Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de Master en Biologie

Spécialité Biotechnologie microbienne

Thème :

Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* et de *Thymus numidicus* sur la croissance de l'oïdium sur les cultures maraichères.

Réalisé par

M^{lle} : Touati Ismahane et M^{lle} : Mahmoudi Zineb

Membre de jury :

M^{me} AOUS W.	Maitre de conférences (B)	Président
M^{me} BEHIDJ N	Professeur	Promoteur
M^{me} BENADJAL N.	Chef de service I .N. P .V (El-Harrach)	Co-promoteur
M^{me} BENKORTBY H.	Doctorante (ENSA)	Examinateur

Remerciements

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous a accordé la force, le courage et la patience pour terminer cette étude.

Nos adressons nos chaleureux remerciements le plus vif à l'encadreur pour son grand aide durant la réalisation de ce travail. Elle nous a orientées vers le succès avec ses connaissances. Ainsi, elle n'a pas cessé de nous encourager tout au long de cette épreuve, et elle a été présente à tout moment; le Professeur Mme BEHIDJ-BENYOUNES Nassima.

Nos sincères remerciements vont aussi à la co-promotrice Mme BENADJAL Nadia; chef de service à l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El –Harrach.

Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger, et d'évaluer ce travail Mme AOUS Wahiba; Maitre de conférence à l'Université de Boumerdès, et Mme BENKORTBY Hind; Doctorante au Département de Botanique à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El –Harrach.

Les enseignants du département de Biologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Boumerdès, ainsi que le personnel de l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach notamment Mme Daoudi Roza trouverons aussi nos vifs remerciements pour leurs accueils, leurs sympathies ainsi que leurs idées constructives.

Nous remercions également, les collègues de la promotion biotechnologie microbienne (2016-2017) et toutes personnes qui nous aidé de proche ou loin lors de la réalisation de cette initiation à la recherche.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma chère mère, qui n'a ménagé aucun effort pour m'encourager durant mes longues études. Qui a tout fait avec abnégation pour me voir réussir dans ce modeste travail de recherche. Une mère très adorable, d'un soutien infaillible.

A mon cher père très compréhensible, qui s'est sacrifié pour nous voir grandir et baigner dans la réussite. Ses conseils, ses encouragements. Espérant ces rêves escomptés.

A mes frères Nesradine et Boudjmaa

A mes sœurs Houda et Nadia est son marie Mustapha

A mes adorables Wassim Sami Chiheb et à ma niece Maya

A mes oncles, à mes tantes, à mes cousins et cousines Radia .Noussa .Ibtisem.Imane .Manel et Mira

A toute la Famille Touati chacun et chacune a apporté sa touche d'encouragement et de soutien.

A ma binôme de ce travail je tu souhaite le bon courage

A toute notre promotion et amies et surtout Amel Ilhem Rabab djamila Imene Meriem Ahlem khadidja je vous sauate

A tous ceux que jaime et je respecte

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.

Mes frères Mohammed et Ahmad qui n'ont pas cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A tous mes oncles, à mes tantes, à mes cousins et cousines Lahna, Linda , Nabila ,Saida et Kahina et Kenza, Karima et toute la famille Mahmoudi et Ferhi

Ma belle famille ma belle mère Louisa mon beau père Djamel et mon fiancé Mokhtar et la famille Haid

Ainsi que monsieur lmayssi lkheder mon directeur pour son soutien tout au long du travaille

A ma binôme de ce travail je tu souhaite bon courage et bonne continuation

Mes amies Assma ,Assma, Amira ;Ouardia, Manel

Et a tous mes biens aimés

Sommaire :

Liste des tableaux

Liste des figures

Chapitre I: Synthèse bibliographique

Introduction ……1-2

I-1 Généralités sur les huiles essentielles

I-1-1 Notions de base sur les huiles essentielles …….4-5

I-1-2 Classification générale……6

I-1-3 Composition chimique……6-8

I-1-3-1 Les terpénoïdes …….6

I-1-3-2 Les composé aromatique ……...7

I-1-3-3 Les composé d'origine divers ……...7

I-1-3-4 Les chémotype ……..8

I-2 Mode d'extraction……..8-10

I- 2-1 Distillations……....8

I- 2-2 Hydro distillations …….8-9

I-2-3 Distillation par entrainement à la vapeur d'eau …….……9

I-2-4 Hydro diffusion ……10

I-2-5Extraction a froid ……10

I- 2-6 Extractions par le corps gras ……10-11

I- 3 Activité biologique des huiles essentielles ……..……11-12

I- 3-1 Activité antimicrobienne ……..……..11

I- 3-2 Activité antioxydant ……...……11

I- 3-3 Activité antiviral ……...……..11

I- 3-4 Activité neural ……..11-12

I-4 Données sur les huiles essentielles de *Mentha piperita* ……*12-15*

I-4-1Présantation de *Mentha piperita*……*12*

I-4-2Classification botanique …….13

I-4-3Répartition géographique ……...13

I-4-4 Composition chimique …….....13

I- 4-5 Utilisations et effet biologiques des huiles essentielles

de *Mentha piperita* ……14

I-5 Données sur les huiles essentielles de *Thymus numudicus*……...*15-17*

I-5-1 Présentation de l'huile essentielle de *Thymus numudicus* ……..*15*

I-5-2 Classification …….15-16

I-5-3 Répartition géographique ……16

I-5-4 Composition chimique……16-*17*

I- 5-5 Utilisations et effet biologique des huiles essentielles

de *Thymus numudicus*……*17*

I-6 Généralités sur l'Oïdium ……18-21

I-6-1 Définition ……..18

I- 6-2 Description de l'anamorphe ……..18-19

I-6-3 Développent et cycle de vie de l'oïdium …… ;……..19-20

I-6-4 Lutte contre l'oïdium …… …….21

Chapitre II: Matériel et méthodes

II -1 Matériel…….23-25

II -1-1 Matériel biologique ……23-24

II -2 Méthode ……26

II -2-1 Principe de l'extraction des huiles essentielle par hydro distillation ……27

II -2-1-2 Mode opératoire ……...……..28

II -2-1-3 Décantation des huiles essentielle (MOCSN 005)……..…...28

II -2-1-4 Rendement d'extraction ……..…..29

II .2.1.5 Détermination de taux d'humidité …….. .29-30

II -3 Identification du champignon ……... ...30

II -3-1 Isolement de l'Oïdium ……..……....30

II -3-2 Préparation du milieu……...…….. ..30-31

II -3-3 Isolement de l'Oïdium sur milieu de culture ……...31

II -3-4 Purification ……32

II -4 Etape de confrontation ……..…33

II -4-1 Préparation des milieux de culture avec des extraits des huiles essentielle ……33

II -4-2 Préparation des disques mycéliens ……..34

II -4-3 Dépôt des disques dans des boites contenant le milieu malt plus les extraits…….…34

II -4-4 Incubation ……..….35

II -4-5 Lecture ……...35-36

II -5 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de la menthe et du Thym…….….36-37

II -5-1 Le taux de croissance ……36

II -5-2 La vitesse de croissance ……37

Chapitre III : Résultats

III -1 Résultats

III -1-1 Extraction et rendement en huiles essentielles des feuilles de la menth et thym …….39

III -1-2 Calcul du rendement et du taux d'humidité ……39-40

III -1-3 Calcul du rendement en huile essentielle de *thymus numidicus* ...… …..40

III -1-4 Le taux d'humidité ……...……40-41

III -1-5 Evaluation de l'activité antifongique des extrais végétaux des huiles essentielles de la Menthe et du Thym …….41-47
III -1-6 Calcul du taux d'inhibition de croissance ……47-48
III -1-6-1 Taux d'inhibition de croissance dans des boites contenant du thym ……....48
III -1-6-2 Taux d'inhibition de croissance dans des boites contenant du menthe …….....48
III -1-7 Vitesse de croissance ……49
III -1-7-1 Vitesse de croissance pour le Thym……49
III -1-7-1 Vitesse de croissance pour la menthe ……..49
III -2 Discussions ……50-52
Conclusion ……...54
Références bibliographique ……56-61
Annexe…….63
Résumé ……63-65

Liste des tableaux:

Liste des tableaux:

Tableau 1: Les doses des extraits des huiles essentielles du thym et de la menthe utilisé

Tableau 2: Les boite de pétri incubé

Tableau 3: Propriétés organoleptique des huiles essentielles du thym et de la menthe

Tableau 4 : Les résultats du rendement et de taux d'humidité

Tableau 5 : Comparaison de résultats de rendement de la menthe poivrée en huile essentielle avec ceux de la référence A.F.N.O.R

Tableau 6: Les résultats de croissance de l'Oïdium dans les milieux contenant déférente dose d'extrais du Thym

Tableau 7: Les résultats de croissance de l'Oïdium dans les milieux contenant différentes doses d'extrais de menthe

Tableau 8: Les résultats de toutes les boites après 7ème jour

Tableau 9: La moyenne de croissance de la colonie le 7ème jour

Tableau 10: Les pourcentages du taux d'inhibition dans les boites contenant différentes doses de Thym

Tableau 11: Les pourcentages de taux d'inhibition dans les boites contenant différentes doses de Menthe

Tableau 12: Représentation de la vitesse de croissance dans des boites contenant différentes doses de Thym

Tableau 13: Représentation de la vitesse de croissance dans des boites contenant différentes doses de Menthe

Tableau 14 : matériel non biologique utilisée au laboratoire

Liste des figures

Figure 1: les Organes riches en huiles essentielles chez certaines plantes
Figure 2: Structures chimiques des monoterpènes
Figure 3: Structures chimiques des composés aromatiques
Figure 4: Composés aliphatiques des huiles essentielles
Figure 5: Principe de la technique d'hydro distillation
Figure 6: Principe de la technique distillation par l'entrainement à la vapeur d'eau
Figure 7 : principe de la technique d' Hydro-diffusion
Figure 8: *Mentha peperita*
Figure 9*: Thymus numidicus*
Figure 10: Feuilles de courgette contaminée par l'Oïdium
Figure 11: Anamorphe d'*E. necator*
Figure 12: L'optimum pour la germination des conidies et la croissance du mycélium
Figure 13: Localisation du lieu de récolte Boudouaou El Bahri
Figure 14: Feuille de courgette récoltée touchée par l ʹOïdium
Figure 15: Menthe poivré récoltée à Larbaa
Figure 16: Thym numidie récoltée à Chréaa
Figure 17: Schéma de protocole expérimental de l'évaluation de l'activité anti fongique de *Thymus numidicus* et de *Mentha peperita*
Figure 18: Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire -Appareil Clevenger-
Figure 19: Milieu de culture malt
Figure 20: Isolement de l'Oïdium sur milieu de culture
Figure 21 : Boite contenant différentes souches de champignon
Figure 22: Image de devenir de la première culture en culture pure d'Oïdium après le repiquage
Figure.23: Méthode de contact direct
Figure 24: Milieu de culture préparé contentent du Malt plus des dose des huiles essentielles
Figure 25: Préparation des disques mycéliens
Figure 26: Teneur en humidité de T. numidicus
Figure 27: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par les huiles essentielles de *Thymus numidicus* sur l ʹOïdium le premier jour d'incubation

