

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

Université 20 Août 1955 Skikda

Faculté des Sciences

Département des Sciences Agronomiques



Filière : Sciences Agronomiques

Option : Amélioration des Plantes

**Mémoire de fin d'études :**

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en **Amélioration des plantes**

**Thème :**

Effet antifongique de l'huile essentielle du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)  
de la région de Skikda.

**Présenté par :**

- Guetteche Dounyazed
- Khelfa Abdelkader

**Membres de Jury:**

Mr : Hanachi Abdelhakim	(MCB)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mr : Boulechfar Mohamed	(MAA)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mr : Boughendjioua Hicham	(MCA)	Promoteur	ENSET de Skikda

Année universitaire : 2021-2022

## Résumé :

Ce travail a fait l'objet d'une étude concernant l'activité antifongique de l'huile essentielle du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) (Bio-pesticide) vis-à-vis d'un champignon phytopathogène (*Fusarium oxysporum*). L'hydrodistillation constitue une méthode adéquate pour l'extraction en termes de rendement. Dans un second lieu nous nous sommes intéressés à la détermination des caractéristiques organoleptiques (Aspect, odeur et couleur), et de quelques indices physico-chimiques (Indice de réfraction, échelle de Brix et le potentiel d'hydrogène), en plus de l'étude de la composition chimiques de l'huile essentielle, une technique d'investigation a été utilisée ; la chromatographie sur couche mince (CCM). Les tests antifongiques se révèlent positifs, cette activité inhibitrice semble principalement liée au  $\alpha$ -pinène-verbénone, Myrcène, Amphre-bornéol et Cinéole.

**Mots clés :** Romarin, huile essentielle, caractéristiques organoleptiques, indices physico-chimiques, profil chimique, activité antifongique, *Fusarium oxysporum*.

## Abstract :

This work was the subject of a study concerning the antifungal activity of the essential oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) (Bio-pesticide) against a phytopathogenic fungus (*Fusarium oxysporum*). Hydrodistillation is an adequate method for extraction in terms of yield. In a second place we were interested in the determination of the organoleptic characteristics (Appearance, smell and color), and of some physico-chemical indices (Refractive index, Brix scale and the hydrogen potential), in addition to the study of the chemical composition of the essential oil, an investigation technique was used; thin layer chromatography (TLC). Antifungal tests are positive, this inhibitory activity seems mainly linked to  $\alpha$ -pinene-verbenone, Myrcene, Amphre-borneol and Cineole

**Key words:** Rosemary, essential oil, organoleptic characteristics, physico-chemical indices, chemical profile, antifungal activity, *Fusarium oxysporum*.

## المخلص:

هذا العمل هو موضوع دراسة حول النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري لإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L) كمضاد بيولوجي على فطر يصيب النباتات (*Fusarium oxysporum*). يعتبر التقطير المائي الطريقة المناسبة لاستخراج الزيت العطري من إكليل الجبل من حيث المردود. في المقام الثاني، اهتمنا بتحديد الخصائص الحسية (المظهر، الرائحة و اللون)، و بعض المؤشرات الفيزيوكيميائية (معامل الانكسار، مقياس البريكس و الأس الهيدروجين)، بالإضافة إلى دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري حيث تم استخدام طريقة للتحقيق؛ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. أثبتت الاختبارات المضادة للفطريات للزيت الأساسي أنه فعال، و يبدو أن هذه النشاط مرتبطة بشكل أساسي للألفا بينان فريبنون، ميرسين، أنفر-بورنيول و السينيول.

**الكلمات المفتاحية:** إكليل الجبل، زيت عطري، الخصائص الحسية، المؤشرات الفيزيوكيميائية، المظهر الكيميائي، النشاط المضاد للفطريات، فطر فيساريوم أوكسيسبوريوم.

# Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier et en premier lieu ALLAH, le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour mener à bonne fin ce travail.

Nous tenons à remercier notre aimable encadreur **Dr. Boughendjioua Hicham** promoteur de ce mémoire pour sa compétence, ses conseils judicieux et son soutien tout au long de l'élaboration de ce travail.

A tous les enseignants du département des sciences agronomiques de l'université de Skikda.

Les **membres de jury** pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger notre travail.

Enfin, un grand merci à tous ceux et toutes celles qui d'une manière ou d'une autre nous ont aidé et soutenu de près ou de loin.

# Dédicaces

A mes chers parents ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement.

A mes frères et ma sœur.

A mes amies et mes camarades.

A mon encadreur: **Dr. Hicham Boughendjioua.**

A toutes les personnes qui ont contribué au succès de ce travail.

**GUETTECHE DOUNYAZED**

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs: **Soumiya, Sihem, Nourelhouda, Rania, Sana et Khaira** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mon cher frère: **Abdelhak** pour son appui et son encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible,

Merci d'être toujours là pour moi.

**KHELFA ABDELKADER**

## SOMMAIRE

Titre	Page
<b>Introduction</b>	09
<b>PARTIE THEORIQUE</b>	
<b>Chapitre I: Les plantes médicinales</b>	
1. Historique	12
2. Généralité	12
3. Définition	13
4. Parties des plantes médicinales utilisées	13
5. Les formes d'utilisation des plantes médicinales	13
6. Mode d'emploi des plantes médicinales	14
7. Importance de l'utilisation des plantes médicinales	14
8. Les avantages des plantes médicinales	14
9. Les inconvénients des plantes médicinales	14
10. Intérêt de l'étude des plantes médicinales	15
11. La phytothérapie	15
12. La Pharmacognosie	15
<b>Chapitre II: Métabolites secondaires</b>	
1. Généralités	18
2. Définition	18
3. Fonction biologique	18
4. Classification des métabolites secondaires	18
4.1. Les huiles essentielles	19
4.2. Les flavonoïdes	19
4.3. Les alcaloïdes	19
4.4. Les hétérosides	19
4.5. Les tanins	19
4.6. Les oléorésines	19
4.7. Les résines	19
4.8. Les oxalates	20
<b>Chapitre III: Les huiles essentielles</b>	
1. Définition	22
2. Caractérisation d'huiles essentielles	22
3. Etat naturel et répartition	22
4. Localisation	22
5. Propriétés physiques	23
6. Extraction	23
7. Classification des huiles essentielles	24
8. Emploi des huiles essentielles	25
9. La conservation des huiles essentielles	25
10. Toxicité des huiles essentielles	25
11. Rôle écologique	26
12. Caractéristiques économiques	26
13. Activités biologiques des huiles essentielles	27
14. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles	28
15. Composition chimique des huiles essentielles	28
15.1. Principales structures chimiques	29
16. Les chémotypes des huiles essentielles	30

<b>Chapitre IV: <i>Rosmarinus officinalis</i></b>	
1. Historique	33
2. Description botanique et habitat	33
3. Classification botanique : (Classification de Cronquist)	34
4. Nom vernaculaires	34
5. Synonymie	34
6. Période de floraison	35
7. Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35
<b>Chapitre V: <i>Fusarium oxysporum</i>.</b>	
1. Les champignons phytopathogènes	39
2. Les dix principaux champignons phytopathogènes	39
3. <i>Fusarium oxysporum</i>	40
3.1. Classification	40
3.2. Synonymes	40
4. Cycle de vie	41
<b>PARTIE PRATIQUE</b>	
<b>Matériels et méthodes</b>	
1. Choix du matériel végétal	45
1.1. Échantillonnage	45
1.2. Partie employée	45
1.3. Méthodes d'extraction	45
2. Caractéristiques organoleptiques	46
2.1. Odeur	46
2.2. Couleur	46
2.3. Aspect	46
3. Propriétés physico-chimiques	46
3.1. Indice de réfraction	46
3.2. Échelle de Brix	47
3.3. Potentiel d'hydrogène	48
4. Chromatographie sur couche mince (CCM)	49
5. Évaluation de l'activité antifongique	50
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Expression du rendement d'extraction	53
2. Propriétés organoleptiques	54
3. Propriétés physico-chimiques	54
3.1. Indice de réfraction	54
3.2. Échelle de Brix	54
3.3. Potentiel d'hydrogène	54
4. Chromatographie sur couche mince (CCM) (Interprétation des taches (Calcul du Rf))	55
5. Activité antifongique	56
<b>Conclusion</b>	58
<b>Références bibliographiques</b>	59

## LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
<b>Tableau n° 01:</b> Partie utilisée et quantité de la prise d'essai.	45
<b>Tableau n° 02:</b> Temps nécessaire pour le traitement de la matière végétale.	46
<b>Tableau n° 03:</b> Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de la cannelle du Romarin selon la norme AFNOR NFT 7.	54
<b>Tableau n° 04:</b> Indice de réfraction obtenu.	54
<b>Tableau n° 05:</b> Échelle de Brix obtenue.	54
<b>Tableau n° 06:</b> Potentiel d'hydrogène obtenu.	54
<b>Tableau n° 07:</b> Rapports frontaux de la solution de référence.	55
<b>Tableau n° 08:</b> Interprétation du chromatogramme.	55
<b>Tableau n° 09:</b> Diamètres d'inhibition de croissance du champignon.	56

## LISTE DES FIGURES

Titre	Page
<b>Figure n° 01:</b> Composés monoterpéniques.	29
<b>Figure n° 02:</b> Composés sesquiterpéniques.	29
<b>Figure n° 03:</b> Composés diterpéniques.	30
<b>Figure n° 04:</b> Composés triterpéniques.	30
<b>Figure n° 05:</b> <i>Rosmarinus officinalis</i> .	33
<b>Figure n° 06:</b> Planche botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	34
<b>Figure n° 07:</b> Période de floraison de <i>Rosmarinus officinalis</i> selon différentes études.	35
<b>Figure n° 08:</b> Acide rosmarinique.	36
<b>Figure n° 09:</b> Acide carnosique.	36
<b>Figure n° 10:</b> Carnosol.	36
<b>Figure n° 11:</b> <i>Fusarium oxysporum</i> .	40
<b>Figure n° 12 :</b> Dispositif de l'hydrodistillation.	45
<b>Figure n° 13:</b> Appareil à mesurer l'indice de réfraction.	47
<b>Figure n° 14:</b> Appareil à mesurer l'indice de Brix.	48
<b>Figure n° 15:</b> Papier pH utilisé.	48
<b>Figure n° 16:</b> Matériel de la chromatographie sur couche mince.	50
<b>Figure n° 17:</b> Activité antifongique.	51
<b>Figure n° 18:</b> Rendement obtenu.	53
<b>Figure n° 19:</b> Inhibition de la croissance du champignon par l'huile essentielle.	57
<b>Figure n° 20:</b> Taux d'inhibition de l'huile essentielle vis-à-vis du champignon.	57

## **Introduction :**

Depuis toujours, les huiles essentielles, et plus généralement les plantes aromatiques, ont été utilisées quotidiennement par l'Homme pour se parfumer, cuisiner et se soigner. L'histoire de l'aromathérapie a connu quatre périodes principales. Dans les temps les plus anciens, les plantes aromatiques étaient utilisées entières, généralement en infusion ou décoction. Dans une seconde époque, elles ont été brûlées ou mises à macérer dans des huiles végétales.

L'activité est alors attribuée aux substances odorantes. La période qui a suivi est celle de l'extraction de cette substance odorante et de la création de la distillation. La notion d'huile essentielle fait alors son apparition. La quatrième et actuelle période correspond au développement des connaissances sur les huiles essentielles par tous les moyens modernes, que cela concerne leurs propriétés physiques, chimiques ou physiologiques et leurs toxicités.

L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatique et médicinales y pousse spontanément. Pour cela, l'intérêt porté à ces plantes n'a cessé de croître au cours de ces dernières années.

Sacrée dès l'Antiquité pour ses vertus, l'utilisation du Romarin a perduré à travers les âges en tant que plante aromatique et médicinale. Il s'inscrit aujourd'hui comme alternative intéressante dans les problématiques environnementales dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique, etc...

Le Romarin, son huile essentielle, ses extraits, ses molécules ont fait l'objet de très nombreuses études *in vitro* dans divers domaines dont les résultats sont relativement prometteurs mais nécessitent des études supplémentaires pour confirmer le potentiel de cette plante.

Ce mémoire a pour but de montrer le lien entre la composition chimique et l'activité antifongique de l'huile essentielle du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) en termes d'usage externe (Bio-pesticide) contre un champignon phytopathogène (*Fusarium oxysporum*).

La première partie de ce mémoire est consacrée aux données bibliographiques.

Dans la seconde partie, nous donnons des résultats sur la caractérisation et l'activité antifongique de l'huile essentielle du Romarin:

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques,
- Déterminer ses indices physico-chimiques,
- Obtenir son profil chimique,
- Tester son activité antifongique.

# **PARTIE THEORIQUE.**

# **Chapitre I: Les plantes médicinales.**

## **1. Historique :**

Depuis les temps les plus reculés, la préoccupation de l'homme a été la satisfaction de ses besoins alimentaires. Il a développé ainsi une relation intime avec le milieu qui l'entourait. Pour se soigner, il a appris à ses dépens à discerner les ressources végétales animales nécessaires à sa survie, pour cela il s'est inspiré des mœurs des animaux, de son expérience et parfois de son imagination (**Ayad, 2018**).

Les plantes médicinales font partie de l'histoire de tous les continents: en Chine et en Inde, à travers les siècles, le savoir concernant les plantes s'est organisé, documenté et a été transmis de génération en génération.

Jusqu'au XIXe siècle, les médecines se contentaient, pratiquement, de puiser dans la « pharmacie du bon dieu » pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale, etc...). Poursuivant leurs recherches au début du XXe siècle, ils ont fabriqués des molécules synthétiques (**Larousse, 2018**).

