Résultats de l'Analyse de variance pour  
*Fusarium roseum* /*Lavandula stoechas* .

Sources de variation	DL	SC	CM	F	P
Concentrations	4	7,4201	1,85503	76,07	0***
Erreur	10	0,2438	0,02438		
Total	14	7,664			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

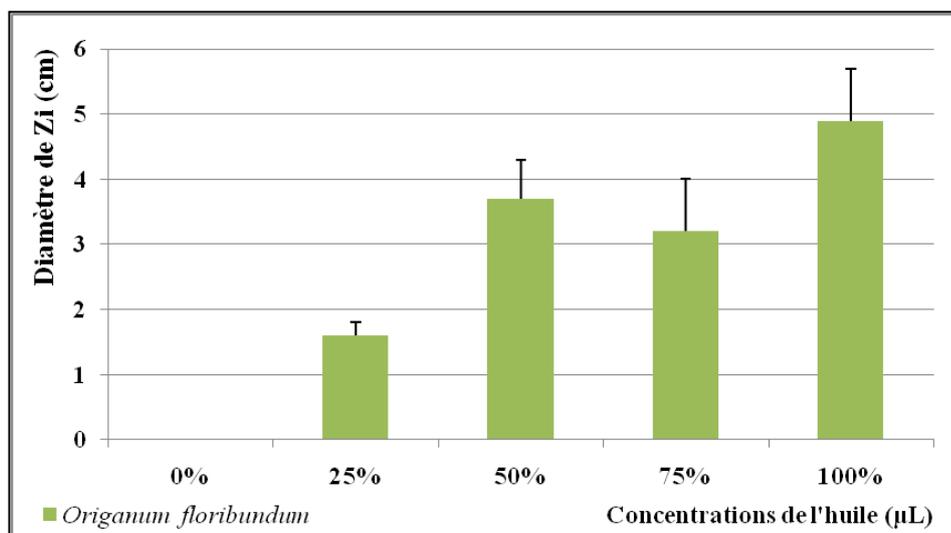
F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

Pour l'huile essentielle d'origan (*Origanum floribundum*), le pouvoir antifongique de cette huile à l'égard de la souche de *Fusarium roseum* utilisée est remarquable (Fig. 12).

Une inhibition de la croissance au voisinage du disque comportant l'huile a été observée même à la concentration de 25 %, avec un diamètre de 1,6 cm, pour les doses 50 % et 75 %, les diamètres enregistrés dépassent 3 cm, alors que pour la dose 100 % (huile pure), la croissance du champignon a été fortement inhibée au voisinage de l'huile, et un diamètre de 5 cm a été noté pour cette dose.



**Figure 13 :** Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Fusarium roseum* avec l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*

L'analyse de la variance conduite par les résultats obtenus (Tab. 10) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile d'origan et *Fusarium roseum*, et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 10 :** Résultats de l'analyse de variance pour *Fusarium roseum* / *Origanum floribundum*.

Sources de variation	DL	SC	CM	F	P
Concentrations	4	43,14	10,785	36,23	0 ***
Erreur	10	2,977	0,2977		
Total	14	46,117			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

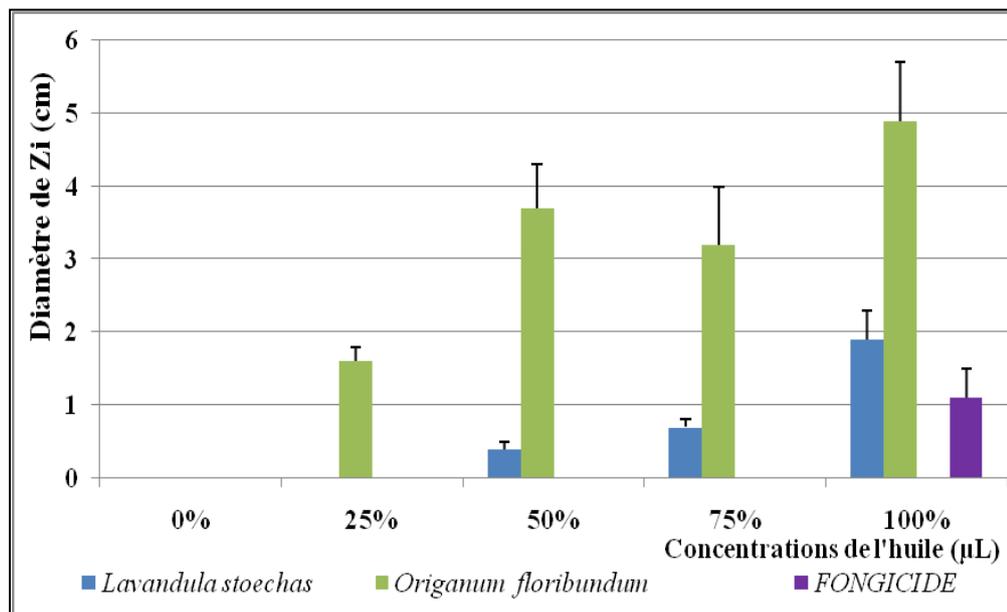
P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

Comparativement aux résultats obtenus pour le fongicide testé à l'égard de *Fusarium roseum* (Epoxyconazole 125g/L), les résultats des huiles testées sont plus satisfaisants (Fig. 14), notamment ceux de l'huile d'origan (*Origanum floribundum*), pour lequel, le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance du champignon a dépassé celui enregistré pour le fongicide même à la dose la plus faible (25 %), et a dépassé de plusieurs fois celui du fongicide aux autres doses de l'huile testée.

Pour l'huile de la lavande (*Lavandula stoecha*), seule la dose 100 % a enregistré un diamètre de la zone d'inhibition qui dépasse celui du fongicide.