Figure 27a: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (400ul)*

Figure 27b : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (700ul)*

Figure 27c : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (1000ul*
Figure 28: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par les huiles essentielles de *Mentha peperita* sur l'Oïdium le premier jour d'incubation

Figure 28d: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Mentha peperita (400ul)*

Figure 28e: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Mentha peperita (700ul)*

Figure 28f: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Mentha peperita (1000ul)*

Figure 29: Témoin du premier jour

Figure 30: Témoin du troisième jour d'incubation

Figure 31: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par les huiles essentielles de *Thymus numidicus* sur l'Oïdium le troisième jour d'incubation

Figure 31A: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (400ul)*

Figure 31 B: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (700ul)*

Figure 31C: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (1000ul)*

Figure 32: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par les huiles essentielles de *Mentha peperita* sur l'Oïdium le troisième jour d'incubation

Figure 32D: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Mentha peperita (400ul)*

Figure 32E: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Mentha peperita (700ul)*

Figure 32F: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthe peperita (1000ul)*

Figure 33 : Le diamètre des colonies de menthe et thym le 7eme jour

I-1 Généralités sur les huiles essentielles

I-1-1 Notions de base sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants, appelées également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices. Ainsi, elles sont sensibles à l'effet de la chaleur (Evans, 1998).

Selon la 4ème édition de la pharmacopée française (2000), les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe, contenant des principes volatiles.

Quant à l'extraction de ses composés volatils, il existe divers procédés mais deux uniquement sont utilisables, à savoir la distillation à la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et par expression Pour ce dernier la pharmacopée précise que ce type de procédé est réservé que pour les essences du genre citrus (Bruneton, 1999).

La norme Afnor NF T 75 - 006 (2000) définit les huiles essentielles comme étant « des produits obtenus, soit à partir de matières naturelles végétales par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, et soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.».

Cette définition est restreinte, car elle exclut les produits obtenus par d'autres procédés solvants, gaz sous pression, enfleurage. Les extraits obtenus par ces méthodes d'extraction trouvent toutefois une place importante sur le marché de la pharmacie, des produits d'hygiène et de l'industrie agro-alimentaire. A cet effet, il serait intéressant de définir ci-après les termes les plus couramment usités dans ce domaine (Bruneton, 1999).

Les organes riches en huiles essentielles chez certaines plantes sont donnés dans le tableau suivant. (Figure 1)

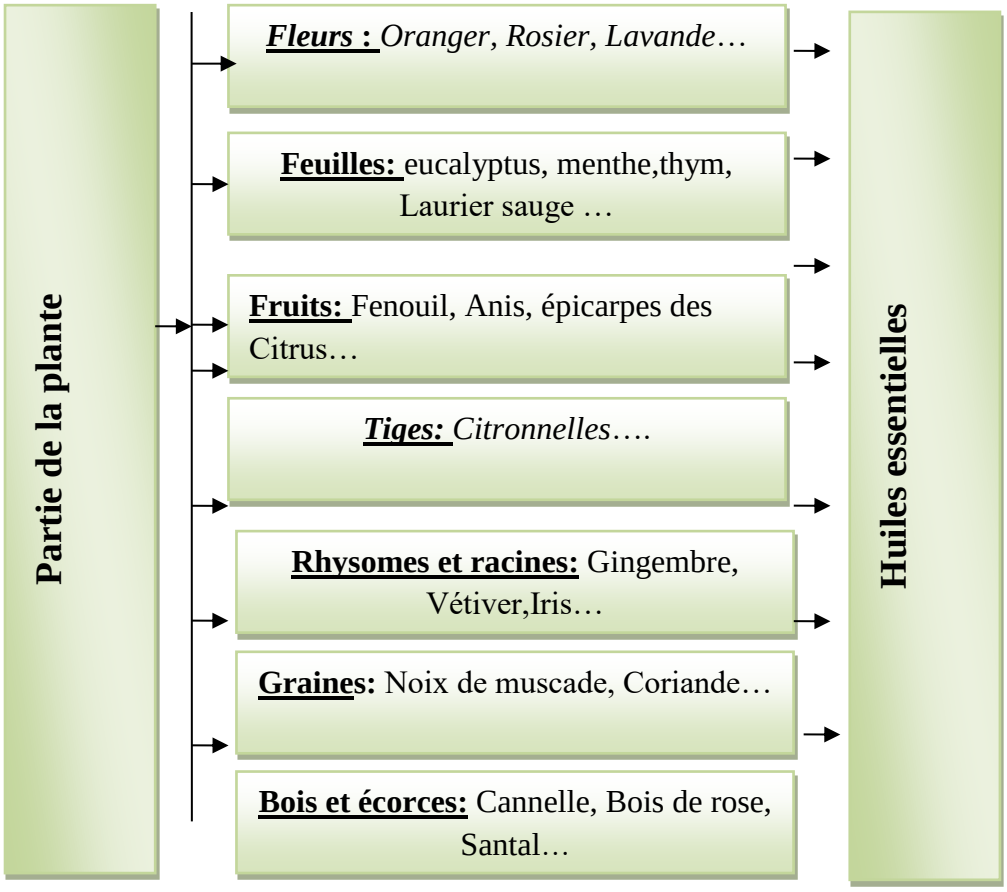


Fig. 1: les Organes riches en huiles essentielles chez certaines plantes

I-1-2 Classification générale des huiles essentielles :

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont classées en groupe. On peut citer les huiles majeures, les huiles médiums et les huiles terrains (Chakou et Bassou, 2007).

I-1-3 Composition chimique :

La composition des huiles essentielles est déterminée par la chromatographie gazeuse (GC) et spectrométrie de masse (SM). Elles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des: terpènes (mono et sesquiterpènes), les composés aromatiques et des composés d'origines diverses tels que les carbures, les acides, et les alcools (Kurkin, 2003).

I-1-3-1. Les terpénoïdes

Selon Teisseire (1991), le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils. C'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C5H8) n. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2)(Figure 2) , les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes (Figure, 2). Les constituants des huiles essentielles sont très variés. On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres. .

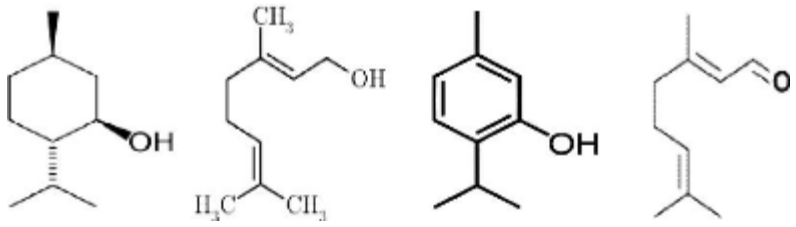


Fig.2: Structures chimiques des monoterpènes

I-1-3-2. Les composés aromatiques :

Teisseire (1991) note que contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou du girofle (Figure, 3).

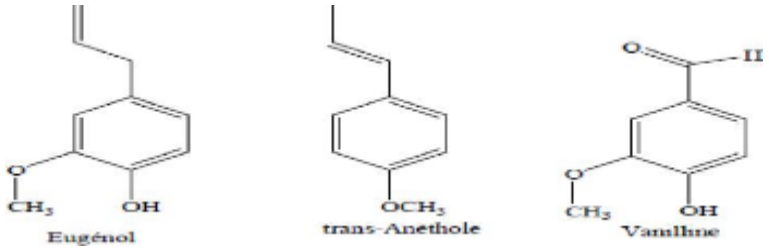


Fig. 3: Structures chimiques des composés aromatiques

I-1-3-3. Les composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînables lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (Teisseire, 1991). On les alcools; menthol, géraniol, linalol, et les aldéhydes; géranial, citronellal, les cétones; camphre, pipéritone, les phénols; thymol, carvacrol, les esters; acétate de géranyle, les acides; acide géranique, les Oxydes;1,8-cinéole, les phénylpropanoïdes; eugénol, les terpènes; le limonène, para-cymène,.et d'autres composés tels que les éthers, les composés soufrés, les composés azotés, et les sesquiterpène (Figure, 4).

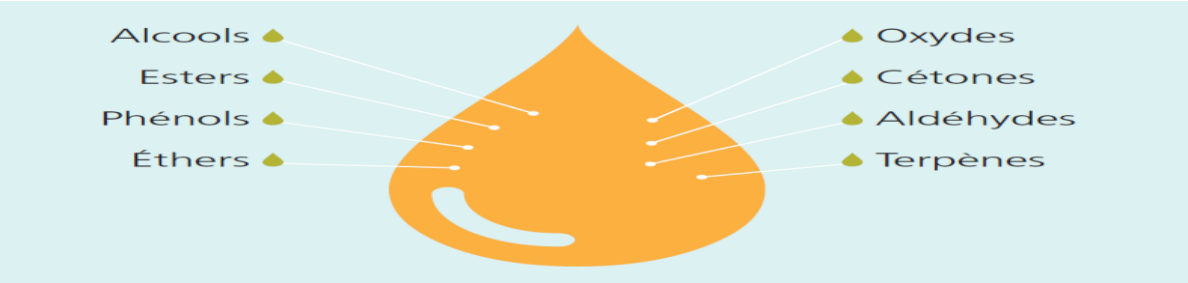


Fig. 4: Composés aliphatiques des huiles essentielles

I-1-3-4. Les chémotypes

La connaissance des chémotypes d'une huile essentielle et leur comportement est fondamentale car elle permet d'envisager l'activité pharmacologique, de prévoir aussi la pharmacocinétique et la biodisponibilité.

Pour une même espèce botanique, la composition chimique de l'huile essentielle n'est pas immuable. Les huiles essentielles sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules sécrétrices. Leur élaboration est totalement tributaire du rayonnement solaire en l'absence duquel le rendement en produits aromatiques et leur nature sont affectés. En sa présence, et tout particulièrement en fonction de la présence de tel ou tel rayonnement, les types de composants pourront varier considérablement au sein d'une même espèce. Par exemple, le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57%. Alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière contient 74% (Franchomme et Penoël, 1990). D'après Azanlenko, (1995), cette variabilité peut être influencée également par la composition du sol et la situation géographique. Il est à noter que le *Lippiamutiflora* récoltée au Togo a révélé les chémotypes à citral, à thymol (acétate de thymyle), à para-cymène, et à 1 -8 cinéole.