Aujourd'hui, le recours à la médecine par les plantes connaît un regain d'intérêt dans les pays occidentaux, particulièrement pour traiter les déséquilibres entraînés par la vie moderne, qu'il s'agisse du stress ou des problèmes de poids. Le recours à la médecine par les plantes devient quotidien, sous forme de prévention, et n'est plus réservé au traitement des maladies. Récemment, des médecins et des professeurs dynamiques ont créé des centres de formation en phytothérapie (dans des universités ou dans des institutions privées). Ils expérimentent de nouvelles plantes, modernisant la présentation des médicaments et rendent ceux-ci plus efficaces. Aujourd'hui, les plantes ont montrés leurs efficacités thérapeutiques prouvées et leurs bienfaits incontestables pour notre santé (**Newman et al., 2000**).

## **2. Généralité :**

On appelle plantes médicinales ou pharmaceutiques, toute plantes qui a été séchée ou traitée selon des méthodes, et employée dans la préparation des médicaments (**Thurzova, 1978**).

Les préparations pharmaceutiques dans le monde utilisent environ 300 espèces de plantes médicinales et aromatiques. En plus les plantes sont utilisées généralement en tisanes, extraits et teintures (**Frantisek, 1992**).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité, elles sont des usines chimiques naturelles, produisant des substances actives biochimiques : alcaloïdes, huiles essentielles, flavonoïdes, tanins,... et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (**Schauenberg et Paris, 1997**).

Aujourd'hui, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaire végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites (**Hostettman et Cook, 1989; Poteratte et al., 1998**).

Les plantes médicinales sont très importantes comme plantes économiques, elles contiennent des principes actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies, après

leur isolement, et on peut aussi les employer dans les industries pharmaceutiques, alimentaires, des cosmétiques et des parfums (**Bouacherine et Benrebia, 2017**).

### **3. Définition :**

Il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Khireddine, 2013**).

Elles sont impliquées dans différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont (**Iserin, 1996**).

A l'échelle internationale, plus de 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Boumediou et Addoun, 2017**).

L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles des plantes extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne (**Farnsworth et al., 1985**).

### **4. Parties des plantes médicinales utilisées :**

En phytothérapie, on utilise la plante entière ou seulement une partie de la plante (la feuille, la fleur, la sommité fleurie). Chaque organe peut contenir des principes actifs spécifiques et donc avoir un effet particulier.

Les parties des plantes utilisées par ordre de croissances sont:

- Les feuilles,
- La tige,
- L'écorce,
- Le bois,
- Les bourgeons,
- Les racines, les rhizomes, les bulbes,
- Les fleurs,
- Les sommités fleuries,
- Les fruits (ex: jus), la queue des fruits,
- Les graines (**Chevallier, 2017**).

### **5. Les formes d'utilisation des plantes médicinales :**

Il existe plusieurs formes d'utilisation des plantes dont les plus connues sont:

- Les tisanes,
- Les poudres,
- Les extraits (teintures, suspensions intégrales de plantes fraîches...),
- Les gélules,
- Les comprimés,
- Les pommades,
- Les huiles essentielles (substances volatiles obtenues le plus souvent par entraînement à la vapeur d'eau).

## **6. Mode d'emploi des plantes médicinales :**

Certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faible dose. Le fait que l'on n'utilise que des plantes ne signifie pas que cela est sans danger, la culture libre de certaines plantes est interdite dans certains pays, le cas le plus courant étant le pavot dont la culture est réglementée en France et destinée à la seule industrie pharmaceutique.

La pharmacologie reconnaît l'action bénéfique de certaines plantes et s'attache donc à extraire le principe actif de ces plantes. La consommation « brute » de la plante induit la consommation d'autres produits contenus dans la plante que le principe actif, ne permettant ainsi pas de connaître la dose exacte de principe actif ingéré entraînant un risque de sous dosage ou de sur dosage ou de surdosage. Pour certains médecins phytothérapeutes, les autres principes vont atténuer les effets secondaires en entrant en interaction.

La composition d'une plante peut varier d'un spécimen à l'autre, dépendant du terrain, des conditions de croissance, humidité, température, ensoleillement, qui vont déterminer ce que l'on appelle en aromathérapie le hémotype. De même, il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse, puisque les facteurs de pollution, la cueillette et les méthodes de conservation, de stockage... Peuvent altérer les propriétés des plantes (**Gahbich, 2009**).

## **7. Importance de l'utilisation des plantes médicinales :**

Il est acquis que les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien (**Anonyme, 2005**).

## **8. Les avantages des plantes médicinales :**

Généralement, les plantes médicinales d'usage courant ne provoquent que très peu, voire aucun effet indésirable: c'est l'un de leurs principaux avantages. De plus, l'action synergique des divers constituants commence à être mieux comprise et acceptée scientifiquement (**Decaux, 2002**), contrairement à certaines croyances populaires, plusieurs plantes ont des effets pratiquement immédiats sur le métabolisme (**Pinto et al., 2003; Salgueiro et al., 2003**).

Par contre, les médicaments de synthèses ont souvent une action plus directe et plus spectaculaire puisqu'ils sont formulés pour être immédiatement assimilés par l'organisme. Il est également plus facile de s'assurer de leur composition exacte, de leurs conditions de conservation (**Mills, 2001**).

## **9. Les inconvénients des plantes médicinales :**

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc...), sont toxiques et ne sont utilisées sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles (**Williamson, 2001**).

## **10. Intérêt de l'étude des plantes médicinales :**

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (**Bahorun, 1997**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmaceutique ment actifs (**Iserin, 2001**).

Il est d'abord intéressant de remarquer que 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre (**Anthoula, 2003**).

Parmi les derniers médicaments obtenus à partir des plantes : le taxol isolé de l'if (*Taxusbaccata*, Taxaceae) qui a sa place dans le traitement des cancers gynécologiques. L'artémisinine, substance isolée d'une armoise chinoise (*Artemisiaaannua*, Asteraceae) est utilisée dans le traitement des formes résistantes de malaria. On peut encore citer la galanthamine, obtenue de la perce-neige (*Galanthusnivalis*, Amaryllidaceae), utilisée depuis peu dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le ginkgo (*Ginkgo biloba*, Ginkgoaceae) est certainement la plante réalisant le plus grand chiffre d'affaires. Il est utilisé sous forme d'extrait lors de troubles de la circulation cérébrale, comme le manque de concentration et les pertes de mémoire (**Berroua, 2016**).

Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées huiles essentielles (**Verdrager, 1978**). Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens, antifongiques et antioxydant (**Bruneton, 1999**).

## **11. La phytothérapie :**

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives. À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Si certaines pratiques médicinales paraissent étranges et relèvent de la magie, d'autres au contraire semblent plus fondées, plus efficace. Pourtant, toutes ont pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer la santé des hommes (**Andrew, 2001**).

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: phuton et therapeia qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées en voie externe (**Chabrier, 2010**).

## **12. La Pharmacognosie :**

La pharmacognosie a été inventée par la fusion de deux mots grecs Pharmakon (drogue ou médicament) et Gnos (connaissance), c'est une discipline fondée sur la

connaissance scientifique des matières premières et des substances naturelles de l'environnement qui ont été sélectionnées au cours des siècles pour la thérapeutique ou qui ont fait leur preuves cliniques dans la médecine actuelle. Cette science est fortement liée à la botanique et à la chimie des plantes, en effet, ces deux disciplines sont l'origine des dernières études sur les plantes médicinales (**Gacemi, 2014**).

## **Chapitre II: Métabolites secondaires.**

### **1. Généralités :**

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (Merghem, 2009), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (Hopkins, 2003).

Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaire à leur croissance et à leur développement (Raven et al., 2000). Par opposition les métabolites secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolismes primaire et résultent des réactions chimiques ultérieures (Croteau et al., 2000; Raven et al., 2000).

### **2. Définition :**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Lutge et al., 2002; Abderrazak et Joël, 2007; Boudjouref, 2011). Ce sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie) (Newman et Cragg, 2012).

Ces métabolites secondaires interviennent dans la structure des plantes (lignines et tannins) mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (Gobbi et Khebbaz, 2014).

Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux a des stress varies : action anti-herbivore (menthe par exemple), inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et lumière UV. Mais elles peuvent être antinutritifs. Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (Sandrin, 2004).

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales. (Gobbi et Khebbaz, 2014).

Sur le plan pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la fraction la plus active des composés chimiques présents chez les végétaux et on estime aujourd'hui qu'environ 1/3 des médicaments actuellement sur le marché contiennent au moins une telle substance végétale (Newman et Cragg, 2012).

### **3. Fonction biologique :**

La valeur adaptative de la plupart des métabolites secondaires est longtemps restée inconnue. On les considérait simplement comme les produits finaux de processus métaboliques, sans fonction spécifique, ou comme des déchets. En raison de la perception dominante de leur insignifiance biologique, ils ont traditionnellement reçu peu d'attention de la part des botanistes. Beaucoup des fonctions de ces métabolites secondaires sont encore inconnues. À la fin du xix<sup>e</sup> siècle et au début du xx<sup>e</sup> siècle, les chercheurs en chimie organique ont commencé à étudier ces substances en raison de leur importance en tant que médicaments, poisons, arômes, adhésifs, huiles, cires, et autres matériaux utilisés dans l'industrie. En fait, l'étude des métabolites secondaires des plantes a stimulé le développement de techniques de séparation, la spectroscopie pour élucider leur structure et les méthodes de synthèse qui forment la base de la chimie organique moderne. Des études biologiques plus récentes ont permis de démontrer que la plupart des métabolites secondaires exercent des fonctions de défense contre les prédateurs et les agents pathogènes, agissant comme agents allélopathiques (qui ont des effets sur d'autres plantes), ou pour attirer les pollinisateurs ou comme disséminateurs des graines (Swain, 1973; Levin, 1976; Cronquist, 1977).

### **4. Classification des métabolites secondaires :**

Les métabolites secondaires dépassant actuellement 100 000 substances identifiées, Ils appartiennent à trois grandes familles:

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, anthocyanidines, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes (**Merghem, 2009**).

#### **4.1. Les huiles essentielles :**

Extraites des plantes par distillation, les huiles essentielles comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contiennent telles qu'elles dans les plantes des composés oxygénés, parfois d'origines terpénoïde et possédant un noyau aromatique.

#### **4.2. Les flavonoïdes :**

Présent dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou blanc, ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie.

#### **4.3. Les alcaloïdes :**

Sont des substances végétales azotées possédant des réactions basiques et formant des sels avec les acides. Ils ont généralement une saveur amère lorsqu'ils sont isolés, les alcaloïdes se présentent le plus souvent sous l'aspect de cristaux, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques.

Les alcaloïdes rencontrent généralement dans toutes les parties de la plante, la teneur d'un végétal en alcaloïdes varie relativement peu avec le climat, et la saison (**Brunton, 1993**).

Le mode d'action des alcaloïdes varie : ils agissent fréquemment sur le système nerveux (solanacées, ombellifères, pavot, Tabac...), certains attaquent le foie (destruction des cellules hépatiques alcaloïdes pyrrolizidiniques); quelques-uns ont une action directe sur le cœur (légumineuses) ou sur la musculature lisse (Ergot de seigle) (**Mori et al., 1972**).

#### **4.4. Les hétérosides :**

Sont des composés qui libèrent par hydrolyse, les Hétérosides peuvent être classés en deux grands groupes suivant la liaison entre le sucre et l'aglycone :

Chez les O-hétérosides, il s'agit d'un atome d'oxygène.

Chez les S-hétérosides, d'un atome de soufre (**Johnson, 1990**).

#### **4.5. Les tanins :**

Sont des substances végétales qui se combinent avec les protéines pour donner des composés insolubles, les plantes renferment des tanins sont astringentes, ce qui peut être utile en cas de diarrhée. Mais de fortes concentrations sont dangereuses, les Fagacées, les Salicacées et les Rosacées sont parmi les familles les plus riches en Tanins.

#### **4.6. Les oléorésines :**

Ce sont des mélanges d'huiles essentielles et de résine, rencontrés chez les conifères et connus sous le nom de Térébenthines. L'ingestion d'essence de térébenthine, substance concentrée, est dangereuse: elle peut provoquer de graves irritations, en particulier des lésions rénales avec hématurie.

#### **4.7. Les résines :**

Ils sont solides ou pâteux à température ambiante, se cassent, fondent et brûlent facilement. Ils sont solubles dans un grand nombre de solvants organiques, mais pas dans l'eau, et ne renferment pas d'azote.

L'action physiologique des résines consiste souvent en l'irritation directe du tissu nerveux ou musculaire (**Groor et Raven, 1998**).

#### **4.8. Les oxalates :**

L'acide oxalique, corrosif à l'état isolé, est présent chez de nombreux végétaux sous formes de sels solubles (oxalates de sodium et de potassium) ou insolubles (oxalates de calcium). Les oxalates insolubles sont excrétés sans effets, les oxalates sont rapidement absorbés.

Cette absorption détermine la chute du calcium dans le sérum, provoquant des troubles nerveux, la réduction de la vitesse de coagulation du sang. Une petite dose d'oxalates est facilement éliminée par les reins, des quantités plus importantes résultent dans la précipitation de cristaux d'oxalates dans les tubules rénaux, dans certain cas les reins deviennent incapables de fonctionner (**Lobel, 1998**).

## **Chapitre III: Les huiles essentielles.**

### **1. Définition :**

Ces produits, appelés communément essence, sont les substances odorantes volatiles contenues dans les végétaux. Leur volatilité les oppose aux huiles fixes qui sont des lipides. Ces huiles essentielles sont mélanges de constituants plus ou moins nombreux, généralement liquides (**Paris et Moyses, 1976**).