A la lumière de ces constatations soulevées, nous pouvons dire que les deux huiles testées ont donné des résultats satisfaisants dans le contrôle de ce pathogène, notamment l'huile d'origan.



**Figure 14** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Fusarium roseum* avec les huiles essentielles testées comparées au fongicide

Les valeurs obtenues du test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) pour *Fusarium roseum* en confrontation avec les différentes huiles testées sont affichées dans le tableau 11. La CMI et la CMF les plus faibles sont obtenus pour *Origanum floribundum*

**Tableau 11 :** CMI et CMF de *Fusarium roseum* confronté aux différentes huiles testées.

Huiles	CMI	CMF
<i>Lavandula stoechas</i>	1,56 µL/mL	6,25 µL/mL
<i>Origanum floribundum</i>	0,78 µL/mL	1,56 µL/mL

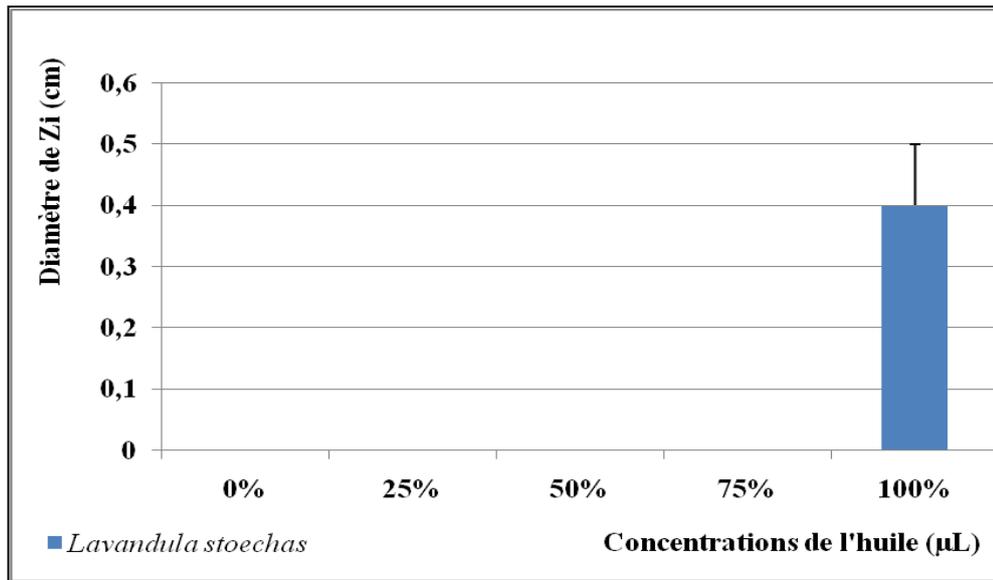
#### 4.3.3. Effets des huiles testées sur *Botrytis cinerea*

Les résultats obtenus pour le test de l'activité antifongique des huiles essentielles testées sur *Botrytis cinerea* (Fig. 15 et 16), montrent que pour cet agent pathogène deux zones d'inhibition à séparation très franche se forment autour des disques imbibés par les huiles testées (Huile de lavande et huile d'origan) :

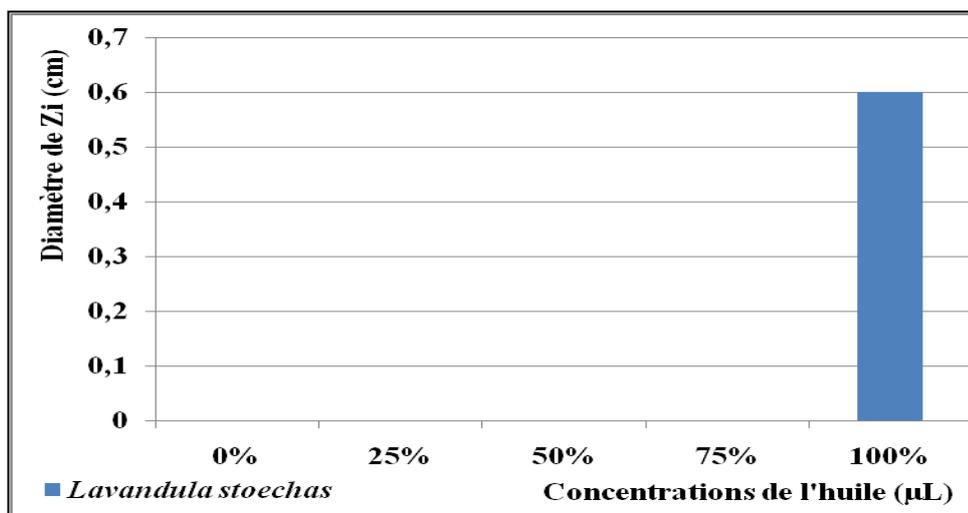
- Une zone « interne », juste au voisinage du disque imbibé de l'huile testée, et pour laquelle aucune croissance n'a été notée pour le champignon (milieu de culture intact).
- Une zone « externe », qui apparaît juste après la zone « interne » et qui se caractérise avec la formation d'un mycélium ras, de couleur blanche, sans fructification.

Pour l'huile de lavande (*Lavandula stoechas*), seule la dose de 100 % a enregistré un effet antifongique contre *Botrytis cinerea*, avec une zone d'inhibition « interne » d'un diamètre faible, de l'ordre de 4 mm (Fig. 14), et un diamètre de la zone « externe » de l'ordre de 6 mm (Fig. 15).

L'apparition des deux zones d'inhibition peut être interprétée par le fait que les huiles testées, peuvent avoir un effet fongitoxique au voisinage du disque imbibé de l'huile, et un effet fongistatique, inhibant ainsi la fructification chez le champignon, à des distances plus ou moins éloignées du disque imbibé d'huile, en fonction des doses utilisées.