I-2Méthodes d'extraction :

Différents méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel à traiter (graines, feuilles, tiges, bourgeons, fruits), de la nature des composés à récupérer (flavonoïdes, alcaloides, tanins), du rendement en huile et de la fragilité de certains huiles aux températures élevées.

I- 2-1 Distillation :

Selon Piochou (2008), il existe 3 différents procédés utilisant le principe de la distillation. On a l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entrainement à la vapeur d'eau.

I- 2-2. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus ancienne. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sure une source de chaleur. L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au dessus de l'hydrolysat (Figure 5).

Cependant, cette méthode possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatique (Lucchesi, 2004).

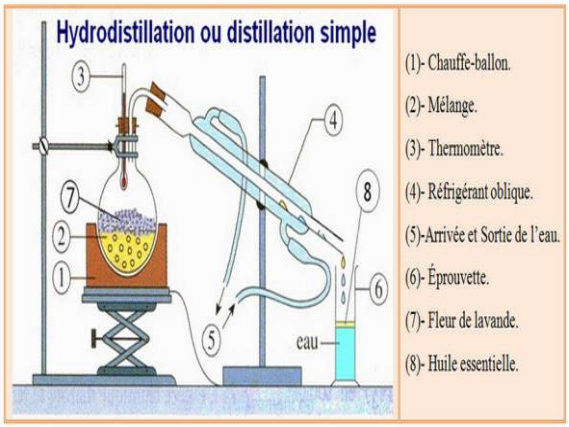


Fig. 5: Principe de la technique d'hydrodistilation

I- 2-3Distillation par entrainement à la vapeur d'eau

Lucchesi (2004) note que dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau.la vapeur endommage la structure des cellules végétale et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entrainées vers le réfrigérant .cette méthode apporte une amélioration de la quantité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques (Figure, 6).

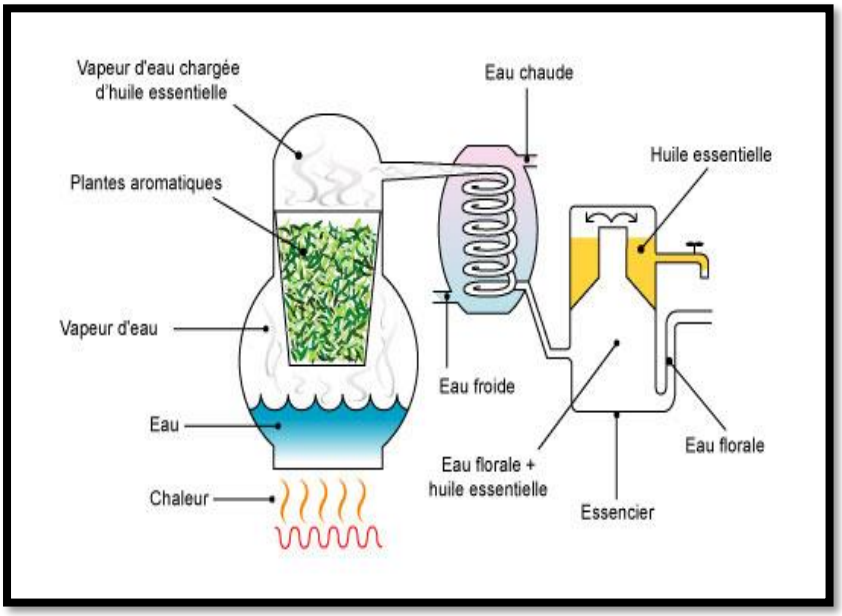


Fig. 6: Principe de la technique de distillation par entrainement à la vapeur d'eau

I- 2-4 Hydrodiffussion

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur, mais contrairement aux autres systèmes de distillation, la vapeur est introduite par le haut pour passer à travers la matière végétale, donc le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange (vapeur d'eau –huile essentielle) dispersé dans la matière végétale (Lucchesi, 2004).

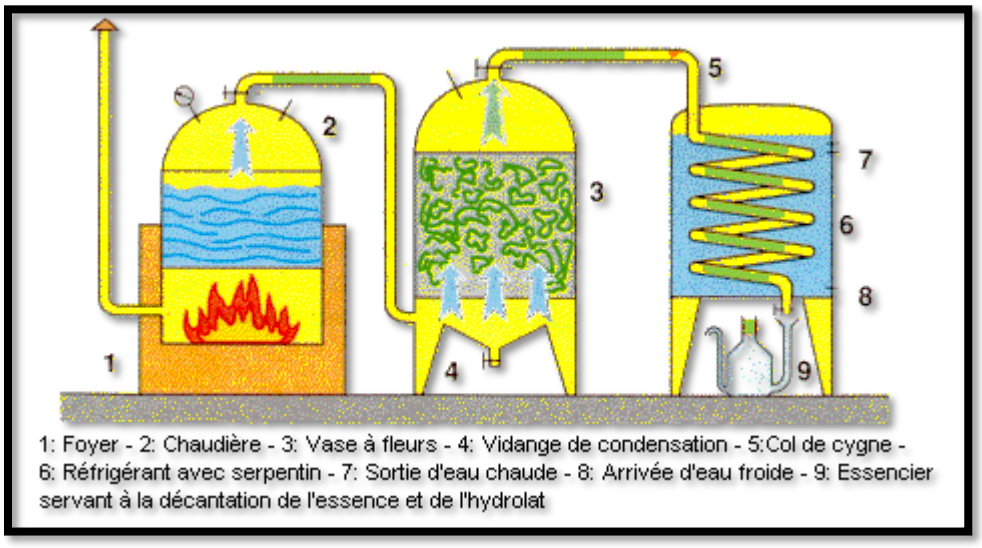


Fig. 7 : principe de la technique d'Hydrodiffussion

I-2-5Extraction à froid

Elle consiste le plus simple des procédés, mais elle ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches et libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

I-2-6 Extraction par le corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer

l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud par immersion des organes végétaux dans le corps gras (Brian, 1995).

I-3Activités biologiques des huiles essentielles

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont dotées d'activités biologiques intéressantes. On peut citer:

I-3-1 Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes et luttent contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique (De Billerbeck, 2007).L'activité antifongique des huiles essentielles peut être due à la présence des terpènes qui causent la rupture des membranes fongiques et inhibent le développement des champignons.

Les huiles essentielles permettent également la protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Zambonelli et *al.*, 2004; Mangena et Muyima, 1999).

I-3-2 Activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles est attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques tels que le linalool, le 1,8-cinéoIe, le géranial, **9,** le néral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes comme l'á-terpinène et le ã-terpinène (Edris, 2003).

I-3-3 Activité antiviral

Les huiles essentielles riches en phénols ont montré une activité antivirale contre certains virus notamment *l'Herpes simplex* (Girard, 2010).

I-3-4 Activité neurale

Les huiles essentielles possèdent une action sédative et agissent sur le système nerveux central en stimulant ou en inhibant le système sympathique ou parasympathique. Elles permettent ainsi la régulation du système nerveux périphérique. (Girard, 2010).

Les huiles essentielles possèdent également d'autres activités telles que l'activité désodorisante dans la mesure où certaines huiles essentielles peuvent être utilisées pour lutter contre les

mauvaises odeurs. De très nombreuses drogues à huile essentielle à savoir Mentha X citrata, Lippiacitriodora, sont réputées et efficaces pour diminuer ou supprimer les spasmes gastro-intestinaux (Bruneton, 1993).

I-4 Données sur *Mentha piperita*

I- 4-1 Présentation de *Mentha piperita*

Selon Paris et Moyse (1971), les menthes appartiennent au genre Mentha de la famille des labiées. Ce genre comporte une vingtaine d'espèces et un grand nombre de sous-espèces et de variétés qui s'hybrident facilement entre elles, rendant la taxonomie du genre particulièrement difficile (Leung et Foster, 1996).appelé aussi menthe poivrée sont des herbes vivaces stolonifères des régions tempérées à savoir l'Europe et l'Afrique du Nord. Ce sont des plantes à tiges quadrangulaires à feuilles opposées. Ainsi, les inflorescences sont selon les espèces en têtes arrondies, en épis serrées ou en pseudo-verticilles axillaires. Quant aux fleurs, elles présentent une corolle subrégulière et quatre étamines presque égales (Figure, 8).

Fig. 8: *Mentha peperita* (Teuscher et *al.*, 2005)

I-4-2 **Classification botanique**

La classification botanique est établie Cronquiste (1981)

Règne: plantae

Embranchement: Spermaphytes

Classe: Magnoliopsida
Sous-classe : Métachlamides

Ordre : Tubiflorales

Famille : Lamiaceae

Genre : Mentha

Espèce : M*enthapeperita.*

I-4-3Répartition géographique

Mentha xpiperita s'est naturalisée dans de nombreux pays d'Europe : Royaume-Uni, Danemark, Irlande, Belgique, Pays-Bas, Allemagne, Autriche, Pologne, Ukraine, Bulgarie, ex-Yougoslavie, Grèce, Italie, Roumanie, France, Portugal, Espagne...
Ainsi que dans les Açores, en Sibérie (Russie), Australie, Nouvelle-Zélande, et aussi en Amérique du Nord (Canada, États-Unis).

Les États-Unis sont les plus gros producteurs de menthe au niveau mondial. Mais il s'en produit aussi en Chine, aux Indes, en Australie, dans quelques pays d'Europe (France, Italie) et au Canada (Lachance, 2001).

En Afrique du Nord, l'espèce est retrouvée dans beaucoup de jardins et en culture pour des buts culinaires (Perrot, 1928).

I-4-4 Composition chimique de *menthapepirita*

L'huile essentielle de la menthe verte est riche surtout en -L-carvone (teneur entre 40 à 80 %), l'acétate de dihydrocuminyle (10 à 12%. Ces deux constituants majeurs sont responsables de l'odeur de la plante. On peut noter ainsi la présence du limonène (5 à 15%). Ils sont accompagnés du dihydrocarvone, du dihydrocarvéol, de l'acétate de carvyle et de â-caryophyllène. Ainsi dans d'autre races chimiques, la carvone est accompagnée de 1,8 cinéol (jusqu'à 20%), de pulégone (jusqu'à 50 %) ou de terpinéol-4 (jusqu'à 18%.(Avato et *al.*,1995).

I-4-5 l'utilisation et l'effet biologique des huiles essentielles de *Menthapiperita*

La menthe fait partie de la culture méditerranéenne depuis des millénaires. Facilement reconnaissable grâce à son parfum particulier, La menthe verte sert généralement à la préparation du thé. Mais on trouve aussi son utilisation en phytothérapie, en aromathérapie, en parfumerie et en cosmétologie (Baba Aissa, 1999).