La définition d'une huile essentielle donnée par la pharmacopée française est aussi restrictive puisqu'elle exclut aussi bien les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé (**Bruneton, 1993**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.).

Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rosier), soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante (**Anton et Lobstein, 2005**).

### **2. Caractérisation d'huiles essentielles :**

La caractérisation des huiles essentielles – et d'ailleurs de tout mélange naturel – peut prendre plusieurs aspects en fonction du besoin et de l'objectif assigné.

Ainsi, dans la très grande majorité des huiles essentielles, les 15-25 composés majoritaires représentent 80-95% de la composition globale et sont donc suffisants pour caractériser cette huile essentielle.

Il faut toutefois signaler que la connaissance des composés minoritaires est parfois un paramètre important de la qualité biologique ou organoleptique du produit et qu'en conséquence une analyse fine est nécessaire.

Il faut également signaler qu'une analyse peut être totalement faussée par la mauvaise identification d'un seul constituant (**Sutour, 2010**).

### **3. Etat naturel et répartition :**

Elles se rencontrent dans tout le règne végétal ; Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles : Conifères, Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Labiées. Tous les organes peuvent en renfermer, surtout les sommités fleuries (Lavandes, Menthes, Mélisse, ect.), mais on en trouve dans les racines ou rhizomes (Vétiver, Curcuma, Gingembre), les écorces (Cannelles), le bois (Camphrier, Sassafras), les fruits (Poivres, Badiane, fruit d'Ombellifères, de Citrus), les graines (noix de muscade).

A noter que, pour une même espèce, la composition des essences peut varier d'un organe à l'autre et suivant les conditions du milieu. En climat chaud, la teneur en huile essentielle est plutôt élevée (**Paris et Moyses, 1976**).

Quantitativement, les teneurs en l'huile essentielle sont plutôt faible, assez souvent inférieures à 1% (**Belaiche, 1991**).

### **4. Localisation :**

Au point de vu de la localisation dans la plante, les huiles essentielles peuvent se former dans des cellules non différenciées, ou plus grosses (Lauracées).

Le plus souvent, elles sont localisées dans des organes sécréteurs : poils des Labiées et des composées : l'essence formée s'accumule sous la cuticule ; poches sécrétrices schizogènes des Myrtacées, résultant de division répétée d'une cellule et de l'écartement des cellules filles laissant un méat ou s'accumule l'essence ; poches schizolysigène des Rutacées ou il y a d'abord formation d'un méat, puis lyse d'une partie du tissu sécréteur de bordure ; canaux

sécréteurs, dont le produit de sécrétion renferme également des résines (**Paris et Moïse, 1976**).

### 5. Propriétés physiques :

- Ce sont des liquides à la température ordinaire.
- Volatiles, odorant.
- Généralement incolores ou jaune pâle.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1.
- Leur indice de réfraction souvent élevé avec un pouvoir rotatoire.
- Peu soluble dans l'eau, solubles dans l'alcool et solvant organique.

(**Paris et Hurabielle, 1980**).

### 6. Extraction :

1) On les obtient le plus généralement par **distillation** et entraînement par la vapeur d'eau. Les plantes sont placées dans un alambic. On fait passer à travers les végétaux un courant de vapeur d'eau ou bien on fait bouillir directement l'eau dans laquelle ont été mises les plantes entières, contuses ou broyées lorsqu'il s'agit d'organes durs (écorces, racines). Les principes volatils ne se dissolvent que très partiellement dans l'eau et l'essence peut être séparée par décantation du distillat après refroidissement.

On se sert le plus souvent pour recueillir les essences d'un récipient florentin à tubulure latérale : les essences moins denses que l'eau, sont séparées à la partie supérieure, les autres à la partie inférieure.

Au cours de l'opération, l'eau saturée d'essence est «cohobée », c'est-à-dire renvoyée dans l'alambic.

On peut saturer le distillat avec un sel neutre et l'épuiser par un solvant très volatil (éther, pentane), qui ensuite évaporé sous vide.

Cette méthode est très générale ; cependant, elle ne peut être utilisée lorsque les constituants de l'essence sont altérables par la chaleur.

2) Pour certaines essences comme celles des fruits de citrus (Orange, Citron), on a avantage à opérer par **expression** à froid du zeste frais. Celle-ci peut se faire à la main (procédés à la cuillère, à l'écuelle), ou après scarification mécanique.

3) L'extraction directe des plantes par des **solvants** volatils (hydrocarbures, alcools) puis distillation est très utilisée en parfumerie ou l'on prépare des «concrètes » et des essences dites «absolues » (soluble dans l'alcool à froid).

4) Pour les organes fragiles on peut pratiquer l'**enfleurage**, c'est-à-dire le contact avec un corps gras (axonge) qui se sature d'essence. Le corps gras est épuisé par l'alcool absolu et ce solvant est évaporé sous vide.

Les essences extraites d'une même plante par ces différentes méthodes n'ont pas exactement la même composition. Les Pharmacopées n'admettent que les deux premiers procédés. Les essences ainsi obtenues sont purifiées par distillation fractionnée, ce qui permet de se débarrasser des constituants malodorants (amines, furfural) ou irritants (aldéhydes : essence de Niaouli).

Les hydrocarbures terpéniques sont souvent éliminés (essences déterpénées), car, étant insaturés, ils sont de mauvaise conservation et irritant pour la peau. Ces alcools déterpénées sont plus solubles dans les alcools faibles (**Paris et Moïse, 1976**).

## **7. Classification des huiles essentielles :** **(En fonction de leur pouvoir antiseptique) :**

L'étude analytique et comparative du pouvoir antiseptique des huiles essentielles sur les germes pathogènes permet une classification en trois groupes (**Belaiche, 1991**).

### **Groupe I : Les huiles essentielles germicides majeurs ou essences majeures :**

Nous avons attribué le terme d'essences majeures à un groupe d'huiles essentielles dont l'action «antiseptique» est forte et constante.

L'indice aromatique des essences de ce groupe se situe sensiblement entre 0,45 et 1 pour Gram (+), les Gram (-) et les levures.

Les huiles essentielles majeures sont au nombre de six et elles permettent de traiter selon les indications et dans les limites de l'aromathérapie plus de 90% des maladies infectieuses chroniques.

Ces huiles essentielles sont :

- 1-*Thymus capitatus* Hoffm et Link.
- 2-*Cinnamomum zeylanicum* Ness.
- 3-*Thymus vulgaris* L.
- 4-*Eugenia caryophyllata* Thumb.
- 5-*Satureia montana* L.
- 6-*Malaleuca alternifolia* Cheel.

### **Groupe II : Les huiles essentielles moyennes :**

Elles se différencient de l'huile essentielle majeure dont le pouvoir antiseptique est relativement constant (90% des cas). (L'indice aromatique est inférieur à 0,45)

Les essences moyennes présentent un caractère antiseptique plus aléatoire, elles sont à base de nombreuses spécialités pharmaceutiques.

Les principales huiles essentielles moyennes sont :

- 1-*Pinus sylvestris* L.
- 2-*Melaleuca leucadendron* L.
- 3-*Eucalyptus globulus* Labill.
- 4-*Lavandula vera* DC.
- 5-*Myrtus communis* L.
- 6-*Pelargonium graveolens* l'Hent.
- 7-*Citrus aurantium* var amara Link.
- 8-*Artemisia dracunculoides* L.
- 9-*Thymus serpyllum* L.
- 10-*Malaleuca viridiflora* Gaertn.

### **Groupe III : Les huiles essentielles majeures aléatoires :**

La classification des huiles essentielles est le résultat de l'observation d'un très grand nombre d'aromatogrammes. Si les huiles essentielles majeures montrent une action fortement germicide dans près de 90% des cas, l'expérience nous a appris qu'il existait, lors de la lecture de chaque aromatogramme une ou plusieurs huiles essentielles qui montraient pour le germe testé, une action bactéricide très forte inhabituelle.

On appelle ces huiles: les huiles essentielles de hasard ou les majeures aléatoires, ou seul le hasard a permis d'obtenir une action bactéricide impossible à prévoir à partir de la composition chimique de l'huile essentielle testée ou des caractéristiques du germe microbien contre lequel elle est testée.

N'importe qu'elle huile essentielle peut devenir au moins une fois une huile essentielle majeure aléatoire ce qui explique la complexité de la composition chimique d'une essence aromatique. Exemple de ces huiles : gingembre, citron, laurier (**Belaiche, 1991**).

### **8. Emploi des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles issues des sécrétions des plantes aromatiques et médicinales montrent des propriétés d'intérêt alimentaire, cosmétique, thérapeutique et pharmacognosique (**Iserin et al., 1996**).

En parfumerie ; c'est le débouché principal des huiles essentielles de concrètes, des absolues et autres résinoïdes. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier pour les formulations des grandes diffusions les produits synthétiques.

A la limite de ces secteurs, on notera la présence d'huile essentielle dans les préparations pour bains «calmants » ou «relaxants ».

Dans diverses industries ; surtout chimiques qui utilisent les isolats (isomères des substances pures isolées des huiles essentielles exemple : citronellal, linalol, comme matières premières pour la synthèse des principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes (**Bruneton, 1995**).

Dans le domaine agroalimentaire, l'huile essentielle du citron sert à la fabrication d'arômes alimentaires, d'essences fruitées, de boissons rafraichissantes, de liqueurs, de pâtisseries et de confiseries (**Iserin et al., 1996 ; Robert et Lobstein, 2005**).

C'est en gastronomie que se fait le plus large emploi des plantes à essences sous forme d'épices. Celles-ci sont réparties en épices aromatiques (arômes amers et acres) comme dans le cas du faux poivrier, ou simplement en épice pour les desserts et pâtisseries (Bruneton, 1999). Les huiles essentielles peuvent également être ajoutées dans les produits alimentaires destinés à la conservation (produits de la quatrième gamme). Elles s'ajoutent sur les produits de consommation dans le but d'aromatisation (quelques gouttes déposées sur les morceaux du sucre) (**Pingot, 1998**).

### **9. La conservation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles (elles s'évaporent très facilement) et, de plus, ne supporte ni la lumière ni la chaleur ; elles doivent donc être conservées dans des petits flacons de couleur sombre hermétiquement bouchés. Elles se gardent en général un ou deux ans. Les huiles extraites de l'écorce des agrumes, qui sont les plus volatiles, ne durent qu'environ six mois (**Peters, 1999**).

### **10. Toxicité des huiles essentielles :**

L'utilisation des huiles essentielles du citron extraites soit par hydrodistillation soit par expression à froid ne présente aucun risque de toxicité, ni aiguë ni chronique (**Robert et Lobstein, 2005**).

Les huiles essentielles contenant des phénols, tels que le thym, la cannelle et le clou de girofle, devraient être employées avec prudence. La toxicité du foie peut se produire si les huiles essentielles sont utilisées à de fortes doses pendant un temps prolongé. Les cétones contenues dans l'armoise, la sauge et les huiles d'hysope peuvent ainsi causer ce genre de problème (**Bruneton, 1993**) et (**Couderc, 2001**).

De plus, certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (**Meynadier et al., 1997**) C'est en particulier le cas des huiles essentielles suivantes : la cannelle de Ceylan, la menthe, la Litsée, la mélisse, le pin, ou la mousse de chêne. Les réactions de la maladie sont variées et peuvent apparaître jusqu'à 3 jours après le contact du produit avec la peau. Ils vont du simple prurit (démangeaison) à l'eczéma allergique en

passant par des plaques, un aspect psoriasique, voire des pigmentations ou dépigmentations locales.

La proportion de la population développant des allergies cutanées dues aux parfums est en augmentation car l'utilisation de parfums et de produits parfumés (cosmétiques, désinfectants parfumés, lessives, bâtons d'encens (**Hayakawa, 1987**)) ne cesse d'augmenter. Il a été démontré que les allergènes présents dans l'air jouent un rôle évident dans la formation d'eczéma de contact, soit par inhalation, soit par contact cutané (**Schnuch, 2006**). Les huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent irriter les muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques (comme par exemple les sprays désodorisants). Il a été rapporté qu'en présence de parfums, les personnes asthmatiques et développant des allergies de contact montrent des détresses respiratoires plus fréquentes que les personnes saines. Cependant, les mécanismes immunologiques n'ont pas été démontrés (**Elberling et Skov, 2007**).

Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut, selon la sorte et la quantité, générer une intoxication grave comme le coma et même la mort. Les huiles essentielles très liquides peuvent parvenir dans les voies respiratoires si elles sont malencontreusement avalées ou vomies. Cela peut conduire à une inflammation des poumons (pneumonie).

Certaines huiles essentielles comme le citron, l'orange amère et la bergamote deviennent sensibilisantes et toxiques seulement sous l'influence de la lumière. De plus, les huiles essentielles contenant des phénols sont toxiques pour le foie (clou de girofle, thym, origan).

Les cétones et dans une moindre mesure les lactones sont neurotoxiques (romarin, sarriette, cèdre, camphre, thuya, aneth, hysope). La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière. En effet la combustion de bâtons d'encens et de bougies parfumées ou seulement l'évaporation à chaud d'huile essentielle peut libérer des substances de combustion, des poussières fines, du formaldéhyde et d'autres substances volatiles qui peuvent solliciter les voies respiratoires (**Willem, 2006**).

### **11. Rôle écologique :**

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (**Langenheim, 1969**).

Par ailleurs, les plantes aromatiques productrices d'huiles essentielles, ont fait l'objet de diverses recherches en particulier dans le domaine de la parfumerie.