**Figure 15 :** Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (Diamètre interne)



**Figure 16 :** Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec l'huile essentielle *Lavandula stoechas* (Diamètre externe)

L'analyse de la variance (Tab. 12) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile de Lavande et *Botrytis cinerea* (Diamètre externe), et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 12 :** Résultats de l'Analyse de variance pour *Botrytis cinerea* /*Lavandula stoechas* (Diamètre externe).

Sources de variation	DL	SC	CM	F	p
Concentrations	4	0,748167	0,187042	538,68	0***
Erreur	10	0,003472	0,000347		
Total	14	0,751639			

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.

L'analyse de la variance conduite par les résultats obtenus (Tab. 13) a affiché des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile de d'Origan et *Botrytis cinerea* (Diamètre interne), et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 13 :** Résultats de l'analyse de la variance pour *Botrytis cinerea* /*Lavandula stoechas* (Diamètre interne).

Sources de variation	DL	SC	CM	F	p
Concentrations	4	76,488	19,122	73,35	0***
Erreur	10	2,607	0,2607		
Total	14	79,095			

DL: Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

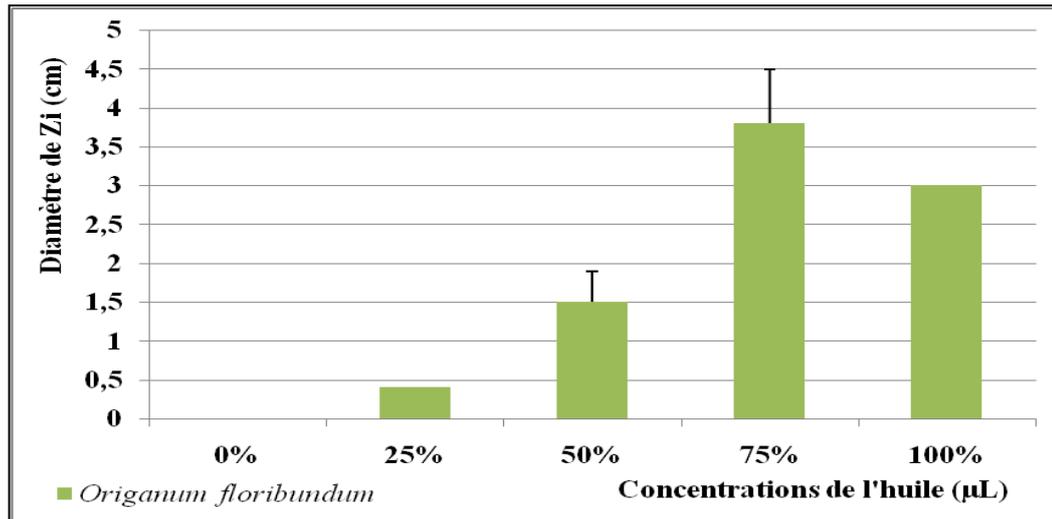
CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

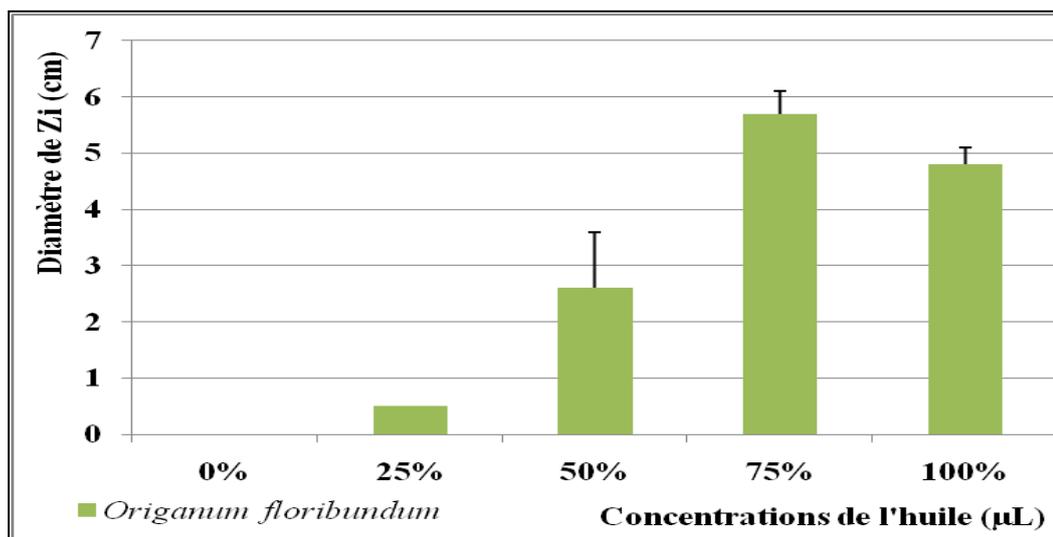
P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

Les résultats obtenus pour l'huile de l'origan (*O. floribundum*), sont plus satisfaisants que ceux obtenus pour l'huile de lavande (*L. stoechas*). Un effet antifongique de cette huile contre *Botrytis cinerea* ont été obtenus même à la concentration faible de 25 % (Fig. 17), et des diamètres importants de l'ordre de 5 à 6 cm ont été enregistrés autour du disque imbibé de l'huile, pour les concentrations élevées (75 % et 100 %), et ce aussi bien pour la zone « interne » que pour la zone « externe ». (Fig. 17 et 18).



**Figure 17** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* (Diamètre interne)



**Figure 18** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* (Diamètre externe)

Des résultats similaires ont été enregistrés par **Hadjadi et Chemlel (2018)**, pour ce même pathogène confronté aux huiles essentielles d'origan (*O. floribundum*), du romarin (*R. officinalis*) et d'eucalyptus (*E. camaldiensis*).