De plus, la menthe a de nombreuses vertus médicinales. Elle est préconisée comme antispasmodique, aphrodisiaque, analgésique elles permettent de calmer et d'apaiser les douleurs et aromatisante. Des études pharmacologiques ont démontré que cette huile essentielle est utilisée surtout pour les troubles digestifs, les spasmes, les inflammations , les colites, les états nauséeux, et contre certains parasites. Elle présente un effet expectorant en cas de bronchite ou de grippe. Il est à mentionner qu'elle est à la fois rafraîchissant et analgésique (Leung, 1996). Ils ont une activité cicatrisante. A cet effet, elle accélère et favorise la cicatrisation de la peau.

La menthe entre dans l'aromatisation de certains produits, dont les dentifrices, les chewing- gums, les confiseries en générale et les boissons rafraîchissantes ...etc. Néanmoins, la menthe présente dans certains cas des effets indésirables. Aussi, elle est généralement déconseillée aux femmes enceintes. Mais, elle est par contre recommandée en cas de retard menstruel. (Cretti, 1981).

Elle a aussi des propriétés stomachiques qui permettent de faciliter le travail digestif et la digestion, ainsi pour lutter contre certains troubles digestifs. Elles servent aussi de calmant nerveux qui a une action bénéfique et apaisante sur le système nerveux, et son action stimulante et excitante leur donne un effet vertus aphrodisiaques. Ainsi, elles permettent d'éliminer les gaz stagnants dans les intestins, par son effet carminatif. Ces huiles sont ainsi considérées comme des anti catarrhales et expectorantes. Donc, elles peuvent réduire les écoulements mucolytiques et facilitent leur expulsion. Elles agissent aussi sur les voies biliaires en les dégageant et en augmentant leur sécrétion grasse à ses propriétés cholago gueset cholérétiques. On peut noter qu'elles sont très appréciées pour faciliter les menstrues par leurs propriétés emménagogues. On peut également citer parmi les vertus de l'huile

essentielle de la menthe, qu'elle est fébrifugeet permet donc de lutter contre la fièvre. Cette huile est également considérée comme un excellent stimulant qui favorise l'activité physiologique du corps. Il faut prendre en considération que cette substance naturelle possède des propriétés anti-infectieuses. (Leung, 1996).

I-5 Données sur *Thymus nimudicus*

I-5-1 présentationdes huiles essentielles de *Thymus numidicus*

Le nom du thym (en anglais thyme) vient du grec thumos, qui signifie odeur. Plante sacrée, très recherchée dans l'antiquité, le thym était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs. Le thym est originaire du bassin méditerranéen, il existe plusieurs espèces de ce genre dans le monde, et sur celles qui sont actuellement connues (Figure9). L'espèce *Thymus vulgaris* est toutefois la plus répandue. Au Maghreb, on dénombre autres teles que ; *Thymus numidicus*, *Thymus pallescens*, *Thymus ciliatus*, etc. (Richard, 1992)

Fig.9 *Thymus numidicus* (Teuscher et *al.*, 2005).

I-5-2Classification

Thymus numidicus se class comme suit selon (Moraleset *al*.,1997) :

Règne: Plantae

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous class :Dialypétales

Ordre: Tubiflorales

Sous/ordre :Verbéninées

Famille: Lamiacées

Sous/famille : Stachynoidea

Genre : Thymus

Espèce: *Thymus numidicus*.

I-5-3Répartition géographique

Le thym est une plante qui est très répandue dans le bassin méditerranéen Maghreb, France, Espagne, Italie. On le trouve aussi dans les montagnes d'Arabie du Sud-ouest et dans la péninsule de Sinaï en Égypte. Le thym pousse également en Sibérie et en Europe du Nord (Jalas, 1991).

Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (Kabouche*et al.*,2005).

I-5-4Composition chimique des extraits *de Thymus numidicus*

Plante sacrée dans le teneur de 1,5 à 4% diverses compositions ont été décrites. Ainsi, le thymol semble être le composé majeur de l'huile essentielle de plusieurs espèces de thym. Parmi les autres composés on a le carvacrol (teneur jusqu'à 85 %), le p-cymène (jusqu'à 45 %), le linalol, l'a-terpinéol, le camphre, le mélange thymol (jusqu'à 65 %) + carvacrol (5 à 10 %), le mélange thymol (environ 35 %) + ã-terpinéol (environ 18 %) + p-cymène (environ 18 %), le mélange géraniol + acétate de géranyle (jusqu'à 90 %), le mélange linalol + acétate de linalyle (jusqu'à 95 %), le mélange a-terpinéol + acétate d'áterpényle (jusqu'à 96 %), le mélange hydrate de trans-sabinène (jusqu'à 56 %) + terpinéol-4 (jusqu'à 43 %), le mélange

1,8-cinéole + camphre ainsi que le mélange trans-thujanol + terpinénol-4 (Teuscher et*al.*,2005)

I-5-5 Utilisation des huiles essentielles de *thymus numidicus*

En raison de sa saveur aromatique, le thym provoque une stimulation réflexe des sécrétions salivaires, gastriques et biliaires. Il est ainsi utilisé pour ses propriétés régulatrices de l'appétit et comme stimulant digestif.

Des extraits de thym ainsi que son huile essentielle sont fortement antimicrobiens. Tous les chimiotypes sont actifs, mais l'activité bactéricide est plus marquée pour les types à thymol et à carvacrol (Teuscher et *al.*,2005)

L'huile essentielle de thym connaît un grand succès à travers le monde, car elle est depuis longtemps utilisée et connue pour ses nombreuses vertus curatives. De nos jours, l'aromathérapie a permis de découvrir un plus grand nombre d'applications de l'huile essentielle du thym. C'est un produit naturel antiseptique et antibactérienne multi-usage très puissant (Frankel et *al*. ,1995). Il est même considéré l'un des meilleurs produits naturels existants. Elle agit très efficacement contre les infections respiratoires et sur un large spectre

d'infections grasse a son effet anti-infectieux (Bazylko et Strzelecka et *al.* , 2007). Elle a également une activité antimicrobienne, anticancéreuse (Percival et *al*. ,2005), antioxydant (Rolland *et al*. ,2004) elle a même une activité antifongique, et antiparasitaire (Frankel et *al*. ,1995). Elle possède aussi une action stimulante sur le système immunitaire. Elle est également apéritive en stimulant l'appétit. Elle facilite la digestion. Elle est aussi carminative en éliminant les gaz intestinaux et limitant leur production. Ainsi, ses propriétés cholagogues facilitent l'évacuation de la bile vers l'intestin, et elle stimule la régénération hépatique. Il faut noter qu'elle contribue à activer la circulation sanguine. Ces substances naturelles facilitent le traitement des infections urinaires par les vertus urétoniques. L'huile essentielle de thym est également possède une activité antidiabétiques et une activité cardiovasculaire (Renault *et al*., 1955). Enfin, elle permet de lutter contre la mauvaise haleine et contre les fatigues généralisées

I-6 l’oïdium

I-6-1Définition

Les champignons responsables des maladies désignées sous le nom d' "oïdiums" appartiennent à l'ordre des *Erysiphales*(famille des *Erysiphaceae*) au sein des ascomycètes.
Ce sont principalement des pathogènes obligatoires disposant d'une multiplication végétative rapide et s'attaquant à la plupart des plantes cultivées et sauvages (Bolay, 2005).
*Erysiphegraminis*forme des plages de mycélium superficiel blanc puis gris sur les feuilles, les graines et les épis d'orge. Les feuilles restent vertes et actives pendant un certain temps après l'infection, puis les zones infectées meurent progressivement. Les conidies sont formées en grand nombre et se présentent sous forme de poudre blanche à la surface du mycélium. Elles sont dispersées par le vent à des distances considérables et infectent les feuilles saines. L'Oïdium est donc favorisé par l'alternance de conditions humides et sèches (Anonyme ,1997).

I-6-2 Description de l'anamorphe

*Erysiphenecator*est un ectoparasite, dont le mycélium filamenteux et cloisonné se développe uniquement à la surface des organes de l'hôte. Il est amphigène sur feuilles se développant indifféremment sur les deux faces du limbe et s’observe sur l'ensemble des parties herbacées de la courgette (Figure 9).

Fig. 10: Feuilles de courgette contaminée par l’oïdium

Les hyphes mycéliens sont hyalins, septés, mononuclés et alternent dans la formation d’appressoria ou l’élaboration d’un conidiophore (Leinhos*et al.,* 1997). Les nombreuses ramifications d’hyphes aboutissent à la formation d’un réseau mycélien dense, dont

l’apparence de poussière grisâtre est à l’origine de la dénomination anglosaxone de « Mildiou poudreux » (*Powderymildew*) (Figure 9). Le parasitisme s'accomplit par l'élaboration d'un appressorium, du latin "apprimere" qui signifie "presser contre". C’est un organe lobé, isolé ou par paire, spécialisé dans la perforation de la cuticule afin d'installer un haustorium dans les cellules épidermiques. Ce suçoir de type globulaire assure la nutrition du champignon au détriment de la cellule infectée (Heintz et Blaich, 1990).

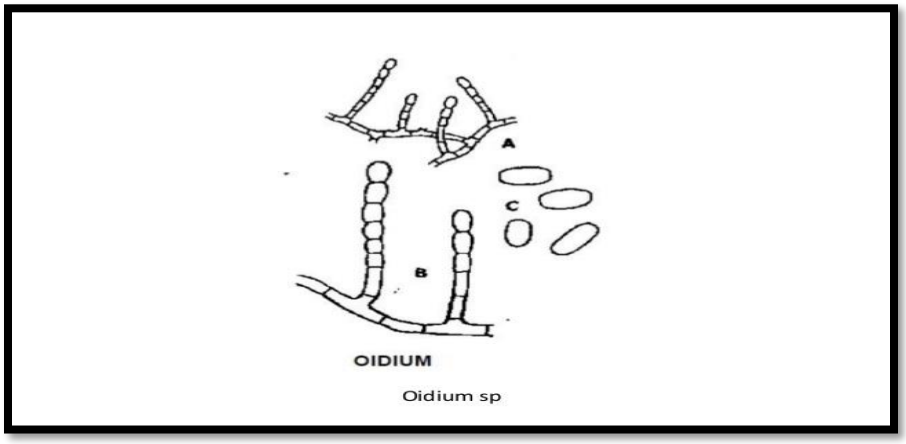


Fig 11: Anamorphe d'*E. necator*d'aprèsBolay (2005).

A. conidiophoresde type pseudoïdium avec une cellulebasale flexueuse à torsadée,

B .appressoria lobés, C. conidies.

I-6-3 LE DEVLOPMENT ET LE CYCLE DE L’OIDIUM :

Le développement d'*E. necator*ralentit proportionnellement à l'écart de ces optima climatiques, pour atteindre des limites létales à 4°C et à 35°C. Les pluies fines sont favorables au champignon en augmentant l'humidité relative de l'air. Tandis que les fortes précipitations lessivent les colonies établies. En outre, l'eau libre réduit le taux de germination par éclatement des conidies, et inhibe la formation d'appressoria (Corio-Costet, 2007).