### **12. Caractéristiques économiques :**

Si de nos jours quelques centaines de plantes aromatiques, parmi d'innombrables espèces recensées dans la nature, sont exploitées à l'échelle commerciale, c'est en partie parce que les facteurs agronomiques, climatiques, botaniques et olfactifs sont limitatifs mais d'autres critères sont aussi à prendre en compte.

Un certain nombre de plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et infusions mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres.

Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors tentante, aussi la production de molécules naturelles pourrait entrer dans la composition de médicaments moins agressifs vis-à-vis de l'organisme, ou à des fins industrielles précédemment exposées.

Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes aromatiques, (autrefois restreint du point de vue économique, à l'extraction de molécules olfactives), par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologiques, substantiellement évoquées par la médecine traditionnelle, que nous allons recenser et corréler à certains types de structures chimiques. Ce dernier travail fait apparaître des molécules « bioactives » dans des espèces référencées par la médecine traditionnelle supposant ainsi des activités biologiques (**Bourrel, 1993**).

### **13. Activités biologiques 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, par exemple contre les bactéries endocanaliaires (**Pellecuer *et al.*, 1980**) ou au niveau de la microflore vaginale (**Viollon et Chaumont, 1994**) et d'origine fongique contre les dermatophytes (**Chaumont et Leger, 1989**).

Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (**Sivropoulou *et al.*, 1996**) qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingéré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées (**Zambonelli *et al.*, 2004**). Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (**Zambonelli *et al.*, 2004**) et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (**Mangena et Muyima, 1999**). Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives (**Agnihotri *et al.*, 2003**). Son composé majoritaire, le carvacrol (No. CAS 499- 75-2), possède également une forte activité antimicrobienne (**Caccionni *et al.*, 1998**). D'après les travaux de Sivropoulou et col. (**Zambonelli *et al.*, 2004**), et Hudaib (**Hudaib *et al.*, 2002**), les huiles de menthe et d'origan présentent des activités antibactériennes remarquables contre les souches à Gram+ et à Gram -

Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Chaumont et Leger (**Chaumont et Leger, 1989**) ont testé 12 composés aromatiques vis-à-vis de huit souches pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporum canis* et 5 *Trichophyton* spp. Ils concluent que les phénols (eugénol (No. CAS 97-53-0), chavicol (No. CAS 501-92-8), 4- allyl-2-6-diméthoxyphénol (No. CAS 6627-88-9)) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique (No. CAS 104-55-2) et hydrocinnamique (No. CAS 104-53-0)) présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative. Kurita (**Kurita *et al.*, 1979 et Kurita *et al.*, 1981**), ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques :

## Phénols >Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> isoeugénol> eugénol).

L'addition de groupements alkyl au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale.

L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de (**Zakarya et al., 1993**) ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. Ils donnent un exemple de variations qualitatives et quantitatives de 21 espèces.

### 14. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles :

Les facteurs prédominants dans la qualité des huiles essentielles peuvent avoir deux types d'origines :

\_ Technologique.

\_ Naturel.

De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle.

Le mode de récolte, les conditions de transport (**Yayi et al., 2004**), séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques (**Bruneton, 1993**). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction (**Chemat et al., 2007**) (**Lagunez-Rivera, 2006**). D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle (**Lagunez-Rivera, 2006**).

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux résultant de l'immersion du matériel végétal atteint des pH compris entre 4 et 7 et occasionnellement, des valeurs inférieures à 4 pour certains (**Lagunez-Rivera, 2006**). Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que l'ébullition est longue, et le pH est faible (**Morin et Richard, 1985**).

La matière végétale est l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations (**Morin et Richard, 1985**), pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de trace dans la plante ou provenant des équipements de récolte et d'extraction provoquant des transformations chimiques des constituants. L'hydrolyse d'esters est souvent la première réaction qui se produit (**Bruneton, 1993**). Elle conduit à la formation d'acides organiques qui, à leur tour, catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation (**Lagunez rivera, 2006**).

### 15. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges de complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatique dérivés du phénylpropane – beaucoup moins fréquents-d'autre part (**Buneton, 1995**).

Les huiles essentielles peuvent être mises en évidence dans les coupes d'organes végétaux au moyen de colorant spéciaux (Liophiles) : orcanette, Soudan III (**Paris et Moyses, 1976**).

### 15.1. Principales structures chimiques (Ganou, 1993) :

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques-unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc... Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques.

Les **composés terpéniques** sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C5) n ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène) nous pouvons réaliser la classification suivante :

✓ les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en **C10**. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.

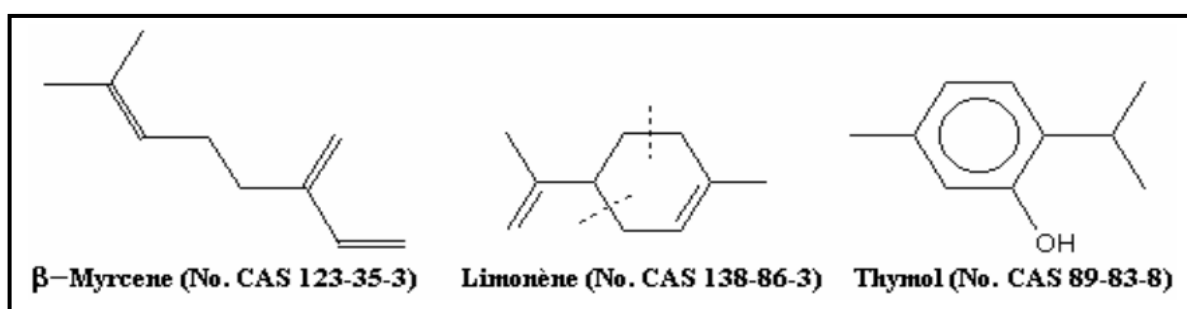


Figure n° 01: Composés monoterpéniques (Ganou, 1993).

✓ les sesquiterpènes. Ce sont des hydrocarbures de formule **C15**, soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés. Nous retrouvons dans ce groupe le chamazulène (des essences de camomille et de matricaire).

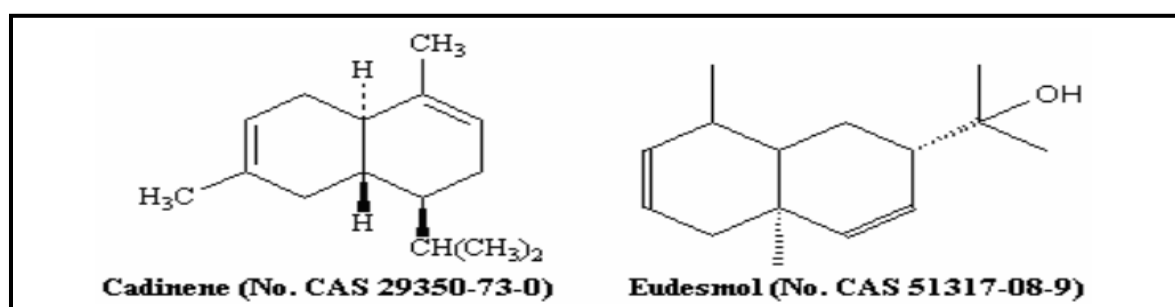
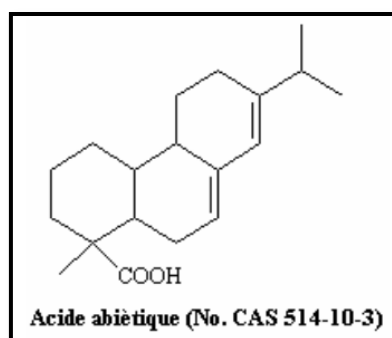


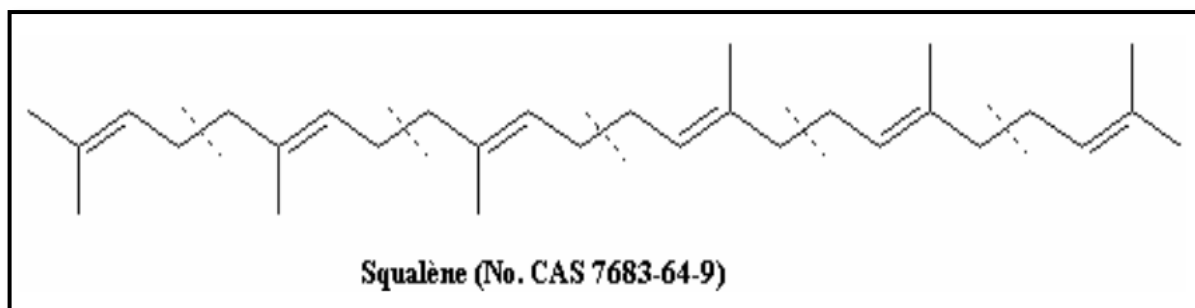
Figure n° 02: Composés sesquiterpéniques (Ganou, 1993).

✓ les diterpènes qui sont des dérivés d'hydrocarbures en **C20**. Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines.



**Figure n° 03:** Composés diterpéniques (Ganou, 1993).

- ✓ les sesterpènes. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en **C25**.
- ✓ les triterpènes. Ces composés en **C30** sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.



**Figure n° 04:** Composés triterpéniques (Ganou, 1993).

✓ les polyterpènes le caoutchouc naturel est l'exemple plus nomme. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène. Il est produit par la coagulation par la chaleur de la sève de l'hévéa.

Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes. 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 composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthole qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1-3% d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence). 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 (Cu, 1990).

### **16. Les chémotypes des huiles essentielles :**

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente.

Cette classification capitale permet de sélectionner les huiles essentielles, pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Nous connaissons par exemple sous la même

appellation botanique, deux grandes familles de thym, subdivisées elles-mêmes grâce à la définition de leurs chémotypes respectifs.

De nombreuses huiles comprennent plus d'un chémotype. La sauge sclarée (*Salvia sclarea*) par exemple, contient 250 molécules différentes, dont 75 % issues de la famille des esters et 15 %, de celle des monoterpénols. Les molécules travaillent en synergie, ce qui explique la polyvalence des huiles essentielles et leur vaste spectre d'action.

Une fois que l'on connaît les propriétés des chémotypes ainsi que leur concentration dans une huile essentielle, on peut déterminer quels seront les effets de celle-ci, bienfaisants ou dangereux.

Enfin, il faut savoir qu'une même plante peut inclure diverses espèces, dont chacune possédera des chémotypes différents. La lavande (*Lavandula*), par exemple, compte plusieurs espèces dont les *officinalis*, les *stoechas* et les *latifolia* : c'est donc le nom latin complet qui nous permet de savoir de quelle plante exacte il s'agit. Le lieu de culture (climat, altitude, composition du sol) peut aussi influencer la composition chimique d'une plante (**Site n° 01**).

## **Chapitre IV: *Rosmarinus officinalis*.**

### 1. Historique :

Le Romarin est un arbrisseau qui doit son nom au latin *ros*, rosée et *marinus*, marin. En effet, d'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre (**Escuder, 2007**).

### 2. Description botanique et habitat :

Le romarin ou le genre *Rosmarinus* de nom vernaculaire arabe Iklil eldjebel, est l'un des plus anciens remèdes connus également en Algérie.

*Rosmarinus officinalis* fait partie de la famille des labiées ; c'est l'une des plantes les plus populaires en Algérie. On la trouve dans tous les jardins et les parcs (**Coste, 1997 ; Bekkara et al., 2007**). C'est une plante originaire du bassin méditerranéen (faible altitude) et pousse spontanément dans le sud de l'Europe (**Iserin et al., 2007**).

Le Romarin est un arbrisseau touffu, vert, très aromatique, d'environ 1m ou plus de hauteur, à tiges ligneuses avec des feuilles persistantes sessiles, opposées, étroites et coriaces. Les fleurs d'un bleu pâle, maculée intérieurement de violet, sont groupées en grappes courtes. Ces inflorescences spiciformes portent presque tout au long de l'année des fleurs [**Bekkara et al., 2007 ; Iserin et al., 2007**].



Figure n° 05: *Rosmarinus officinalis* (Photo Google).



**Figure n° 06:** Planche botanique de *Rosmarinus officinalis* (Photo Google).

**3. Classification botanique : (Classification de Cronquist) (Site n° : 01)**

**Règne :** Plantae

**Sous-règne :** Viridiplantae

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiaceae

**Genre :** *Rosmarinus*

**Espèce :** *officinalis*

**4. Nom vernaculaires : (Site n° : 02)**

Romarin, Romarin officinal (Français)

Rosemary (Anglais)

**5. Synonymie : (Site n° : 02)**

*Rosmarinus angustifolius* Mill., 1768

*Rosmarinus aunieri* Gand., 1875

*Rosmarinus communis* Bubani, 1897

*Rosmarinus cyanocalyx* Gand., 1875

*Rosmarinus flexuosus* Jord. & Fourr., 1866

*Rosmarinus latifolius* Mill., 1768

*Rosmarinus lavandulaceus* Noë ex Debeaux, 1888

*Rosmarinus laxiflorus* Noë ex Lange, 1863

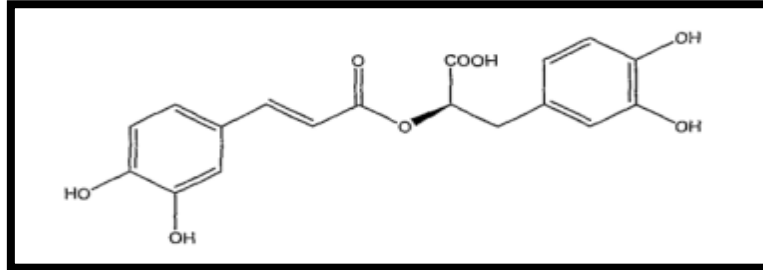
*Rosmarinus laxiflorus* Noë, 1852



- 12 mL/kg d'huile essentielle (drogue anhydre).