Les résultats de l'analyse de la variance (Tab. 14 et 15) ont montré des différences très hautement significatives entre les doses pour l'huile d'origan et *Botrytis cinerea* (Diamètre interne et externe), et le test de Dunnett a montré des différences très hautement significatives entre le témoin et toutes les doses testées pour cette huile (Annexe).

**Tableau 14 :** Résultats de l'Analyse de la variance pour *Botrytis cinerea* / *Origanum floribundum* (Diamètre interne).

Sources de variation	DL	SC	CM	F	p
concentrations	4	32,338	8,0846	55,74	0 ***
Erreur	10	1,45	0,145		
Total	14	33,789			

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 15 :** Résultats de l'Analyse de la variance pour *Botrytis cinerea* / *Origanum floribundum* (Diamètre externe).

Sources de variation	DL	SC	CM	F	p
Concentrations	4	76,488	19,122	73,35	0***
Erreur	10	2,607	0,2607		
Total	14	79,095			

DL : Degrés de liberté

SC : Somme des carrés des écarts

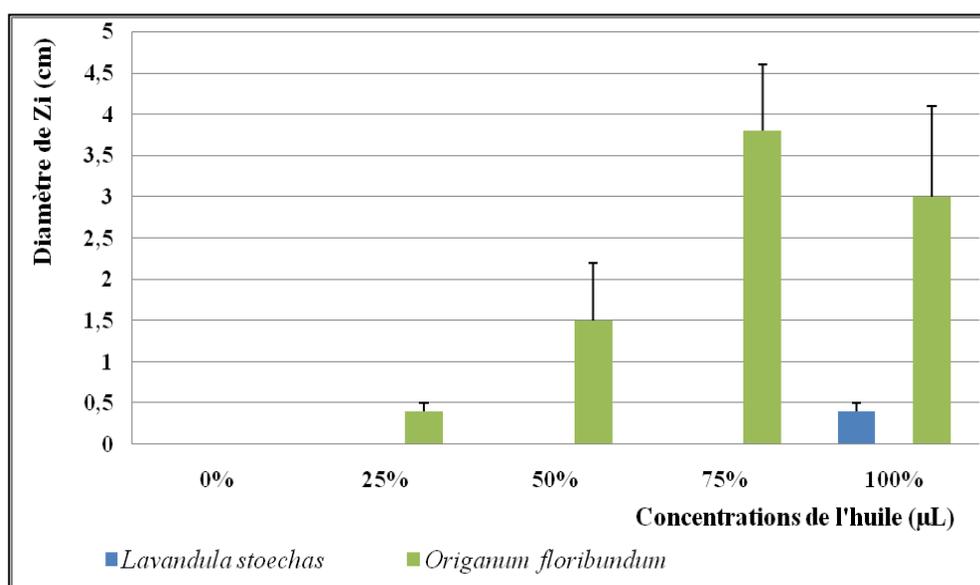
CM : Carré moyen

F : Valeur observée de F de Fisher

P : Probabilité de mettre en évidence des différences significatives

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

En comparant les résultats obtenus pour les huiles testées à l'égard de *Botrytis cinerea*, avec un fongicide recommandé pour la lutte de ce pathogène (37,5 g/L Métalaxyl + 500 g/L Chlorothalonil), nous remarquons que les huiles testées ont enregistré un effet antifongique très élevé (Fig. 19) , par contre le fongicide utilisé n'a montré aucune efficacité à la dose testée (dose recommandée), ceci peut être attribué à la nature de la souche de *Botrytis cinerea* étudiée, qui peut avoir une résistance à la matière active de ce fongicide, ou encore à des contraintes de manipulation.



**Figure 19** : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec les huiles essentielles testées comparées au fongicide (*Diamètre interne*)

Les valeurs obtenues du test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) pour *Botrytis cinerea* en confrontation avec les deux huiles testées sont affichées dans le tableau 16. La CMI et la CMF les plus faibles sont obtenus pour *Origanum floribundum*.

**Tableau 16** : CMI et CMF de *Botrytis cinerea* confronté aux différentes huiles testées.

Huiles	CMI	CMF
<i>Lavandula stoechas</i>	0,20 µL/MI	0,78 µL/mL
<i>Origanum floribundum</i>	0,10 µL/mL	0,10 µL/mL

# *Conclusion*

## Conclusion

Notre travail a porté sur l'activité antifongique des huiles essentielles de la partie aérienne (feuilles et sommités fleuries) de trois espèces de la famille des Lamiaceae, une des familles les plus importantes dans la flore de l'Algérie, à savoir, la lavande, l'origan et l'eucalyptus.

L'extraction des huiles a été faite par hydrodistillation, en utilisant le dispositif *Clevenger*, et les rendements obtenus sont plus ou moins similaires à ceux de travaux antérieurs.

Le rendement exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche, enregistré pour la lavande (*Lavandula stoechas*) est de  $1,62 \pm 0,51$  %, celui de l'origan (*Origanum floribundum*) est de  $2,07 \pm 0,23$  % alors que celui obtenu pour l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) est de  $0,64 \pm 0,46$  %.

L'évaluation de l'activité antifongique *in vitro* de deux huiles essentielles (huile de lavande et huile d'origan) de trois espèces de champignons phytopathogènes (*Zymoseptoria tritici*, *Fusarium roseum* et *Botrytis cinerea*), a été réalisée par la méthode de confrontation directe, par diffusion des huiles à travers des disques de papier Wattman, et les résultats obtenus ont montré que toutes les huiles essentielles ont enregistré une activité antifongique satisfaisante contre les trois espèces fongiques étudiées :

L'huile essentielle d'origan (*Origanum floribundum*) a montré une activité antifongique très importante et plus élevée par rapport à l'huile de lavande (*Lavandula stoechas*), contre les trois espèces fongiques. Des zones d'inhibition de la croissance, remarquables ont été notées autour des disques imbibés par l'huile d'origan pour toutes les souches testées et ce même à des concentrations d'huile faibles (25 %).