Un mouvement foliaire dû à une vitesse de vent supérieure à 3 m s-1 et l'impact de gouttes de pluie permet la dispersion des conidies (Willocquet*etal.*, 1998). Ainsi, Gadoury (1987), dans le cadre de la protection phytosanitaire, les pulvérisateurs atteignent des vitesses de pulsion d'air largement supérieure à cette valeur et peuvent participer activement à la dissémination du pathogène. La spécificité de biotrophie rend les oïdiums capables de survivre lors de périodes d'activité restreinte, où les tissus de l'hôte ne sont pas disponibles. Selon Sall et Wrysinski (1982) et Pearson et Gärtel (1984), les cleistothèces sont des structures résistantes, adaptées aux basses températures. Cependant, *E. necator*est également capable de passer

l'hiver dans des bourgeons dormants sous forme mycélienne. Après éclosion, les bourgeons infectés expriment des symptômes sous forme de "drapeaux", constituant l'inoculum primaire d'initiation de l'épidémiologie (Bélanger *etal.*, 2002). Selon Rügner*etal.*, (2002), les jeunes pousses présentent de larges plages de mycélium et provoquent des malformations foliaires, dont les bordures sont recourbées vers le haut. Corio-Costet (2007) montre que l'observation de l'une ou l'autre forme d'hivernage semble être liée aux régions viticoles, aux cépages et aux modes de conduite (Figure 12).

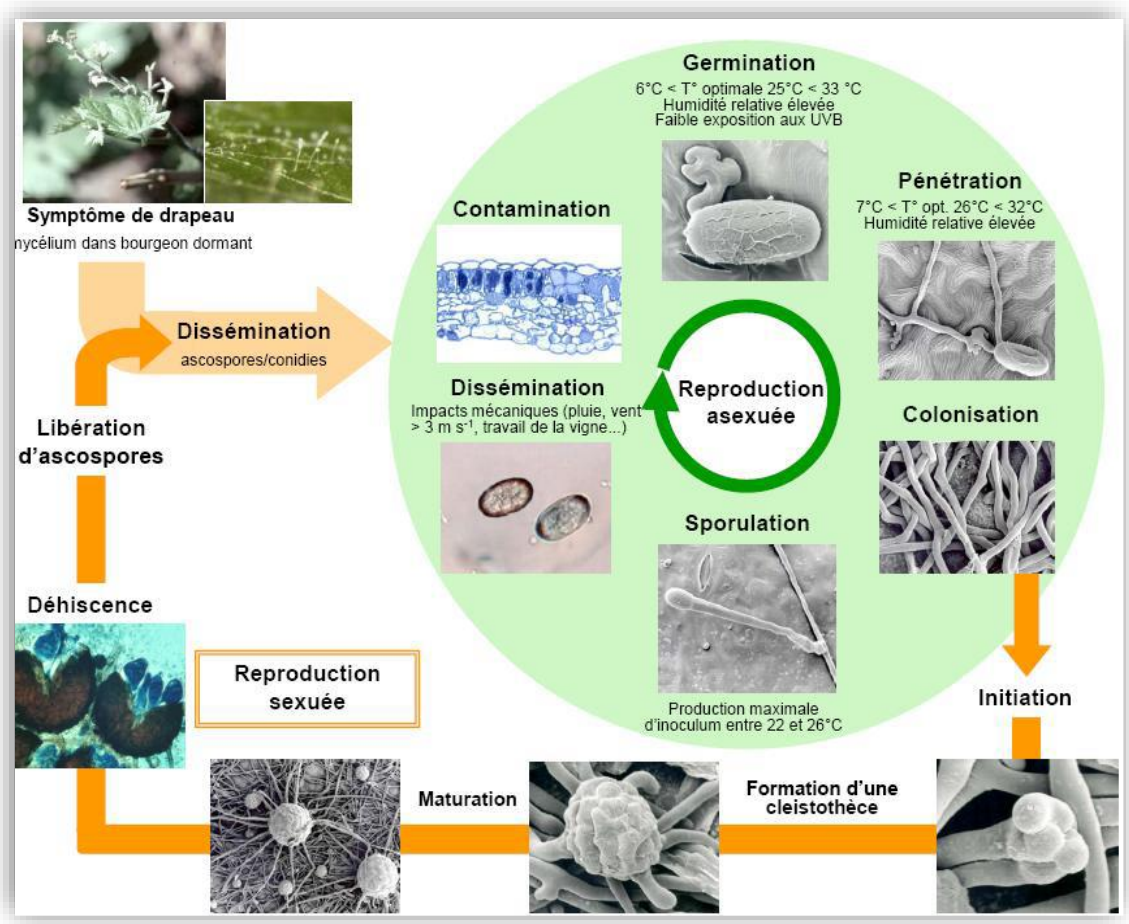


Fig. 12 : L'optimum pour la germination des conidies et pour la croissance du mycélium s'observent à 25°C (Delp, 1954) et 85% HR (Carroll et Wilcox, 2003).

I-6-4Lutte contre Oïdium :

Historiquement, le soufre est le premier fongicide agissant contre l'Oïdium, par son rôle compétitif de l'oxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale (Tweedy et Turner, 1966). Son mode d'action multi-sites, son faible coût et son efficacité font que le soufre est encore largement employé sous différentes formes; soufre mouillable ou sous forme de poudrage dans les plans de traitement. Le milieu du XXe siècle a vu l'apparition du premier fongicide organique de contact anti-oïdium inhibant la phosphorylation oxydative mitochondriale (Dinocap). Ainsi, les benzimidazoles et les triazoles/pyrimidines sont respectivement des inhibiteurs de la biosynthèse de la β-tubuline et de la C14 déméthylase, enzyme de la biosynthèse des stérols. L'utilisation de ces premières fongicides systémiques a conduit à l'apparition de phénomènes de résistance dans les populations fongiques. Plus récemment, d'autres fongicides ont été développés tels que les inhibiteurs du cytochrome b mitochondrial (Quinone outsideInhibitors, QOI).

Devant l'apparition généralisée de résistance à certains fongicides unisites , de nouvelles molécules dites "naturelles" sont arrivées sur le marché comme inducteur de défense de la plante (Stifénia®, Bion®, Milsana®)(Steva et Clerjeau, 1990; Pezet et Bolay, 1992; Gubler*et al.*, 1996; Erickson et Wilcox, 1997, Savocchia*et al.*, 2004).

Les lactoferrines et la production de radicaux libres après exposition de lait à la lumière naturelle ont un effet toxique sur les structures fongiques d'*E. necator*(Crisp, 2006).

L'application de l'huile végétale a également montré une efficacité contre l'Oïdium (Martin *et al.*, 2005). Mais, elle reste tributaire des conditions météorologiques pour éviter toute phytotoxicité (Sall, 1980; Chellemi et Marois, 1991; Gubler*et al.*,1999).

La lutte contre l'Oïdium par l'application de modèle de prévision des risques cherche à intégrer de nombreux paramètres déterminants, afin de mieux positionner les fongicides en fonction de la pression de la maladie. Si les premiers modèles se basaient essentiellement sur les paramètres climatiques de nouveaux modèles tentent d'intégrer le développement du pathogène en parallèle à la croissance de l'hôte et à la sensibilité de ses organes (Calonnec*et al.*, 2005 et 2008).

Chapitre II :Matériels et méthodes

L'objectif visé à travers cette étude est l'utilisation des plantes pouvant servir de pesticides biologiques, afin de limiter l'utilisation de produits chimique classiques.

L'étude consiste à tester l'efficacité des huiles essentielles du thym et de la menthe contre l'Oïdium.

II Matériel et méthodes

II -1 Matériel

Le matériel utilisé pour le présent travail comporte un matériel biologique constitué par le végétal et le champignon ainsi qu'un matériel non biologique comprenant la verrerie, les équipements, les appareils et les produits chimiques (Annexe.1).

II -1-1 Matériel biologique

Pour le présent travail, on a récupéré des feuilles fraîches infestées à partir d'une culture de courgette sous serres en période de récolte durant le mois de févier 2017 à Boudouaou El Bahri (Figure, 12).

La récolte des feuilles est réalisée manuellement le matin à 10h. Ces feuilles sont mis par la suite dans des sacs en papier propres et conservé par la suite a 4°C (Figure, 13).

Fig.13 : Localisation du lieu de récolte Boudouaou El Bahri

Fig. 14: Feuille de courgette récoltée touchée par l'Oïdium

Fig. 15: Menthe poivré récoltée à Larbaa

Fig. 16: Thym de numidie récoltée à Chréa

Mentha piperita a été récolté en début de la floraison entre la fin du mois de Mars et le début du mois d'Avril 2016 dans la région de Larbaa (Blida) Il est à noter que la partie aérienne est plus exactement les sommités fleuries qui a fait l'objet de cette étude. (figure.15).

Le matériel végétal utilisé lors de notre étude est représenté par les parties aériennes fraiches; tiges et feuilles de *Thymus numidicus*, qui ont été récoltées à Chréa (Blida) pendant le mois d'Avril 2016.(figure.16).