#### Acides phénols:

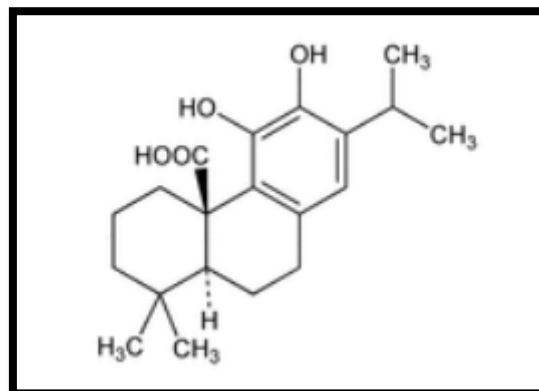
- Acide rosmarinique : 1,7 - 2,83% en moyenne.
- Acide caféique : associé avec l'acide chlorogénique.



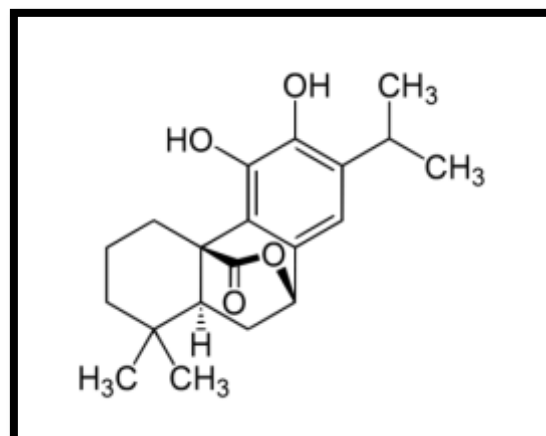
**Figure n° 08:** Acide rosmarinique.

#### Diterpènes phénoliques tricycliques :

- Acide carnos(ol)ique  $\approx 0,35\%$ .
- Carnosol = picrosalvine : cité (valeur variable, jusqu'à 4,6% ou majoritaire).
- Rosmanol.
- Rosmadial.



**Figure n° 09:** Acide carnosique.



**Figure n° 10:** Carnosol.

**Triterpènes :**

- Acide ursolique : 2 - 4% en moyenne et 5% de dérivés de l'acide ursolique.
- Acide oléanolique :  $\approx$  10%.
- $\alpha$ - et  $\beta$ -amyrines.

**flavones méthylées :**

- lutéoline.
- Genkwanine.

**Huile essentielle (monoterpènes) :**

- $\alpha$ -pinène : 3,48 - 27,1% en moyenne.
- 1,8-cinéole : 12,84 - 42,9% en moyenne.
- camphre : 10,22 - 31,4% en moyenne.
- bornéol libre et estérifié.
- camphène : 3,53 - 9,8% en moyenne.

## **Chapitre V: *Fusarium oxysporum*.**

## 1. Les champignons phytopathogènes :

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de micromycètes parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des eumycocètes ou « champignons vrais » : ascomycètes, basidiomycètes, chytridiomycètes, zygomycètes et deutéromycètes (champignons imparfaits). Les agents phytopathogènes responsables de maladies cryptogamiques comprennent aussi des protistes : plasmodiophoramycètes, dont les genres les plus importants sont *Plasmodiophora* et *Spongospora*, et oomycètes, qui comprennent notamment la famille des *Peronosporaceae* (agents des mildious).

La plupart des champignons sont des saprotrophes. 10 000 espèces fongiques sont considérées comme phytopathogènes (**Petit et Lavigne, 2019**) et sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées (**Deacon, 2005**). On estime entre dix mille et quinze mille espèces le nombre d'organismes du type champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plantes (contre une cinquantaine susceptibles d'infecter l'homme) (**Fernandez-Acero et al., 2014**). Les pertes économiques annuelles dues aux maladies fongiques dans l'agriculture mondiale, avant et après la récolte, étaient estimées en 2003 à plus de 200 milliards d'euros, et le coût annuel des traitements fongicides s'élève pour les seuls États-Unis à plus de 600 millions de dollars (**Arora, 2003**).

L'infection des plantes par un champignon phytopathogène se déroule selon un processus, appelé « cycle de la maladie », dont la complexité varie selon les espèces, mais qui comprend toujours un certain nombre d'étapes obligatoires (inoculation, adhérence, germination, pénétration et invasion) (**Fernandez-Acero et al., 2014**).

Les champignons phytopathogènes sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (**Garrido, 2012**).

## 2. Les dix principaux champignons phytopathogènes :

Selon une enquête internationale menée en 2012 auprès de mycologues par la revue *Molecular Plant Pathology*, les dix espèces ou genres de champignons phytopathogènes les plus importants, en tenant compte tant des aspects scientifiques qu'économiques. Ces organismes pathogènes, dont six sur dix attaquent plus spécifiquement les cultures de céréales, seraient les suivants (**Dean et al., 2012**) :

1. *Magnaporthe oryzae*, agent de la pyriculariose du riz ;
2. *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise ;
3. *Puccinia* spp., agents de rouilles affectant notamment les *Poaceae* (dont les céréales et plus particulièrement le blé) ;
4. *Fusarium graminearum*, agent de la fusariose du maïs et de la fusariose ou gale du blé ;
5. *Fusarium oxysporum*, agent de la fusariose vasculaire qui affecte de nombreuses plantes cultivées ;
6. *Blumeria graminis*, agent de l'oïdium des céréales ;
7. *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé ;
8. *Colletotrichum* spp., agents des anthracnoses affectant de nombreuses plantes, notamment arbres fruitiers, plantes maraîchères et ornementales, et causant des pertes post-récolte importantes chez les fruits et légumes entreposés ;
9. *Ustilago maydis*, agent du charbon du maïs et organisme modèle pour la recherche en phytopathologie et en génétique des plantes ;
10. *Melampsora lini*, agent de la rouille du lin, qui doit sa place dans le classement à son rôle de « système modèle » pour l'étude de l'immunité chez les plantes.

### 3. *Fusarium oxysporum* :

*Fusarium oxysporum* est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des Nectriaceae. Comme c'est le cas de tous les *Fusarium*, il s'agit de la forme de reproduction asexuée d'un ascomycète, mais son téléomorphe est inconnu (Bánki *et al.*, 2021).

*Fusarium oxysporum* est un complexe d'espèces telluriques, ubiquistes, parasites de plantes, comprenant de nombreuses *formae speciales* (f. sp.), qui infectent collectivement plus de 100 hôtes différents, provoquant des pertes économiques importantes chez de nombreuses plantes cultivées comme le bananier, le cotonnier, le melon, la tomate, etc. (Dean *et al.*, 2012).

Une variété australienne est capable de dissoudre l'or de la roche et de le concentrer dans son mycelium, ce qui ouvre des perspectives en matière de prospection (Bohu *et al.*, 2019).

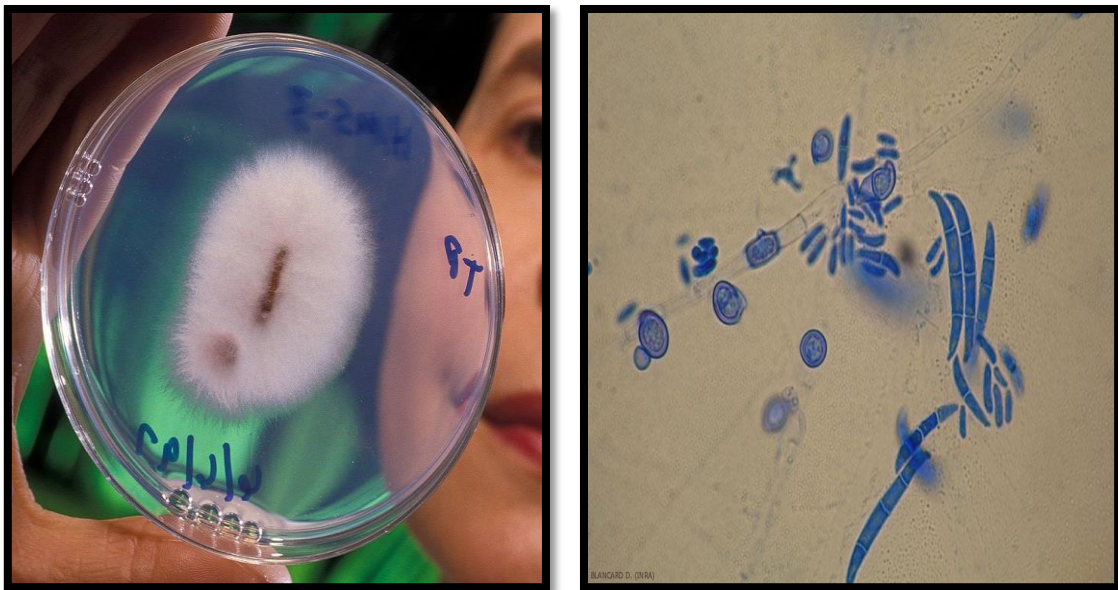


Figure n° 11: *Fusarium oxysporum* (Photo Google).

#### 3.1. Classification : (Schltdl, 1824)

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Sordariomycetes

Sous-classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce : *Fusarium oxysporum*

#### 3.2. Synonymes : (Bánki *et al.*, 2021)

- *Cylindrophora albedinis* Kill. & Maire 1930,
- *Fusarium albedinis* (Kill. & Maire) Malençon 1934,
- *Fusarium albidoviolaceum* Dasz. 1912,
- *Fusarium angustum* Sherb. 1915,
- *Fusarium apii* P.E. Nelson & Sherb. 1937,
- *Fusarium asclerotium* (Sherb.) Wollenw. 1916,
- *Fusarium asparagi* Briard 1890,
- *Fusarium aurantiacum* Corda 1829,
- *Fusarium batatas* Wollenw. 1914,

- *Fusarium blasticola* Rostr. 1895,
- *Fusarium bulbigenum* Cooke & Masee 1887,
- *Fusarium carthami* Klis. & Houston,
- *Fusarium cepae* Hanzawa 1914,
- *Fusarium conglutinans* Wollenw. 1913,
- *Fusarium cubense* E.F. Sm. 1910,
- *Fusarium cucumerinum* Berk. & Broome 1876,
- *Fusarium dianthi* Prill. & Delacr. 1899,
- *Fusarium eucalypti* Cooke & Harkn. 1881,
- *Fusarium lagenariae* (Schwein.) Sacc. 1886,
- *Fusarium lini* Bolley 1901,
- *Fusarium lutulatum* Sherb. 1915,
- *Fusarium lycopersici* (Sacc.) Wollenw. 1913,
- *Fusarium lycopersici* Bruschi 1912,
- *Fusarium lycopersici* Sacc. 1881,
- *Fusarium niveum* E.F. Sm. 1894,
- *Fusarium orthoceras* Appel & Wollenw. 1910,
- *Fusarium perniciosum* Hepting 1939,
- *Fusarium spinaciae* Sherb. 1923 (synonyme)
- *Fusarium tracheiphilum* E.F. Sm. 1899,
- *Fusarium trifolii* Jacz. 1912,
- *Fusarium vasinfectum* G.F. Atk. 1892,
- *Fusarium zonatum* (Sherb.) Wollenw. 1916,
- *Fusidium udum* E.J. Butler,
- *Fusisporium lagenariae* Schwein. 1832,
- *Fusoma blasticola* (Rostr.) Sacc. & Traverso 1911,
- *Fusoma pini* Hartig.

#### 4. Cycle de vie :

Le *Fusarium oxysporum* cause un flétrissement dans diverses cultures. Pour chaque culture, il existe une espèce ou forma specialis du champignon à laquelle est associé le nom de la plante-hôte. Pour la tomate, le flétrissement est causé par le *F. Oxysporum* f.sp. radicis-lycopersici et, pour le chrysanthème, par le *F. oxysporum* f. sp. dianthii etc. Le *F. oxysporum* vit dans le sol et dans le substrat. Il passe l'hiver sous forme de spores ou de mycélium (blanc de champignon) dans les débris des cultures, mais le champignon forme aussi les chlamydospores asexuées à paroi épaisse qui résistent au dessèchement. Il peut survivre très longtemps et à une grande profondeur dans le sol. Le mycélium ou les spores du champignon infectent les racines de la plante-hôte au niveau où les racines latérales sortent de la racine principale ou pénètrent par des lésions. Le champignon se développe entre les cellules racinaires et remonte vers la tige. De nombreuses microconidies se forment dans la plante et sont disséminées de façon passive jusqu'en haut de la plante par la sève. Une fois qu'il a atteint les vaisseaux, le champignon s'y développe. Les vaisseaux sont alors obstrués par le mycélium, les spores et la gomme qui est excrétée par la plante pour se défendre, et le flétrissement typique de la plante se produit. Le champignon continue de se développer et sporule sur le tissu mort en produisant des macroconidies de couleur rose-rouge et falciformes caractéristiques de la fusariose. Celles-ci peuvent continuer de se disséminer. Le champignon peut également être transmis via la semence. Ceci ne résulte pas nécessairement d'une contamination de la semence pendant la croissance, des outils ou d'autres équipements contaminés peuvent aussi y contribuer. La fusariose se propage dans le sol et le substrat en passant dans l'eau. Les spores extérieures sur les parties aériennes de la plante sont

disséminées par le vent, l'eau, les gens et les équipements, et lorsque de la terre contenant le champignon est transportée (**Site n° : 03**).

# **PARTIE PRATIQUE.**

# **MATERIELS ET METHODES**

### 1. Choix du matériel végétal :

Notre travail a été réalisé au laboratoire de physiologie végétale, à l'école normale supérieure de l'enseignement technologique (ENSET) de Skikda, sur une espèce : le Romarin (*Rosmarinus officinalis*), notre choix pour cette espèce est justifié par le fait que celle-ci est riche en huiles essentielles connus pour leurs activités biologiques diverses.