Les valeurs des CMI et CMF, enregistrées sont faibles pour l'huile d'origan (*Origanum floribundum*), comparativement à celles de *Lavandula stoechas*.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que, cette étude confirme l'intérêt des H.E., offrant ainsi un patrimoine à préserver, à développer et à valoriser, dans la mesure où nos résultats constituent, avec ceux des études réalisées auparavant, une base essentielle en faveur de leur exploitation dans le domaine de la phytothérapie.

A l'issue de la présente étude, il serait intéressant de compléter ce travail par:

- ❖ Une recherche similaire, sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles et l'activité antifongique sur d'autres champignons phytophages des cultures à intérêt économique important.
- ❖ L'application de ces huiles essentielles sur les mêmes espèces fongiques *in vivo*.
- ❖ Elargir la recherche et tester d'autres types d'huiles essentielles ou extraits d'autres plantes, et identifier leurs pouvoir antimicrobien, ou même insecticide, en vue de leur utilisation comme moyens de lutte biologique, dans le domaine de la phytothérapie, à fin de limiter l'emploi des pesticides et réduire leurs effets non intentionnelles sur l'environnement et sur la santé publique.

# *Résumés*

## Résumé

En vue de valoriser les ressources botaniques locales et minimiser l'utilisation des pesticides dans la lutte contre les agents phytopathogènes, ce travail vise à étudier le potentiel de rendement en huiles essentielles et l'effet antifongique des huiles essentielles de quelques espèces végétales de la région de Guelma : *Lavandula stoechas*, *Eucalyptus globulus* et *Origanum floribundum*, contre trois champignons phytopathogènes : *Zymoseptoria tritici*, *Botrytis cinerea* et *Fusarium roseum*. Les teneurs moyennes enregistrées en huiles essentielles des feuilles et des sommités fleuries étaient de l'ordre de  $1,62 \pm 0,51\%$  pour *Lavandula stoechas*,  $0,64 \pm 0,46\%$  pour *Eucalyptus globulus* et  $2,07 \pm 0,23\%$  pour *Origanum floribundum*.

Toutes les huiles testées ont montré une activité antifongique satisfaisante à l'égard des souches fongiques testées notamment l'huile d'*Origanum floribundum*.

**Mots clés :** *Lavandula stoechas*, *Eucalyptus globulus*, *Origanum floribundum*, rendement, huiles essentielles, activité antifongique, champignons

## Abstract

In order to promote local botanical resources and minimize the use of pesticides in the control of phytopathogenic agents, this work aims to study the potential yield of essential oils and their antifungal effect of some plant species from Guelma region : *Lavandula stoechas*, *Eucalyptus globulus* and *Origanum floribundum*, against three phytopathogenic fungi : *Zymoseptoria tritici*, *Botrytis cinerea* and *Fusarium roseum*. The average levels recorded in essential oils of leaves and flowering tops were :  $1.62 \pm 0.51$  % for *Lavandula stoechas*,  $0.64 \pm 0.46$  % for *Eucalyptus globulus* and  $2.07 \pm 0.23$  % for *Origanum floribundum*. All the oils tested showed satisfactory antifungal activity against the fungal strains tested, in particular *Origanum floribundum* oil

**Key words:** *Lavandula stoechas*, *Eucalyptus globulus*, *Origanum floribundum*, yield, essential oils, antifungal activity, fungi.

## ملخص

من أجل تعزيز الموارد النباتية المحلية وتقليل استخدام المبيدات في مكافحة العوامل المسببة للأمراض النباتية ، استهدف هذا العمل دراسة مردود المحتمة الزيوت الأساسية، والقائمي المضاد للفطريات لمجموعة من النباتات المتواجدة في منطقة ولاية قالمة *Lavandula stoechas* ، *Eucalyptus globulus* و *Origanum floribundum* ، ضد ثلاثة فطريات مُمرضة للنباتات *Zymoseptoria tritici* ، *Botrytis cinerea* و *Fusarium roseum* ،

بينت النتائج ان متوسط مردود النباتات المدروسة من الزيوت الأساسية للأوراق والقمم المزهرة حوالي  $1.62 \pm 0.51$  % بالنسبة لـ *Lavandula stoechas* ،  $0.64 \pm 0.46$  % لـ *Eucalyptus globulus* و  $2.07 \pm 0.23$  % لـ *Origanum floribundum*.

وقد أظهرت جميع الزيوت التي تم اختبارها نشاطاً مُضاداً للفطريات فيما يتعلق بالسلالات الفطرية المدروسة ، وخاصة زيت *Origanum floribundum*.

**الكلمات المفتاحية :** *Lavandula stoechas* ، *Eucalyptus globulus* ، *Origanum floribundum* ، المرود ، الزيوت الطيارة ، النشاط المضاد للفطريات ، الفطريات