II -2 Méthode

Pour réalisé cette étude en à fait appelle a un protocole bien précis dont ses étape et sont cheminement et présenté dans la figure suivante (figure 16)

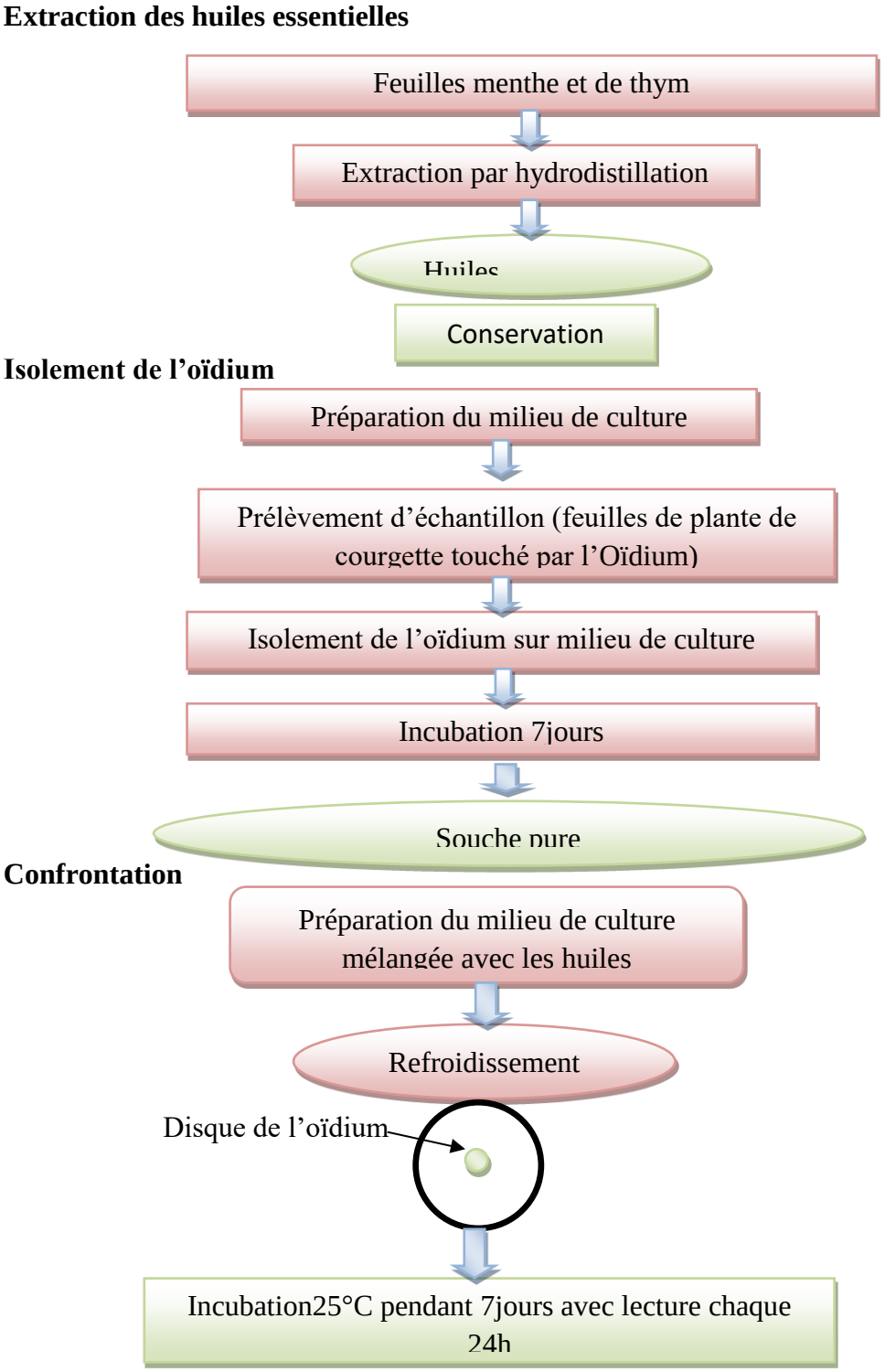


Fig.17: Schéma de protocole expérimental de l'évaluation de l'activité anti fongique de *Thymus numidicus*et de *Menthapeperita*

II-2-1.**Principe de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (M.O.C. SN. 001)**

Les huiles essentielles utilisées ont a été extraite au niveau du laboratoire des substances naturelles au Centre de Recherche et de Développement du Groupe SAIDAL à l'échelle laboratoire par le procédé de l'hydrodistillation. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide (végétal) dans l'eau portée à ébullition, la vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense pour donner le distillat qui est composé de l'eau florale et de l'huile essentielle (Figure, 15).

Fig. 18: Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle du laboratoire (SAIDAL, 2016).

-Appareil Clevenger-

II.2.1.2. Mode opératoire

Dans un ballon d'une capacité de 2 litres, on introduit 100 g de matière végétale découpée. Puis, on ajoute un volume d'eau qui correspond à 2/3 de la capacité du ballon.

Ensuite, on adapte le ballon à l'appareil de condensation et on alimente le réfrigérant en eau. Ainsi, le ballon et son contenu sont mis sur un chauffe-ballon.

Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers le col de cygne (le coude) qui relie le ballon au réfrigérant. Enfin le distillat est récupéré dans un erlenmeyer recouvert d'un papier aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur. L'extraction des huiles essentielles dure 2 heures.

II.2.1.3.Décantation de l'huile essentielle (M.O.C. SN. 005)

Le distillat récupéré comporte deux phases, une phase majoritaire qui contient les constituants hydrosolubles, sur laquelle surnagent quelques gouttes d'huile essentielle représentant la deuxième phase.

L'huile essentielle est séparée de l'eau par une série d'extraction liquide-liquide, avec le solvant organique (Ether diéthylique).

L'opération de décantation a été effectuée à l'aide d'une ampoule à décanter, dans laquelle on verse le mélange des deux phases. Par la suite, on laisse le mélange hétérogène décanter jusqu'à l'obtention de deux phases distincte ; la phase supérieure dite organique comporte l'huile essentielle et la phase inférieure qui correspond à la phase aqueuse.

A la fin, on filtre la phase organique à l'aide d'un papier filtre qui contient le sel de sulfate de sodium anhydre, et ce afin de piéger les molécules d'eau restante.

La phase organique est récupérée dans un tube, qu'on laisse à l'air libre pendant 24 à 48 h pour l'évaporation complète du solvant.

L'huile essentielle est conservée dans des flacons bruns hermétiquement fermés.

II.2.1.4**Rendement d'extraction:**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle sur la masse végétale sèche, exprimées dans les mêmes unités de masse.

Le rendement est donné par la relation suivante :

$$R\ (\%) = m\ HE\ cum / m\ M\ V_s$$

$$mM\ V_s = m\ M\ V_F\ (1\text{-}TH)$$

R : Rendement.

m HE cum : masse de l'huile cumulée.

mM V_S : masse de la matière végétale sèche.

mM V_F : masse de la matière végétale fraîche.

TH : taux d'humidité.

Pour calculer le rendement, on doit déterminer le paramètre suivant:

II.2.1.5 **Détermination du taux d'humidité**

Pour déterminer ce facteur, on utilise l'appareil de Dean et Stark.

Dans un ballon de 1 litre on introduit environs 10g de matière végétale. On verse ensuite 100 ml du toluène dans le ballon que nous surmontons d'un réfrigérant muni d'un récipient gradué. Ensuite on porte à reflux jusqu'au moment où le niveau d'eau soit constant. A la fin de l'opération, On augmente le chauffage dans le but de récupérer toutes les gouttes d'eau disposées sur les parois du réfrigérant.

Après refroidissement le volume d'eau est noté et le taux d'humidité est calculé à partir de la formule suivante.

$$TH = V/m\ MV_F \times 100$$

TH: taux d'humidité

V:volume d'eau

m MV_F : masse de la matière fraiche

II-3 **Identification de champignons**

L'observation in situ de la morphologie des chaines de spores et celles du mycélium est référée aux travaux de Barnett et *al.,* (1999) et Guillaume (2006). Elle se fait soit par un montage entre lame et lamelle et l'ajout d'une goutte de bleu de méthylène ou d'une goutte d'eau stérile, soit par prélèvement de champignon à l'aide du scotch et les mettre sur une lame contenant une goutte de bleu méthylène.

II-3-1**L'Isolement de l'oïdium :**

II-3-2**Préparation du milieu**

Le milieu choisi est le milieu Malt préparé comme suivant selon Rapily :

Mélanger 20 g du malt avec 10 g d'agar et1000 ml d'eau distillé et on le mets dans l'autoclave pendant 20 min a 120°C. Le milieu de culture est versé dans des boites Pétri à raison de 20ml par boite. Ces boites sont laissées refroidir sur la paillasse (Figure 19).

Fig. 19 : Milieu de culture malt

II.3-3 **Isolement de l'Oïdium sur le milieu de culture**

Dans une hotte et a l'aide d'un ciseau stérile, on coupe aseptiquement des petit morceaux de feuilles de courgette touchées par l'Oïdium et on les mets dans des boite Pétri à l'aide d'une pince stérile. Une incubation pendant 7jrs à 25°C doit être assurée (Figure 20)

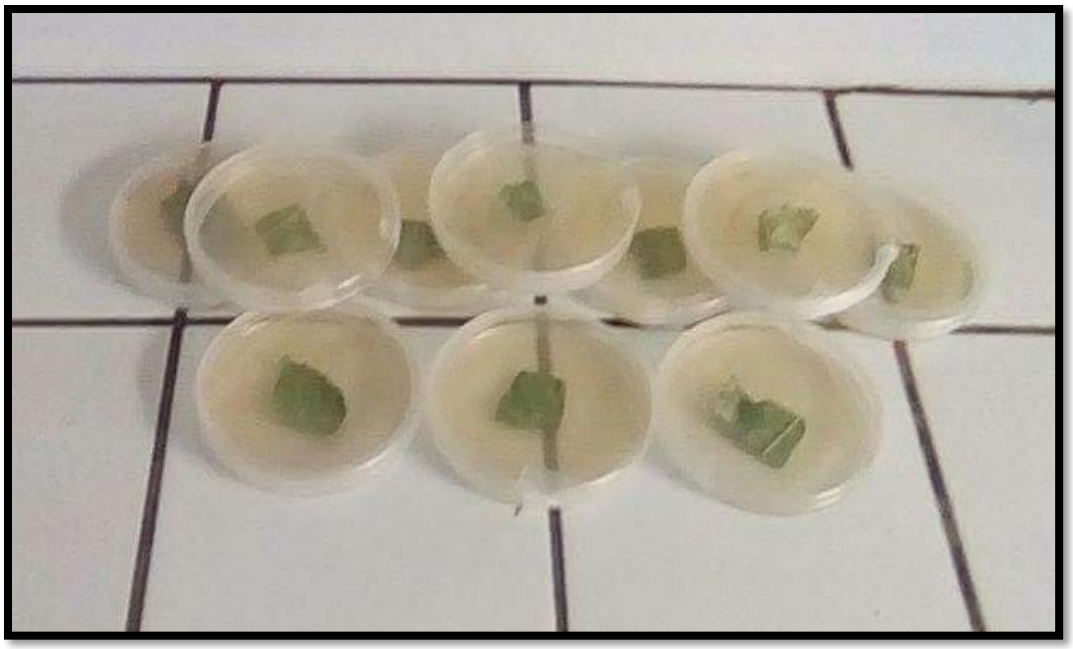


Fig.20: Isolement de l'Oïdium sur milieu de culture

II.3.4 **Purification :**

L'Oïdium est un champignon qui pousse a l'extérieure de la feuille. Donc, on a jugé utile dans un premier temps de procéder à la purification pour l'obtention d'une souche pure. Pour cela, on a réalisé un repiquage (Figure 21)

Fig. 21: Présence de différentes souches fongiques

Après identification de l'Oïdium par microscope photonique entre lame et lamelle à partir du premier repiquage, on a fait un second repiquage. Ainsi, on prend une petite partie dans la quelle on a identifie le champignon en question, et on la dépose au centre de la boite contenant le milieu Malt. Cette technique est répétée dans plusieurs boites (Figure, 20)