#### 1.1. Échantillonnage :

Notre échantillon provient de la région de Azzaba willaya Skikda, Nord-Est algérien (36 ° 45 '48 "nord, 7 ° 06' 00" est). La récolte elle a été réalisée au mois de Février 2022.

L'identification taxonomique du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) a été faite par: Dr Hicham Boughendjioua, du département des sciences naturelles, école normale supérieure de l'enseignement technologique de Skikda (ENSET), selon la flore suivante: (**Quézel et Santa, 1962-1963**).

#### 1.2. Partie employée :

Les feuilles fraîches sont utilisées, avec une prise d'essai de 320 g.

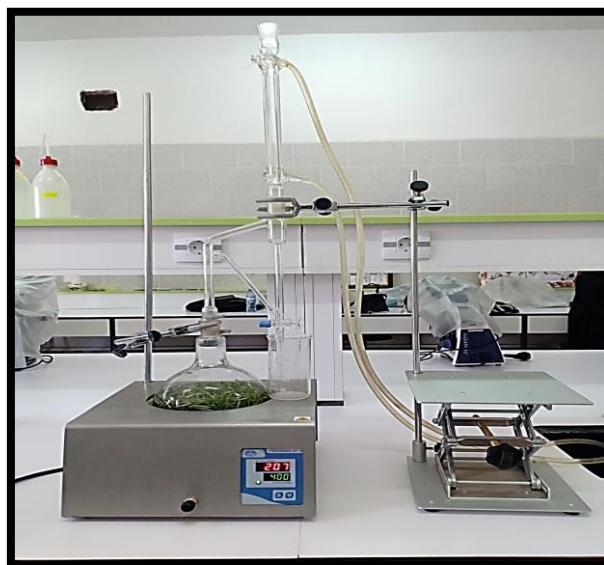
**Tableau n° 01:** Partie utilisée et quantité de la prise d'essai.

Échantillon	Partie utilisée	Prise d'essai totale (g)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Feuilles	320

#### 1.3. Méthodes d'extraction

Plusieurs procédés sont utilisés pour extraire les huiles essentielles des plantes aromatiques. Chaque procédé possède plusieurs variantes technologiques en fonction du matériel végétal à traiter **Thiery et al., (1988) ; Pare et al., (1989) ; Bruneton, (1993)**.

L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans l'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1995**).



**Figure n° 12:** Dispositif de l'hydrodistillation.

**Tableau n° 02:** Temps nécessaire pour le traitement de la matière végétale.

Échantillon	Méthode (Procédé)	Temps
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Hydrodistillation	01h30

La caractérisation d'une essence de Romarin consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur);
- Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, potentiel d'hydrogène, et indice d'acide); et
- Obtenir son profil chimique (composition chimique), et faire une quantification relative des différents constituants de cette essence.

## **2. Caractéristiques organoleptiques :**

L'analyse organoleptique de l'huile essentielle de la cannelle consiste à évaluer les propriétés tel que ; l'aspect, l'odeur et la couleur:

### **2.1. Odeur :**

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millièmes de grammes par litre d'air.

### **2.2. Couleur :**

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.

### **2.3. Aspect :**

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide ou liquide.

## **3. Propriétés physico-chimiques :**

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises (**Mohamdi, 2005**).

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico- chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation (**AFNOR**).

### **3.1. Indice de réfraction :**

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (**AFNOR, 2000**).

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé Prisma- CETI convexe. Quand la détermination est effectuée à une température différente de 20°C, on effectue la correction à 20°C par le biais de la formule:

$$I_{20} = I_t + 0,00045 (T - 20^{\circ}\text{C}),$$

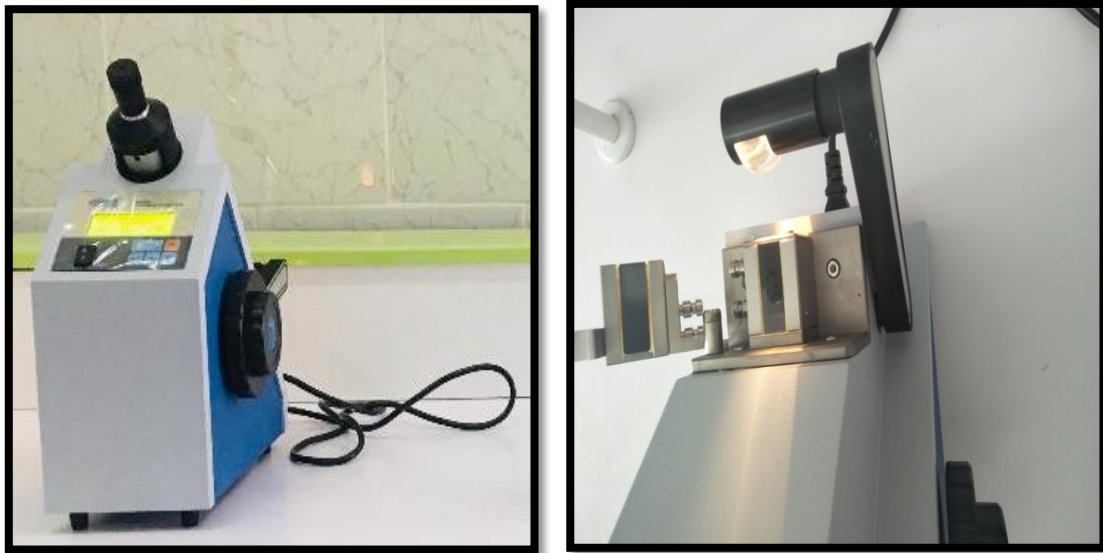
$I_{20}$  = Indice à 20°C,

$I_t$  = Indice à la température ambiante ou de mesure,

T = Température ambiante.

Les produits étalon de qualité pour réfractométrie servant à ajuster le réfractomètre sont les suivants :

- Eau distillée (1,333),
- P- cymène (1,4906),
- Benzoate (1,5685),
- Bromo-1- naphthalène (1,6585).



**Figure n° 13:** Appareil à mesurer l'indice de réfraction.

### 3.2. Échelle de Brix :

Sert à mesurer en degrés Brix (°B ou °Bx) la fraction de saccharose dans un liquide, c'est-à-dire le pourcentage de matière sèche soluble. Plus le °Brix est élevé, plus l'échantillon est sucré. L'appareil utilisé pour la mesure est un réfractomètre ou un aréomètre. Voir aussi sorbetomètre.

L'aréomètre se base lui sur la mesure de la densité de l'échantillon. Par extension, le degré Brix peut servir à mesurer la concentration d'une solution, non pas en sucre, mais d'autres substances influant l'indice de réfraction (mesure de la salinité d'une saumure, de la concentration d'une solution en acide aminé...). Si la solution est assez concentrée en une seule substance, une table de conversion permet de remonter simplement de la mesure en Brix à la concentration massique de la solution.



**Figure n° 14:** Appareil à mesurer l'indice de Brix.

### **3.3. Potentiel d'hydrogène :**

Le pH mesure l'activité chimique des ions hydrogènes  $H^+$  (appelés aussi protons) en solution, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre.

A l'aide d'une tige de verre, on prélève quelques gouttes de solution à tester (huile essentielle) en trempant la tige dans cette solution et on les dépose sur le papier pH. Celui-ci prend alors une couleur particulière que l'on compare avec les couleurs témoins du boîtier qui contenait le papier pH.



**Figure n° 15:** Papier pH utilisé.

#### 4. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode analytique, intéressante par sa simplicité et sa modulabilité. Elle autorise également une analyse sans chauffage et permet donc d'éviter d'éventuelles dégradations qu'il entrainerait.

Dans la CCM, le support utilisé est une plaque en verre ou en aluminium sur laquelle est déposée une fine couche d'un absorbant (par exemple la silice) qui joue le rôle de phase stationnaire et sur laquelle l'échantillon sera déposé. La partie inférieure de la plaque est immergée dans un solvant (phase mobile) qui remonte par capillarité le long de la plaque entraînant les constituants de l'échantillon à des vitesses différentes. Le traitement de la plaque après séchage par un révélateur permet de mettre en évidence les composés séparés qui formeront de petites taches visibles (à la lumière naturelle ou aux ultra-violets), et ainsi de réaliser une analyse qualitative à l'œil nu. L'intérêt de la chromatographie sur couche mince réside dans le très grand nombre de révélateurs pouvant lui être appliqués, permettant de mettre en évidence un très grand nombre de produits dans les échantillons (**Deschepper, 2017**).

**Méthode standard** : Simple développement avec un mélange de deux éluants, hauteur d'élution : 10 mm, humidité relative 50%, température 20°. Saturation complète de la cuve.

**Support (phase stationnaire)** : Gel de silice H, F 254 (Kieselgel GF254).

**Solvant (phase mobile)** : Dichlorométhane-Méthanol (5:5).

**Solution à analyser (dépôt)** : Huile essentielle du Romarin obtenue par hydrodistillation.

**Détection** : UV254, UV365.





**Figure n° 16:** Matériel de la chromatographie sur couche mince.

### **5. Évaluation de l'activité antifongique :**

L'activité inhibitrice des différents composés, sur la croissance mycélienne est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur milieu PDA (Pomme de Terre, Dextrose, Agar), contenant le complexe à tester. Ainsi, un volume de 1 mL de solution de DMSO contenant 5 mg du produit lyophilisé a été ajouté à 100 mL de milieu PDA à 60 ° C.

Expérimentalement, un disque de 05 mm de diamètre est prélevé sur une jeune culture fongique et est déposé aseptiquement au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le produit à tester. L'expérience est répétée 4 fois pour chaque traitement. Après 06 jours d'incubation à 25 ° C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée à l'échelle millimétrique. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance du champignon par chaque produit par rapport aux diamètres moyens des colonies du champignon cultivé dans le milieu témoin. Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et a été calculée selon la formule: **(Dennis and Webstert, 1971)**.

Où I = taux d'inhibition en %; C = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (contrôle); T = la croissance radiale en mm de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

$$I (\%) = (C-T/C) \times 100$$

Pour identifier la concentration inhibitrice la plus basse, le test a été répété avec 2,5 mg / mL, 1,25 mg / mL, 0,625 mg / mL et 0,312 mg / mL de solvant au lieu de 5 mg / mL de solvant.

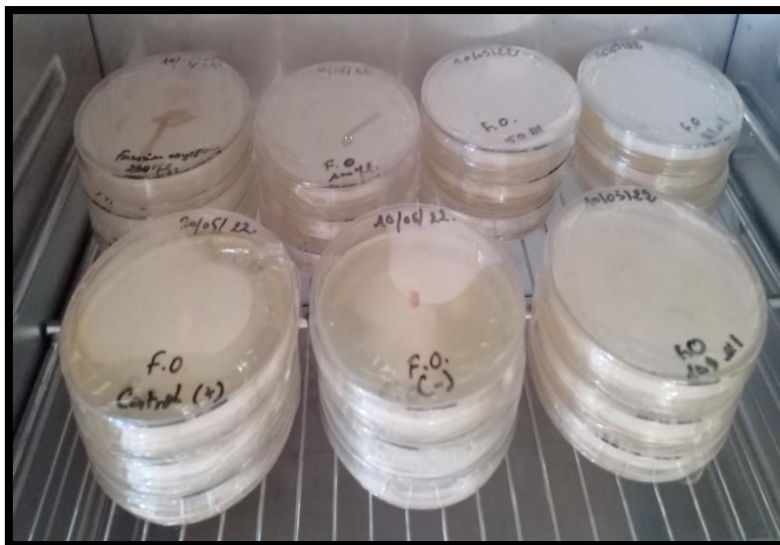


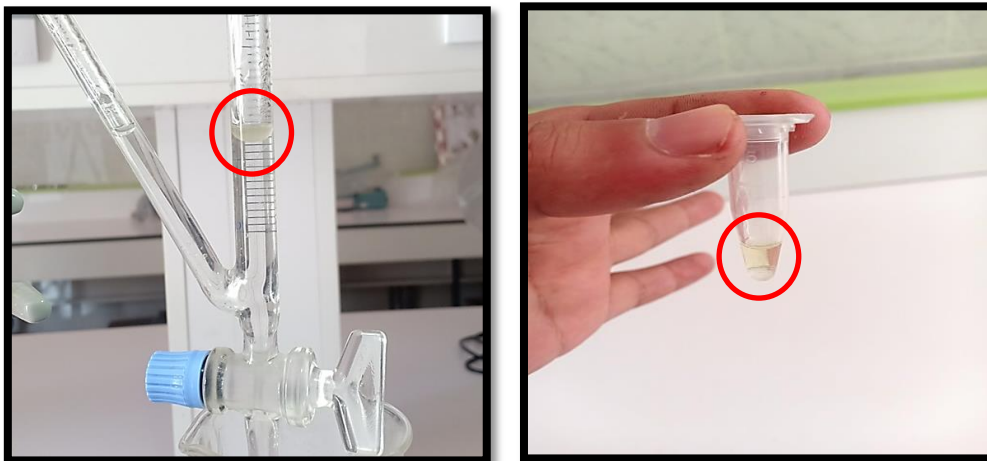
Figure n° 17: Activité antifongique.

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

### 1. Expression du rendement d'extraction :

Il faut dire que le rendement d'extraction des huiles essentielles, varié selon de la méthode d'extraction, plus précisément des conditions opératoire (temps d'extraction, ratio matière/solvant, etc.), il est aussi fonction de la zone géographique de récolte, la composition du sol, la période de récolte de la plante, le stade végétatif de la plante, etc.