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Adebayo, O., Dang, T., Bélanger, A., Khanizadeh, S., (2013).** Antifungal studies of selected essential oils and a commercial formulation against *Botrytis cinerea*. *Journal of Food Research*, vol 2 (1) : 217- 227.
- Agrios, G.N. 2005.** Plant Pathology. 5th Edition, Elsevier-Academic Press. San Diego. C.A.: 04
- Allioui N., 2015.** Structure et diversité génétique d'une population algérienne de l'agent causal de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaarella graminicola*). These de Doctorat en biologie végétale, option phytopathologie. Département de biologie. Université Badji Mokhtar, Annaba : 220 p.
- Belmekki, N. (2009).** Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx satureioides*, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie. Mémoire de Magister en biologie, Département de biologie moléculaire et cellulaire, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen : 126 p.
- Bey Ould Si Said, Z. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*. Mémoire de magister, département des sciences alimentaires, Université Abderrahmane Mira Bejaïa : 109 p.
- Bouaine, A. (2017).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales: Lentisque et Myrte. Master, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès : 44 p
- Boumaaza, O. et Bourafa, Y. (2013).** Valorisation de deux populations de Lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) A travers quelques paramètres physicochimiques « nord-est Algérien ». Memoire de master, departement de biologie, Université D'el Tarf, El Tarf.
- Bouziaine, E.L. et djebour, Z. (2016).** L'activité antioxydante et antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum vulgare L* cultivé. Mémoire de master, département sciences agronomiques, Université Djilali Bounaama, Khemis Meliana : 61 p
- Chabrier, J.-Y. (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. doctorat, faculte de pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy 1, Nancy : 172 p
- Chemloul, F. (2014).** Etude De L'activité Antibactérienne De L'huile Essentielle De Lavandulaofficinalisde La Région De Tlemcen. Mémoire Pour L'obtention Du Diplôme De Master, Département D'agronomie, Université Abou Beker Belkaid, Tlemcen : 35 p
- Dupont, F. (2015).** Index botanique. In F. Dupont & J.-L. Guignard (Eds.), *Botanique (Seizième Édition)* (pp. 383-388). Paris: Elsevier Masson.
- El-Azrak, H. (2017).** Extraction et distillation d'une plante aromatique et médicinale : *Rosmarinus officinalis*. Master, département des sciences de la vie, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès : 33 p

- Ghenaiet, I. & Etaouidet, S. (2016).** Etude de l'impacte des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* Sur *Rhizopertha dominica* : Aspect toxicologique et biomarqueur. Memoire de Master, Département : sciences de la nature et de la vie, Université De Larbi Tébessi, Tébessa : 46 p
- Hadjadji A. et Chemlel M, 2018.** Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes . Mémoire de master en Sciences Agronomiques, Département d'écologie et Génie de l'environnement . Université 8 Mai 1945 Guelma : 54 p
- Hellal, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. application sur la Sardine (*Sardina pilchardus*). Memoire de magister en biologie, Département des sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou : 120 p
- Khorsi, K. (2013).** Contribution à l'étude chimique du romarin (*Rosmarinus officinalis* L) Algérien. Memoire de licence en chimie, département de chimie, Université Moulay Tahar Saida : 63 p.
- Ksouri, S.; Djebir, S.; Bentorki, A. A.; Gouri, A.; Hadeif, Y.; Benakhla, A. (2017).** Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal de Mycologie Médicale*, 27 (2), 245-249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.004>
- 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 (Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida* essential oil on mycelial growth of fungi responsible for the rot of apple). *J. Mater. Environ. Sci*, 5(6), 1770-1780.
- Laib, I. (2012).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : Application aux moisissures des légumes secs. Nature & Technologie : 52 p.
- Lamamra, M. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Magister, département de biologie, spécialité : biologie et physiologie végétale, Université Ferhat Abbas, Setif : 107 p .
- Lanseur, R. (2017).** Evaluation *in-vitro* des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison. Master, département de biologie, Université Abderrahmane Mira, Bejaia : 69 p.
- Mahboubi M., et Kazempour N., 2015.** The antifungal activity of artemisia sieberi essential oil from different localities of Iran against dermatophyte fungi . *MYCMED* : 537 7p.
- Mayer, F. (2012).** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. These de docteur en pharmacie, département de pharmacie, Université de Lorraine : 92 p.

- Mechergui, K. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp *glandulosum* (desf.) letswaart from tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *Journal of the science of food and agriculture*, 90 (10): 1745-1749 aug 15 2010.
- Menaceur, F. (2015).** Contribution a l'étude phytochimique et biologique de l'erigeron, du fenouil commun, de la avande et du genévrier. These de doctorat, ecole nationale superieure agronomique El-Harrach –Alger : 189 p.
- Moderres, F. et aichouni, C. (2018).** etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. récoltée dans deux régions mekhatria et bathia. memoire de mater, département des sciences agronomiques, Djilali Bounama, Khmis Miliana : 29 p.
- Nedjai, S.; Nedjai, I. (2017).** activité antimicrobienne des huiles essentielles. mémoire de master, département de microbiologie, Université Amira, Bejaia : 64 p.
- Rabiai, M. (2014).** étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région m'sila. memoire de master, departement de chimie, universite de m'sila, m'sila : 59 p.
- Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., et Tantaoui A., 2014.** Improved Method of the determination of antimicrobial activity of essential oils in Agar medium . *Journal of essential oil Reseach* . 5 (2) : 179- 184.
- Sasidharan, S.; Yoga, L. ; Kwan, Y. P et Jothy , L.. (2012).** *Screening methods in the study of fungicidal property of medicinal plants*. Chapitre 05 in *Fungicides for Plant and Animal Diseases* , Dr. Dharumadurai , D. (ed) , ISBN 978-953-307-804-5 . Available in:
- 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.
- Tayeb-Cherif, Y. et Menacer, I. (2016).** L'activité antibactérienne des huiles essentielles du *rosmarinus officinalis* et de *origanum vulgare* sur la bactérie *E.coli*. Master, Département de biologie animale, Université des Frères Mentouri, Constantine : 24 p.
- Tiachadine, W. et Mendil, M. (2017).** Caractérisation phytochimique de parite aérienne et des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae) de la région de Timezrit (Boumerdes). Diplôme de Master, Département de biologie, Université M'hamed Bougara, Boumerdes : 44 p .
- Touahri, A. M. et Boughari, S. K. (2014).** Action des poudres et des huiles essentielles de quelques plantes médicinales sur *Sitophilus oryzae* (Curculionidés Coléoptères). Memoire de Master en Agronomie, Departement de biologie. Universite Abou Bekr Belkaid, Telemcen : 47 p.
- Yann, G. (2010).** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : Aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de Doctorat, Departement des sciences, ingénierie et santé, Universite de Saint-Etienne- Jean-Monnet Jean-Monnet : 253 p .