Le résultat du 2ème repiquage et donné dans la figure suivante (Figure, 21)

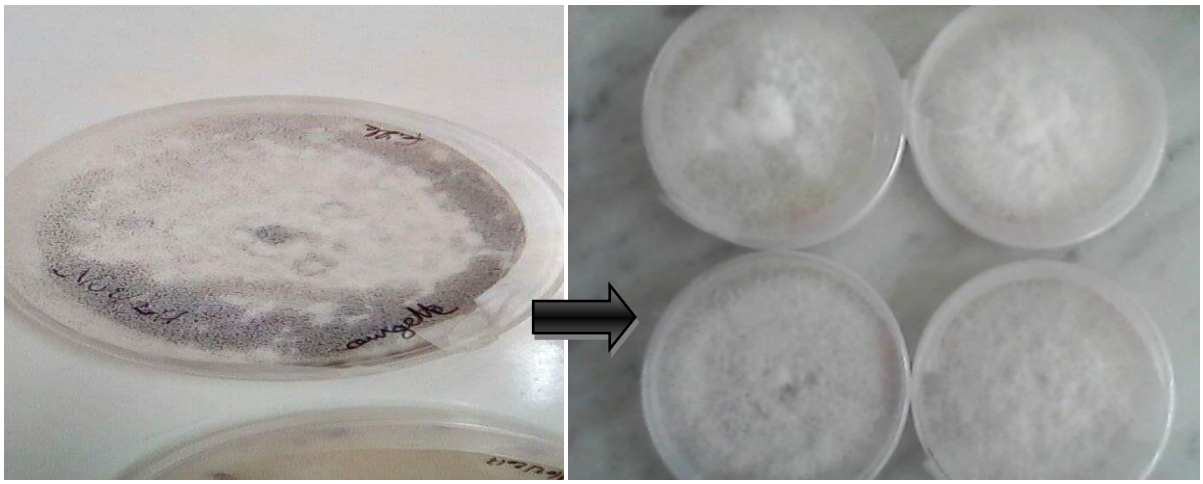


Fig. 22: La culture pure de l'Oïdium après le repiquage

II.4.. **Etape de confrontation**

L'objectif de cette étude est de tester des huiles de la Menthe et du Thym in vitro sur la croissance mycélienne et sur la formation des organes reproducteurs du genre *Oïdium* isolé à partir des feuilles de courgette infectées.

Les bio-essais sont effectués au laboratoire de mycologie de la station régionale d'Alger de l'Institut National de la Protection des Végétaux

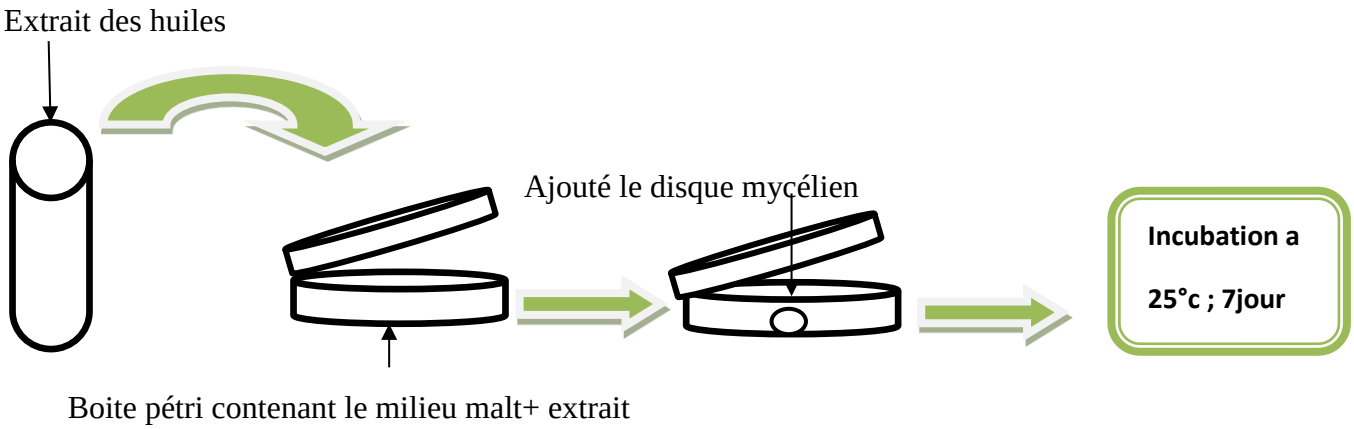


Fig.23 : Méthode de contact directe (El Hassani et *al.*, 2007)

II.4.1. **Préparation des milieux de culture avec les extraits des huiles essentielles**

Cette étape consiste à liquéfie le milieu gélosé Malt dans un autoclave pendant 20min. Puis on coule aseptiquement les milieux en surfusion dans des boite de Pétri à raison de 20ml par boite de Pétri. Avent que le milieu soit solidifier en lui rajoute à chaque fois une dose de l'huile essentielle. Le tableau suivant montre les doses utilisées.

Tableau 1: les doses utilisées.

Les huiles essentielles	**Les doses utilisées**
Thymus numidicus	400micro
	700micro
	1mililitre
Menthapeprita	400micro
	700microlitre
	1mililitre

Ce traitement a été réalisé à travers trois répétitions. Ainsi, des boites témoins ont été mises à notre disposition (Figure, 24).

Fig. 24: Les boites de traitement

II.4.2 **Préparation des disques mycéliens**

Après l'obtention d'une culture pure à l'aide d'une pipette Pasteur, on a fait des disques mycéliens d'environ 5 mm de diamètre (Figure, 25)

Fig. 25: boite de pétri des disques mycéliens préparé

II.4-3 **Dépôt des disques dans les boite de Pétri contant milieu malt et les extraits**

Une fois le milieu de culture qui contient les huiles essentielles est solidifié, on prélève aseptiquement à l'aide d'un pipete stérile un disque. Puis, on le dispose sur la gélose préalablement préparée. Enfin les boite de Pétri sont ensuite fermés et laissés diffuser sur la paillasse**.**

II.4-4 **Incubation**

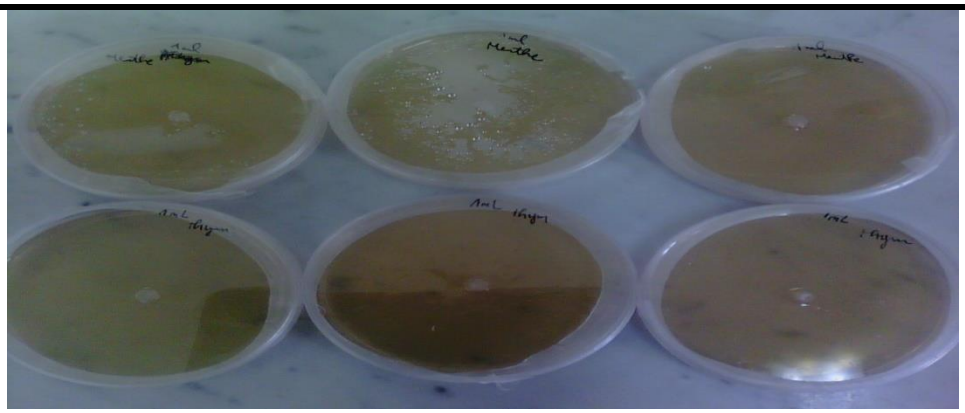
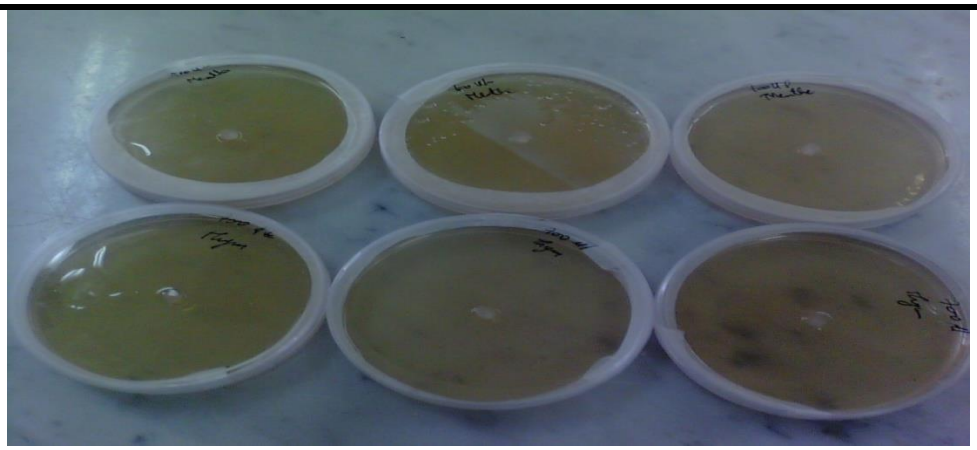
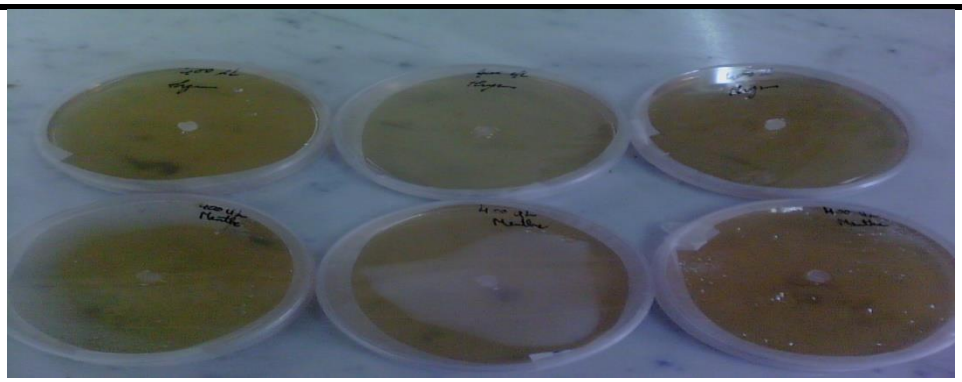
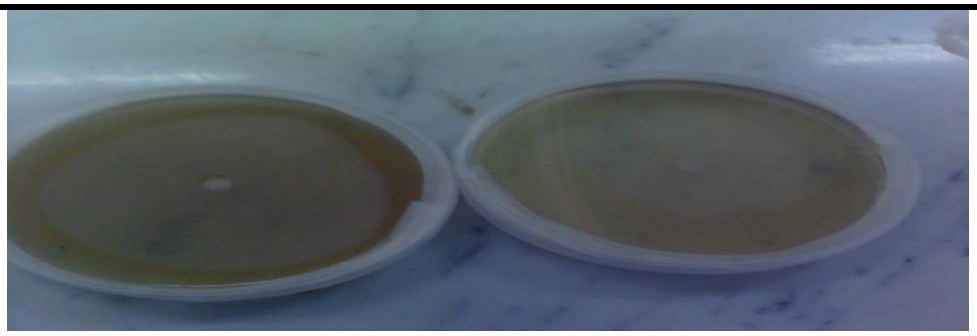
L'incubation a été faite par le dépôt au centre de la boite d'une pré-culture de 7 jours à 25°C et on surveille le développent de l'Oïdium (Figure 26)

II.4-5 **Lecture**

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre de la croissance mycélienne autour de chaque disque à l'aide d'une règle graduée en centimètre.