Dans le cadre de notre travail, nous utiliserons la méthode d'hydrodistillation pour extraire les huiles essentielles du Romarin.



**Figure n° 18:** Rendement obtenu.

Le rendement en huile essentielle est défini par le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage (%), et calculé selon la formule suivante (AFNOR, 1986) :

$$Rdt = M1/M0 * 100$$

Avec :

**Rdt** : Rendement d'extraction de l'huile essentielle du Romarin ;

**M0** : Masse de la matière végétale utilisé (feuille du Romarin) ;

**M1** : Masse de l'huile essentielle obtenue.

$$Rdt = 0.32 \%$$

L'expérience révèle que le rendement d'extraction de l'huile essentielle du Romarin est proportionnel à la durée de l'hydrodistillation, c'est-à-dire que quand la durée de distillation augmente, le rendement d'extraction de l'huile essentielle augmente également. Et pour la présente étude, le meilleur rendement a été obtenu à **90 minutes**.

L'huile essentielle de couleur jaune pâle a été obtenues à partir des parties aériennes par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Notre échantillon possède un rendement en huile essentielle **Rdt = 0.32%**. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par **Benyoucef, (2020)** ; **Rdt** varie de 0,3 à 0,4% (m/m).

## 2. Propriétés organoleptiques :

Le tableau 03 présente les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du Romarin selon la norme AFNOR NFT 7.

**Tableau n° 03:** Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du Romarin selon la norme AFNOR NFT 7.

Norme AFNOR NFT7	Aspect	Couleur	Odeur
	Liquide très fluide	Jaune pâle	Aromatique et puissante

## 3. Propriétés physico-chimiques :

### 3.1. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction c'est le rapport entre la célérité de la lumière dans le vide et la célérité de la lumière dans le milieu considéré. Ce rapport indique la capacité de l'huile essentielle à réfléchir la lumière.

L'indices de réfraction a été calculés et ramenés à 20°C à l'aide d'un réfractomètre Abbé Prisma-CETI, et qui est présenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau n° 04:** Indice de réfraction obtenu.

Échantillon	Indice de réfraction (Obtenu)	Indice de réfraction (Pharmacopée Européenne)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,464±0,006	1,460 à 1,474

La valeur de l'indice de réfraction de notre échantillon correspond à celui de la pharmacopée européenne. Elle indique sa faible réfraction à la lumière.

### 3.2. Échelle de Brix :

L'indices de Brix a été calculés et ramenés à 20°C à l'aide du même réfractomètre Abbé Prisma-CETI, et qui est présenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau n° 05:** Échelle de Brix obtenue.

Échantillon	Indice de Brix (Obtenue)	Indice de réfraction (AFNOR)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	00	00

La valeur Brix est égal à zéro, l'huile essentielle ne contient pas de fraction de saccharose.

### 3.3. Potentiel d'hydrogène :

Le pH des huiles essentielles se situe entre 4 et 6. C'est effectivement légèrement acide, mais nettement moins que du jus de citron (pH 2) et dans tous les cas, moins que le pH de l'estomac (pH 1) (Site n° 03).

**Tableau n° 06:** Potentiel d'hydrogène obtenu.

Échantillon	pH (Obtenu)	pH (AFNOR)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	06	4-6

#### 4. Chromatographie sur couche mince (CCM) (Interprétation des taches (Calcul de Rf)):

Les taches étant localisées et entourées d'un trait de crayon (certaines colorations sont fugaces), on peut déterminer ce que l'on appelle leur Rf (de l'anglais rate of flow).

- **d1** étant la distance parcourue sur la plaque par la substance (mesurée généralement à partir du centre de la tache),
- **d2** la distance parcourue par le front du solvant (depuis la ligne de départ),
- Le Rf est le rapport  $d1 / d2$ , donc toujours inférieur à l'unité.

Cette valeur caractérise la substance chromatographiée, mais de nombreux facteurs l'influencent : solvant, adsorbant, température, substances accompagnantes. Aussi, ne peut-elle permettre à elle seule l'identification d'un constituant. Les chiffres de Rf donnés dans la littérature ont surtout une valeur indicative et ne sont reproductibles que dans des conditions expérimentales rigoureusement comparables. Il est donc indispensable de procéder par rapport à des témoins (**Paris et Moyses, 1976**).

Selon **Stahl, (1975)** les rapports frontaux de la solution de référence contenant 0,1mL de cinéole, 0,1mL de amphre-bornéol, 0,1mL de myrcène, et 0,1mL de  $\alpha$ -pinène-verbénone dans 10 mL de Dichlorométhane (dépôt de 2 à 5 $\mu$ L) sont:

**Tableau n° 07:** Rapports frontaux de la solution de référence.

Substances	Valeurs de Rf
$\alpha$ -pinène-verbénone	20-30
Myrcène	35-45
Amphre-bornéol	50-60
Cinéole	70-80

L'examen sous ultraviolet à 254 nm et 366 nm nous montre plusieurs extinctions de la fluorescence (taches) au niveau de notre dépôt (Huile essentielle du Romarin).

**Tableau n° 08:** Interprétation du chromatogramme.

Temps (CCM)	Taches obtenues	Rf obtenu	Interprétation
01h30	Tache 01	24	$\alpha$ -Pinène
	Tache 02	55	Verbénone
	Tache 03	80	Acétate de bornyle

Après comparaison de nos résultats, d'après le tableau n° : 08 on constate que nos Rf sont très proche de ceux de Stahl ou de la pharmacopée française, donc on est réellement en présence des huiles essentielles du Romarin.

La composition chimique de l'huile essentielle du romarin a fait l'objet de nombreuses études, répertoriées par Lawrence (**Lawrence, 2007**). Il s'agit d'une huile essentielle riche en monoterpènes, tout particulièrement l' $\alpha$ -pinène, le 1,8-cinéole et le camphre (mis en évidence dès 1860 par Lallemant) et à un degré moindre, le camphène, le limonène, le bornéol, l'acétate de bornyle et la verbénone. Il apparaît clairement que l'huile essentielle du romarin jouit d'une très importante variabilité chimique et c'est une des premières huiles essentielles ayant bénéficié de la mention «Huile essentielle chémotypée». D'ailleurs, dès 1973, Granger **Granger et al., (1973)** classèrent les huiles essentielles de romarin selon 4 types chimiques: 1) cinéole, 2) camphre-bornéol, 3) myrcène, 4)  $\alpha$ -pinène-verbénone. Si on entre un peu plus dans le détail, et en faisant abstraction de quelques rares compositions inhabituelles qui ont été décrites, on peut différencier:

**i)** Les huiles essentielles riches en 1,8-cinéole, contenant plus de 40% de ce composé. Il s'agit d'huiles essentielles originaires du Maroc, Tunisie, Turquie, Grèce, Yougoslavie, Italie, France) (**Lawrence, 2007**).

**ii)** Celles qui présentent des teneurs comparables en  $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéole et camphre (Huile essentielle de France, Espagne, Italie, Grèce, Bulgarie) (**Lawrence, 2007**).

**iii)** Une composition dominée par le myrcène a été observée au Portugal, au sud de l'Espagne, et en Argentine (**Lawrence, 2007**).

**iv)** Enfin, le romarin poussant à l'état spontané en Corse et en Sardaigne produit une huile essentielle dont la composition est dominée par l' $\alpha$ -pinène, l'acétate de bornyle et la verbénone. Cette huile essentielle est connue et commercialisée sous le nom de «Huile essentielle de romarin à verbénone», bien que ce dernier composé ne soit pas en général majoritaire. La renommée de cette huile essentielle est principalement due à l'intérêt qu'elle présente en aromathérapie (**Escriva, 2012 ; Penoel et Franchomme, 1990**).

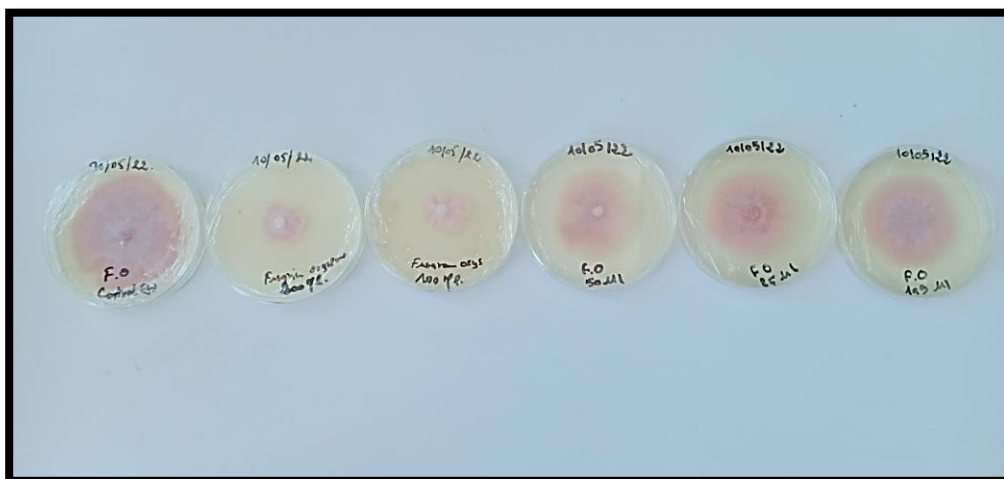
### 5. Activité antifongique :

La croissance mycélienne de l'agent phytopathogène et mesurée à l'échelle millimétrique, les mesures des diamètres d'inhibition après 6 jours d'incubation sont présentées dans le tableau suivant :

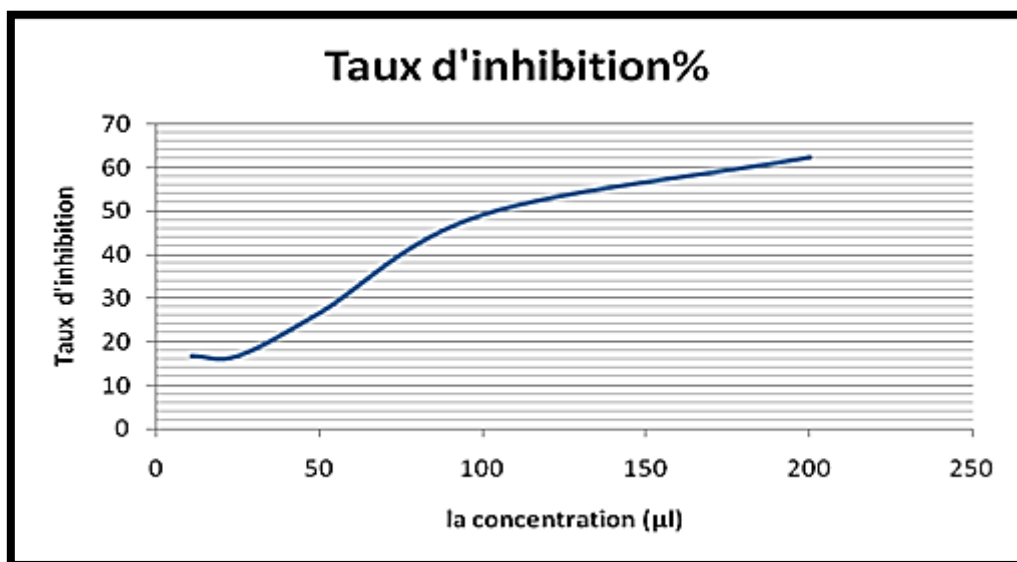
**Tableau n° 09:** Diamètres d'inhibition de croissance du champignon.

Concentrations ( $\mu$ g)	200	100	50	25	10.9	Témoin
Diamètres d'inhibition (mm)	26.66 $\pm$ 1.33	36 $\pm$ 2	52 $\pm$ 0	59,33 $\pm$ 2.66	59.33 $\pm$ 1.66	71 $\pm$ 2

On remarque que les diamètres de croissance du champignon sont compris entre 26,66 mm et 59,33 mm. La figure n° 19 illustre la croissance de champignon *Fusarium oxysporum* après les 06 jours d'incubation.



**Figure n° 19:** Inhibition de la croissance du champignon par l'huile essentielle.



**Figure n° 20:** Taux d'inhibition de l'huile essentielle vis-à-vis du champignon.

D'après la figure 20, on remarque que le pourcentage d'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle du Romarin.

Le taux d'inhibition le plus faible 16.9 % a été enregistré à la concentration la plus faible 10.9 (μl), alors que le taux d'inhibition le plus élevé 62.45 % a été enregistré à la concentration la plus élevée 200 (μl).

Globalement les taux d'inhibition enregistrés sont supérieurs à 16.9 %, ce qui indique que l'effet de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* sur le champignon *Fusarium oxysporum* est modérément élevé.

**Conclusion :**

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années afin de rechercher de nouvelles alternatives aux drogues chimiques, qui sont sans effets néfastes pour la santé humaine et de l'environnement.

Ce mémoire a pour objectif de contribuer à une meilleure gestion et protection de l'environnement par la valorisation des ressources végétales (huiles essentielles) et s'inscrit dans une démarche de développement durable.

Plusieurs étapes, souvent dépendantes entre-elles, sont nécessaires pour caractériser complètement ces huiles essentielles et ces extraits végétaux: la détermination de la composition chimique, la mise en évidence d'une éventuelle spécificité, le contrôle de la qualité, la valorisation de co-produits d'extraction, la recherche de modes d'extraction plus respectueux de l'environnement (Chimie verte).

Les huiles essentielles et les extraits se présentent sous la forme de mélanges complexes. Cette complexité résulte de la diversité structurale et fonctionnelle des constituants qui paradoxalement sont construits à partir de la même entité (synthon isoprénique).