**Sites Internet**

[1] : <https://www.senteursduquercy.com/content/49-gros-plan-sur-les-origans>

(Consulté le : 03/07/2019)

[2] :

<https://www.google.dz/maps/place/Maouna/@36.3674991,7.3829122,15z/data=!3m1!4m5!3m4!1s0x12f0f59cf9aaedbb:0xac0e4f73d512a21b!8m2!3d36.3675!4d7.391667?hl=fr>

(Consulté le : 03/07/2019)

# *Annexe*

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (Zymoseptoria tritici / Origanum floribundum)</b>						
concentrations	N	Moyenne	Groupement			
100,00%	3	8,044	A			
75,00%	3	7,703	A			
50,00%	3	5,086		B		
25,00%	3	1,4722			C	
0,00%	3	0				D
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (Zymoseptoria tritici / Lavandula stoechas)</b>						
concentrations	N	Moyenne	Groupement			
100,00%	3	2,914	A			
50,00%	3	1,192		B		
75,00%	3	1,1833		B		
25,00%	3	0				C
0,00%	3	0				C
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (Fusarium roseum / Origanum floribundum)</b>						
concentrations	N	Moyenne	Groupement			
100,00%	3	4,861	A			
50,00%	3	3,658		B		
75,00%	3	3,211		B		
25,00%	3	1,583			C	
0,00%	3	0				D
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (Fusarium roseum / Lavandula stoechas)</b>						
concentrations	N	Moyenne	Groupement			
100,00%	3	1,911	A			
75,00%	3	0,6611		B		
50,00%	3	0,425		B		
25,00%	3	0				C
0,00%	3	0				C
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (<i>Botrytis cinerea</i> / <i>Lavandula stoechas</i>) Diamètre interne</b>					
concentrations	N	Moyenne	Groupement		
100,00%	3	0,4389	A		
75,00%	3	0		B	
50,00%	3	0		B	
25,00%	3	0		B	
0,00%	3	0		B	
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>					

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (<i>Botrytis cinerea</i> / <i>Lavandula stoechas</i>) Diamètre externe</b>					
Concentrations	N	Moyenne	Groupement		
100,00%	3	0,5583	A		
75,00%	3	0		B	
50,00%	3	0		B	
25,00%	3	0		B	
0,00%	3	0		B	
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>					

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (<i>Botrytis cinerea</i> / <i>Origanum floribundum</i>) Diametre interne</b>						
concentrations	N	Moyenne	Groupement			
75,00%	3	3,811	A			
100,00%	3	3		B		
50,00%	3	1,458			C	
25,00%	3	0,4				D
0,00%	3	0				D
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

<b>Informations de groupement avec la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 0,001 (<i>Botrytis cinerea</i> / <i>Origanum floribundum</i>) Diamètre externe</b>						
Concentrations	N	Moyenne	Groupement			
75,00%	3	5,689	A			
100,00%	3	4,767	A			
50,00%	3	2,583		B		
25,00%	3	0,4667				C
0,00%	3	0				C
<i>Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.</i>						

**Tableau .** la composition chimique des huiles essentielles testées

No.	Compounds <sup>a</sup>	Indice de Kovats	• <i>Eucalyptus globulus</i>	• <i>Lavandula stoechas</i>	• <i>Origanum floribundum</i>
1	Tricyclene	921	-	0.66	-
2	$\alpha$ -thujene	928	-	-	0.51
3	$\alpha$ -pinene	941	14.23	1.75	1,93
4	camphene	953	4.60	7.31	0.39
5	sabinene	977	-	-	-
5	$\beta$ -pinene	978	0.35	0.08	0.22
6	$\beta$ -myrcene	992	-	-	3.57
7	$\alpha$ -phellandrene	998	-	-	-
8	$\Delta$ ,3-carene	1004	-	-	-
9	$\alpha$ -terpinene	1015	-	0.10	1.37
10	p-cymene	1018	-	-	18.35
11	o-cymene	1026	-	-	3.53
12	dl-limonene	1030	-	2.13	-
13	$\beta$ -ocimene	1040	-	-	0.07
14	d-pinocarvone	1042	4.31	-	-
15	1,8-cineole	1046	40.27	-	-
16	(E)-ocimene	1054	-	-	-
17	$\alpha$ -terpinolene	1063	0.46	-	-
18	$\gamma$ -terpinene	1065	0.25	0.10	11.32
19	trans-sabinene hydrate	1070	-	-	-
20	$\alpha$ -terpinolene	1088	-	-	0.32
21	$\alpha$ -thujone	1099	-	25.49	-
22	linalool L	1102	-	1.43	0.50
23	d-fenchyl alcohol	1139	-	6.85	-
24	l-camphor	1152	-	20.06	-
25	pinocarvone	1165	-	0.18	-
26	borneol L	1168	-	3.99	-
27	4-terpinenol	1178	0.39	0.83	-
28	p-cymene-8-ol	1182	-	0.94	-
29	$\alpha$ -terpineol	1190	-	-	-
30	myrtenal	1193	-	0.68	-
31	myrtenol	1195	0.28	0.56	-
32	verbenone	1205	-	0.88	-
33	fenchylacetate	1210	-	0.97	-
34	trans-(+)-carveol	1212	0.51	-	-
35	$\beta$ -citronellol	1217	-	0,36	-
36	isobornylformate	1233	-	0,13	-
37	pulegone	1237	-	-	-
38	cuminic aldehyde	1240	-	-	-

39	<b>l-carvone</b>	<b>1241</b>	-	<b>0.51</b>	-
40	<b>carvacrol methyl ether</b>	<b>1244</b>	<b>0.30</b>	<b>0.96</b>	-
41	<b>citrol</b>	<b>1255</b>	<b>0.11</b>	-	-
42	<b>piperitone</b>	<b>1258</b>	-	-	-
43	<b>l-bornyl acetate</b>	<b>1285</b>	<b>0.08</b>	<b>5.51</b>	-
44	<b>thymol</b>	<b>1286</b>	-	-	<b>2.04</b>
45	<b>p-cymen-7-ol</b>	<b>1291</b>	-	-	-
46	<b>carvacrol</b>	<b>1299</b>	-	-	<b>46.82</b>
47	<b>piperitenone</b>	<b>1339</b>	-	-	<b>1.18</b>
48	<b><math>\gamma</math>-pyronene</b>	<b>1345</b>	-	-	-
49	<b><math>\alpha</math>-cubebene</b>	<b>1351</b>	-	<b>0.09</b>	-
50	<b>eugenol</b>	<b>1359</b>	-	-	-
51	<b>(+)-cyclosativene</b>	<b>1362</b>	-	<b>0.25</b>	-
52	<b>copaene</b>	<b>1375</b>	<b>0.05</b>	<b>0.15</b>	-
53	<b>carvacryl acetate</b>	<b>1391</b>	-	-	-
54	<b>methyl eugenol</b>	<b>1398</b>	-	-	-
55	<b>calarene</b>	<b>1409</b>	<b>0.19</b>	-	-
56	<b><math>\alpha</math>-humulene</b>	<b>1413</b>	<b>0.17</b>	-	-
57	<b>trans-caryophyllene</b>	<b>1418</b>	-	<b>0.11</b>	<b>2.00</b>
58	<b>(+)-aromadendrene</b>	<b>1440</b>	<b>2.53</b>	-	-
59	<b><math>\beta</math>-patchoulene</b>	<b>1441</b>	-	-	-
60	<b><math>\beta</math>-elemene</b>	<b>1445</b>	-	-	-
61	<b>caryophyllene</b>	<b>1454</b>	<b>0.16</b>	-	<b>0.21</b>
62	<b>aromadendrene</b>	<b>1467</b>	-	-	-
63	<b><math>\alpha</math>-gurjunene</b>	<b>1475</b>	<b>0.31</b>	-	-
64	<b>trans-<math>\beta</math>-farnesene</b>	<b>1479</b>	-	-	-
65	<b><math>\gamma</math>-gurjunene</b>	<b>1481</b>	<b>0.31</b>	-	-
66	<b><math>\alpha</math>-curcumen</b>	<b>1482</b>	-	-	<b>0.15</b>
67	<b>germacrene-D</b>	<b>1485</b>	-	<b>0.11</b>	-
68	<b>ledene</b>	<b>1489</b>	<b>0.95</b>	-	<b>0.15</b>
69	<b><u><math>\alpha</math>-guaiene</u></b>	<b>1491</b>	<b>0.04</b>	-	-
70	<b><math>\beta</math>-selinene</b>	<b>1493</b>	<b>0.04</b>	-	-
71	<b>eremophilene</b>	<b>1502</b>	<b>0.41</b>	-	-
72	<b><math>\alpha</math>-muurolene</b>	<b>1504</b>	-	-	-
73	<b><math>\delta</math>-guaiene</b>	<b>1505</b>	<b>1.37</b>	-	-
74	<b>bicyclogermacrene</b>	<b>1505</b>	-	-	-
75	<b><math>\beta</math>-bisabolene</b>	<b>1506</b>	-	<b>0.03</b>	<b>0.41</b>
76	<b><math>\alpha</math>-amorphene</b>	<b>1511</b>	<b>0.04</b>	-	<b>0.06</b>
77	<b><math>\gamma</math>-cadinene</b>	<b>1513</b>	<b>0.16</b>	-	-
78	<b><math>\Delta</math>-cadinene</b>	<b>1524</b>	<b>0.09</b>	<b>0.53</b>	-

<b>79</b>	<b>β-sesquiphellandrene</b>	<b>1525</b>	-	-	<b>1.34</b>
<b>80</b>	<b>zingiberene</b>	<b>1526</b>	-	-	-
<b>81</b>	<b>cadina-1,4-diene</b>	<b>1532</b>	-	<b>0.13</b>	-
<b>82</b>	<b>ledol</b>	<b>1560</b>	-	-	-
<b>83</b>	<b>(-)-allospathulenol</b>	<b>1576</b>	-	-	-
<b>84</b>	<b>spathulenol</b>	<b>1581</b>	-	-	-
<b>85</b>	<b>caryophyllene oxide</b>	<b>1582</b>	-	<b>0.48</b>	<b>0.54</b>
<b>86</b>	<b>veridiflorol</b>	<b>1587</b>	<b>8.14</b>	<b>1.89</b>	-
<b>87</b>	<b>caryophyllenol-I</b>	<b>1641</b>	-	<b>0.34</b>	-
<b>88</b>	<b>t-muurolol</b>	<b>1641</b>	-	-	-
<b>89</b>	<b>torreyol</b>	<b>1643</b>	-	<b>0.22</b>	-
<b>90</b>	<b>isospathulenol</b>	<b>1644</b>	-	-	-
<b>91</b>	<b>cadalin</b>	<b>1652</b>	-	<b>0.15</b>	-
<b>92</b>	<b>(Z,Z)-farnesal</b>	<b>1720</b>	-	-	-
<b>93</b>	<b>trans-farnesol</b>	<b>1722</b>	-	-	-
<b>94</b>	<b>farnesal</b>	<b>1738</b>	-	-	-
<b>95</b>	<b>farnesylacetate 3</b>	<b>1825</b>	-	-	-