Les étapes de notre travail consiste à:

1. L'extraction de l'huile essentielle par la méthode de l'hydrodistillation,
2. La détermination des caractères organoleptiques (Aspect, couleur et odeur),
3. La détermination de quelques propriétés physico-chimique (pH, indice de réfraction et indice de Brix),
4. Obtenir son profil chimique par CCM,
5. Tester son activité antifongique.

Nous pouvons dire que l'huile essentielle du Romarin répond aux normes internationales. Ces analyses trouvent une importante application dans l'industrie agro-alimentaire (Comme agent antifongique).

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.**

**AFNOR (1986).** Recueil des normes françaises afnor 1986. Eaux méthodes d'essai. Association française de normalisation. 350 p.

**Agnihotri S, Vaidy AD. (1996).** A novel approach to study antibacterial properties of volatile components of selected Indian medicinal herbs. *Indian J Exp Biol* 34(7): 712–5.

**Anton R, Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522 p.

**Ayad M. (2018).** Optimisation de l'extraction des substances bioactives d'une plante médicinale « *Carthamus caeruleus* L. ». Mémoire de Master, filière: genie des procedes, spécialité: genie pharmaceutique. Université Akli Mohand Oulhadj Bouira. p: 04.

**Bahorun T. (1997).** Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research*. 83-94.

**Bánki, O, Roskov Y, Vandepitte L, DeWalt R.E., Remsen D, Schalk P, Orrell T, Keping M, Miller J, Aalbu R, Adlard R, Adriaenssens E, Aedo C, Aeschl E, Akkari N, Alonso-Zarazaga M.A, Alvarez B, Alvarez F, Anderson G, et al. (2021).** Catalogue of Life Checklist (Version 2021-10-18).

**Bekkara F, Bousmaha L, Taleb Bendiab S.A, Jean Brice B, Casanova J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7(1): 6-11.

**Belaiche P. (1991).** Encyclopédie des médecines naturelles. Section C –Aromathérapie.

**Benyoucef F. (2020).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de six plantes provenant de l'ouest Algérien (*Salvia argentea*, *Ammoides verticillata*, *Satureja candidissima* *Thymus fontanesii*, *Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis*): Effet de synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante et antimicrobienne. Thèse de doctorat en chimie. Spécialité : Chimie bio-organique et thérapeutique. Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen. Page : 39.

**Bohu T, Anand R, Noble R et Lintern M. (2019).** Evidence for fungi and gold redox interaction under Earth surface conditions, *Nature Communications*. 10(1):1-13.

**Bouacherine R., et Benrabia H. (2017).** Biodiversité et valeur des plantes médicinales dans la phytothérapie: Cas de la région de BEN SROUR (M'sila). Master Académique. Université Mohamed Boudiaf M'sila.

**Boumediou A., Addoun S. (2017).** Étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie). Mémoire de fin d'études. Département de pharmacie. Université Abou Bekr Belkaïd. Tlemcen.

**Bourrel C. (1993).** Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l'Institut National Polytechnique de toulouse. Toulouse, France.

**Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, (2ème édition). Technique documentation, Paris. p: 406, 410, 915.

**Bruneton J. (1995).** Phytochimie des plantes médicinales.

- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. In: Technique et Documentation Lavoisier. Paris. pp: 418-419.
- Caccionni D, Guizzardi M, Biondi D, Agantio R, Guiseppe R. (1998).** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. *International J. Food Microbiol.* 43(12): 73-79.
- Carlos Garrido, Francisco J. Fernández-Acero, María Carbú, Victoria E. González-Rodríguez, Eva Liñeiro et Jesús M. Cantoral, 2012.** *Molecular Microbiology Applied to the Study of Phytopathogenic Fungi*, Gel Electrophoresis – Advanced Techniques. 139-156.
- Chaumont JP, Leger D. (1989).** Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité. *Plant Med. Phyto.* 23(2), 124-126.
- Chemat F, Abert Vian M, Dangles O. (2007).** *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 1.
- Chevallier A. (2017).** Larousse des plantes médicinales. Editeur: Larousse. pp: 336.
- Coste H. (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Librairie des Sciences et des Arts, Paris.
- Couderc VL. (2001).** Toxicité des huiles essentielles. Thèse de grade Docteur Vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse, 61 p.
- Cronquist A. (1977).** On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms. *Plant Systematics and Evolution.* 1(1): 179-189.
- Croteau R., Kutchan TM., Lewis N.G., (2000).** Naturel Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry And Molecular Biologie Of Plants.* 1250-1318.
- Cruz T, Cabo MP, Cabo MM, et al. (1989).** In vitro antibacterial effect of the essential oil of *Thymus longiflorus* Boiss. *Microbios* 60: 59–61.
- Deacon J, 2005.** Chapter 14: Fungi as plant pathogens. Blackwell Publishing.
- Dean R, Van Kan JA, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD. (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 13(4):414-30.
- Dilip K. Arora, (2003).** *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications*, CRC Press, 700 p.
- Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé (deQm). (2013).** Pharmacopée Européenne 8.0. Tome I. 8è édition. Strasbourg : Conseil de l'Europe. 1568 p.
- Elberling J, Skov PS. (2007).** Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. *Clin Exp Allergy.* Nov, 37 (11): 1676-80.
- Escriva C. (2012).** Les huiles essentielles Corses, Ed. Amyris. Bruxelles.
- Escuder O. (2007).** *Plantes médicinales mode d'emploi.* Paris: Ulmer. 255p.
- Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z. (1985).** Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization.* 63(6): 965-981.

**Fernandez-Acero FJ, Carbu M, Garrido C, Vallejo I and Cantoral JM, 2014.** *Proteomic Advances in Phytopathogenic Fungi*. Current Proteomics, 4(2): 79-88.

**Gacemi S. (2014).** Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits d'*Eryngium ilicifolium* Lam. (Apiaceae) de la Wilaya de M'sila (Algérie). Mémoire de Magister. Université Ziane Achour, Djelfa.

**Gahbiche S (2009).** LA PHYTOTHERAPIE. Certificat Thalassothérapie, section hydrothermo thalassothérapie. Sousse, pp: 07.

**Ganou L. (1993).** Contribution a l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielle. Thèse de l'INP Toulouse, France.

**Gobbi R, Khebbaz W. (2014).** Traçabilité de l'identification des métabolites secondaires végétaux. Mémoire de licence, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

**Granger R et Passet J, Arbousset G. (1973).** Parfums, Cosmétiques, Savons de France, 3, 307-312.

**Lawrence B.M. (2007).** Perfum Flavor; 32(9): 50-54.

**Hamrouni L, Hanana M, Amri I, Romane A, Gargouri S, Jamoussi B. (2014).** Allelopathic effects of essential oils of *Pinus halepensis* Miller : chemical composition and study of their antifungal and herbicidal activities, Archives of Phytopathology and Plant Protection, 48(2): 1-14.

**Hayakawa R. (1987).** Depigmented contact dermatitis due to incense. Contact Dermatitis, 16, 272-274.

**Hopkins WG. (2003).** Physiologie Végétale. Edition: De Boeck Supérieur. pp : 514.

**Hudaib M, Speroni E, Di Pietra M, Cavrini V. (2002).** GC/MS ecaluation of thymus (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during during the vegetative cycle. J. Pharma. Biom. Analysis. 29(4): 691-700.

**Iserin P, Masson M, Restellini JP, Ybert E, Moulard F. (1996).** Encyclopédie des plantes médicinales ; Identifications, Préparations, Soins. Ed : Larousse-Bordas pour l'édition originale en langue française, France. 335 p.

**Iserin P, Masson M.J.P. (2007).** Restellini, Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins. Ed Larousse.

**Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. pp: 355.

**Iserin P, Masson M, Restellini JP, Ybert E, Moulard F. (1996).** Encyclopédie des plantes médicinales; Identifications, Préparations, Soins. Ed: Larousse-Borda. France. pp: 335.

**Khireddine H. (2013).** Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie. Mémoire de magister. Université Mohamed Bougara, Boumerdes. p: 97.

**Kurita N, Miyaji M, Kurane R, Takahara Y, Ichimura K. (1979).** Antimicrobial activity of dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. Agric. Biol. Chem. 43(11): 2365.

**Kurita N, Miyaji M, Kurane R, Takahara Y. (1981).** Antifungal activity of components of essential oils. Agric. Biol. Chem. 45(4): 945.

**Lagunez Rivera L. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse. P : 15-35.

**Langenheim JH. (1969).** Amber: a botanical inquiry. Science. 163(872): 1157-1169.

**Leroux P, Credet A. (1978).** Document sur l'étude de l'activité des fongicides, INRA, Versailles, France. 12 p.

**Levin DA. (1976).** The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. Annual Review of Ecology and Systematics. 7: 121-159.

**Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique (3<sup>e</sup> Ed). Technique Et Documentation. Lavoisier. Paris. pp: 211.

**Mangena T, Muyima NYO. (1999).** Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of artemisia afra, pteronia incana and rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. Lett. Appli. Microbiol. 28(4) 291-296.

**Merghem, R. (2009).** Eléments De Biochimie Végétale, (16). Ed, Bahaeddine. Algérie.

**Messgo-Moumene S, Li Y, Bachir K, Houmani Z, Bouznad Z, Chemat F. (2014).** Antifungal power of citrus essential oils against potato late blight causative agent, Journal of Essential Oil Research, 27(2): 169-176.

**Meynadier JM, Raison-Peyron N. (1997).** Allergie aux parfums. Re. Fr. Allergol., 37 (5), 641-650.

**Mori S, Ojima Y, Hirose T, Sasaki T, Hashimoto Y. (1972).** The clinical effect of proteolytic enzyme containing bromelain and trypsin on urinary tract infection evaluated by double blind method. Acta Obstet Gynaecol Jpn. 19(3): 147-153.

**Morin P, Richard H. (1985).** Thermal degradation of linalyl acetat during steam distillation inproc., 4 Fh Weurman Flav. Res. Symp. Elsevier Science. Publ. B.V. Amsterdam., pp 563-576.

**Newman DJ., Cragg GM. (2012).** Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. Journal of Natural Products. 75(3): 311–335.

**Newman DJ., Cragg GM., Snader KM. (2000).** The influence of natural products upon drug discovery. Natural Product Reports. 17(3): 215-34.

**Paris R.R et Moyse. H. (1976).** Précis de matière médicale, Tome1, deuxième édition, Masson, Paris.

**Pellecuer J, Jacob M, Simeon de Buechberg M, Allegrini J. (1980).** Therapeutic value of cultivated mountain savory (*Satureia montana* L). Acta Horti 96: 35-9.

**Penoel D et Franchomme P. 1990.** L'aromathérapie Exactement. Ed. Roger Jollois, Limoges.

**Petit S et Lavigne C. (2019).** Paysage, biodiversité fonctionnelle et santé des plantes, Editions Quae, p. 95

**Pingot A. (1998).** Les huiles essentielles. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 230- 236.

**Quezel P., Santa S. (1962).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. CNRS: Paris. 805-806.

**Raven H., Evert RF., Eichhom SE. (2000).** Biologie Végétale (6ème Ed).(B.Jules., Et M Charles, Trad.).Paris.

**Robert A, Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 522 p.

**Sameza ML, Boat M.A.B, Nguemezi S.T, Mabou L.C.N, Jazet Dongmo P.M, Boyom Menut F.F, Potential C. (2014).** Use of *Eucalyptus globules* essential oil against *Phytophthora colocasiae* the causal agent of taro leaf blight, European Journal of Plant Pathology, 140 (2) 243-250.

**Schauenberg P, Paris F. (1997).** Guide des plantes médicinales. Ed. Delachaux et Niestlé. Paris. pp: 396.

**Schnuch A, Uter W. (2006).** Untersuchungen der Bedeutung luftgetragener Kontaktallergene bei der Entstehung von Kontaktekzemen. Umweltbundesamtes.

**Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S., Lanaras T, Arsenakis M. (1996).** Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. J. Agric. Food Chem. 44, 1202-1205.

**Staub H, Bayer L. (2013).** Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013, 685 p. (Collection: Le Corps et l'esprit (Paris. 1997).

**Sutour S. (2010).** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats these pour obtenir le grade de docteur de l'universite de corse discipline : chimie organique et analytique, page 8 ; 9 ; 10, 11, 12, 43.

**Swain T. (1973).** Chemistry in Evolution and Systematics. Union internationale de chimie pure et appliquée. Division de chimie organique, Londres, Butterworths. pp: 672.

**Thurzova L. (1978).** Les Plantes-santé qui poussent autour de Nous. Éditions Elsevier Séquoia. pp : 268.

**Viollon C, Chaumont JP. (1994).** Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia. 128(3), 151-153.

**Willem JP. (2006).** Les Huiles Essentielles : Médecine d'Avenir. Editions du Dauphin.

**Williamson EM. (2001).** Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine. 8(5): 401-409.

**Yayi E, Joachin D, Gbenou, Léon AA, Moudachirou M, Chalchat JCC. (2004).** Chimie 7, 1013–1018.

**Zakarya D, Fathallah T, Chascette M. (1993).** Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices. J. Phys. Org. Chem. 6(10), 574-582.

**Zambonelli A, D'Aurelio A.Z, Severi A, Benvenuti E, Maggi L, Bianchi A. (2004).**  
Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L.  
J. Essent. Oil Res 16(1): 69-74.

#### Site internet

**Site n° 01:** Classification de Cronquist,  
<https://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Rosmarinus&variete=officinalis>.

**Site n° 02:** Romarin, Romarin officinal (Français),  
[https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/118865/tab/taxo](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/118865/tab/taxo).

**Site n° 03:** *Fusarium oxysporum*,  
<https://www.syngentaseedcare.com/fr/farmore/legumes/maladies/fusarium/fusarium-oxysporum>