Le résultat des étapes précédentes est donné dans le tableau suivant

Tableau 2 : des résultats des premières étapes du travail.

Boite de Pétri contenant la dose de 1ml de *Thymus numidicus* et de *Mentha piprita*	
Boite de Pétri contenant la dose de 700 microlitre de *Thymus numidicus* et de *Mentha peprita*	
Boite de Pétri contenant la dose de 400microlitre de *Thymus numidicus* et de *Mentha peprita*	
Les 2 boites témoin (aucun traitement)	

II.5**Evaluation de l'activité antifongique des huiles de la Menthe et du Thym**

L'effet antifongique des extraits testés vis-à-vis de l'*Oïdium* sp est déterminé par la mesure du taux de la croissance après incubation à 25 C° pendant 7 jours en utilisant la formule d'Ebbot (Motiéjunaité et Peiculyté, 2004).

$$T = (DK - D0)/DK \times 100$$

DK : Diamètre de la colonie fongique du témoin en (cm);
D0 : Diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait en (cm);
T : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

L'extrait est qualifie de Très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75% et 100 %, la souche fongique est dite sensible. Il est actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 %et 75%, la souche fongique est dite sensible. Il est considéré moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25% et 50%, la souche fongique est dite limite. En fin, il est peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0% et 25%, la souche fongique est dite peu sensible ou résistante. (Motiéjunaité et Peiculyté, 2004).

II.5-2 **Vitesse de croissance :**

Pour calculer la vitesse de croissance de l'Oïdium, on a utilisé la loi suivante

$$V = D/T$$

V = la vitesse de croissance en cm /jour

T = le temps de croissance en jour

D = le diamètre de croissance en cm

Chapitre III :résultats et discussion

III -1 Résultats

III -1-1Extraction et rendement en huile essentielles des feuilles de la menthe poivrée et du thym de numidie

III -1-2 Calcul du rendement du taux d'humidité :

Le rendement en huile essentielle est exprimé par la quantité d'huile en millilitre obtenus pour 10g de matière végétale sèche.

Après avoir suivi toutes les étapes décrites dans le protocole expérimental, on est parvenu aux résultats suivants.

Les résultats portant sur le rendement et du taux d'humidité de la menthe poivrée sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 3: Les résultats du rendement et du taux d'humiditéde la menthe poivrée.

Taux d'humidité	Le rendement
75,92%	**2,02%**

Un tableau comparatif des résultats du présent travail avec ceux de la norme (A.F.N.O.R.), c'est le tableau 6.

Tableau 4: Comparaison du résultat du rendement de la Menthe poivrée en huile essentielle avec ceux de la référence A.F.N.O.R.

Rendement en huile essentielle de la Menthe poivrée de la région de Larbaa	Rendement en huile essentielle de la Menthe poivrée de la norme A.F.N.O.R.
2,02%	**2%**

Les résultats de la présente étude montrent que le rendement en huile essentielle des sommités fleuries de la Menthe poivrée est relativement fort, il est de 2,02%. On constate que le rendement obtenu à partir de la Menthe poivrée de la région de Larbaa est très proche de celui cité dans la référence A.F.N.O.R. (1996).

Le rendement en huile essentielle de la Menthe poivrée varie en fonction de la période de récolte et aussi selon le pays. En effet, on note que le rendement en huile essentielle de la Menthe poivrée croissant à Larbaa récoltée au stade floraison (partie aérienne) est très proche de celui trouvé en Norvège qui est de l'ordre de 2,49% selon ROHLOFF et *al*., (2005). Ainsi, la valeur du rendement en huile essentielle obtenu lors de la présente étude est très proche à celle notée par BEHIDJ-BENYOUNES et *al.,* (2013). Mais il est plus élevé que celui de la Menthe poivrée de Pologne soit 0,58% en Aout 2006 et 0,62% en Juillet 2007. D'après DAMABRAUSKIENE et *al*., (2008), il est aussi plus élevé que celui de l'Ukraine avec 0,41% en Aout 2006 et 0,43% en Juillet 2007.

Cette étude montre clairement que seule une récolte de la Menthe poivré en plein floraison permet de garantir un bon rendement.

III -1-3 Calcul du rendement en huile essentielle de*Thymus numidicus*

Le rendement en huiles essentielles de *Thymus numidicus,* est de 1,2%.

La valeur du rendement en huile essentielle obtenue lors de ce travail est proche à celle trouvée par BEHIDJ-BENYOUNES et *al.,* (2015). Cependant, **HUDAIB** et *al*., (2002), ont trouvé que le rendement diffère d'une période à une autre. Le meilleur rendement (1,2%) est obtenu avec la plante cueillie au mois de juillet, l'âge et le cycle végétal d'une espèce donné influe sur le rendement.

III-1-4 Le taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de cet échantillon ont révélé que le taux d'humidité est important (= 49,89%). Cela signifie approximativement que la moitié du poids de la plante fraiche est constitué par l'eau (Figure 26).

Par contre, chez *Thymus fontanesii* l'organisme végétale comprend en poids approximativement des proportions équivalentes de matière sèche et l'eau **(Mebarki, 2010).**

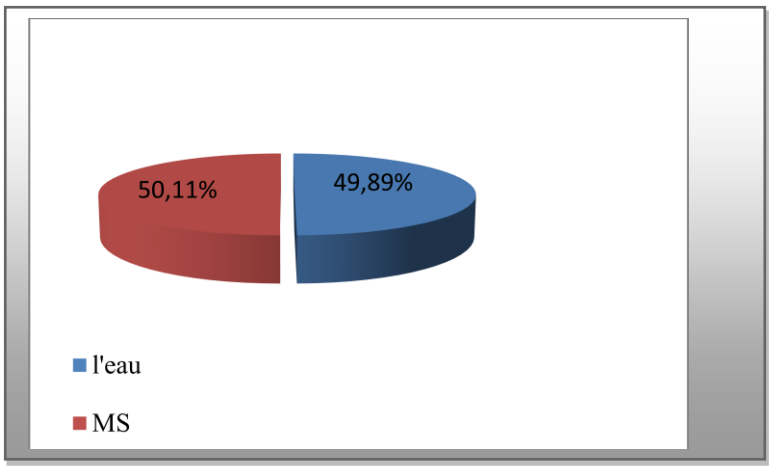


Fig. 26 : Teneur en humidité de *T. numidicus*

III-1-5 Evaluation de l'activité antifongique des extraits végétaux du Thym et de la Menthe poivrée

Les huiles essentielles du Thym et de la Menthe poivrée possèdent des propriétés antifongiques plus ou moins prononcées qui est révélée par la présence ou l'absence de la croissance mycélienne.

Le pouvoir d'inhibition de croissance exercé par les extraits du Thym et de la Menthe poivrée à différentes concentration sur la souche fongique; l'Oïdiumest présenté dans le tableau 4

Les résultats de la mesure du diamètre (en centimètre) de la croissance mycélienne du champignon sont présentés dans les tableaux suivants

Tableau 5: Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* vis-à-vis de l'Oïdium en fonction de temps et de la concentration des extraits végétaux

Jour	**1er**	**2ème**	**3ème**	**4ème**	**5ème**	**6ème**	**7ème**
Témoin	1	2,4	3	4,2	6,0	6,7	8,5
	1,2	2,4	3,3	4,5	5,6	6,8	85
concentration 1000ul	0,5	0,8	2,1	2,6	4,2	5	5,2
	0,5	1,1	2	2,5	3,9	4,7	5,2
	0,7	1,3	2,5	3	3,5	4,7	5,3

concentration 700ul	0,5	1,2	2,2	2,5	3,9	5	5,4
	0,5	1,2	2,5	2,9	3,7	4,8	5,4
	0,5	1,4	2,5	3	4	5	5,4
concentration 400ul	0,5	1,3	2,4	3	3,5	5	5,4
	0,5	1	2	2,6	3,7	5	5,2
	0,5	1,1	2	2,8	3,5	5	5,2

Tableau 6: Evaluation d'activité antifongique de l'huile essentielle de *Menthapeperita* vis-à-vis de l'Oïdium en fonction de temps et de la concentration des extraits végétaux

Jour	**1er**	**2ème**	**3ème**	**4ème**	**5ème**	**6ème**	**7ème**
Témoin	1	2,4	3	4,2	6	6,7	8,5
	1,2	2 ,4	3,3	4,5	5,6	6,8	8,5
concentration 1000ul	0,5	1	1,8	2,5	3,6	4,6	5
	0,5	1,1	2	2,5	4	5	5,5
	0,5	0,5	1,5	2,3	3,9	4,3	4,8
concentration 700ul	0,5	1,4	2,4	2,9	4	49	5
	0,5	1,2	2,4	3,1	4,3	5	5,4
	0,5	0,9	1,8	2,2	3,9	5	5,3
concentration 400ul	0,5	2	3,4	3,9	5	5,2	5,4
	0,5	1,3	2,4	3,2	4,6	5,4	5,2
	0,5	1,5	2,5	3,1	4,3	5	5,1

La sensibilité de l'Oïdium aux huiles est déterminée selon le diamètre de croissance mycélienne pendant 7 jours par rapport au témoin.

Les résultats après un jour d'incubation par le traitement du Thym sont montrés dans la figure suivante.

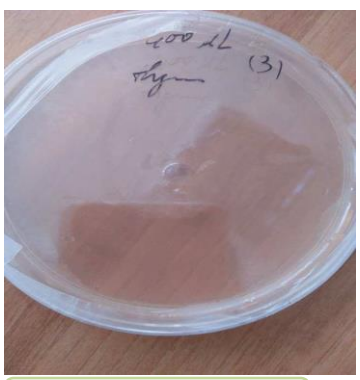


Figure. 27a

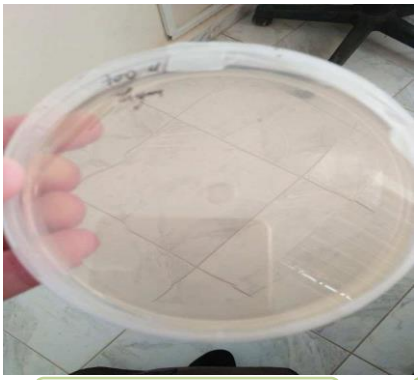


Figure. 27b

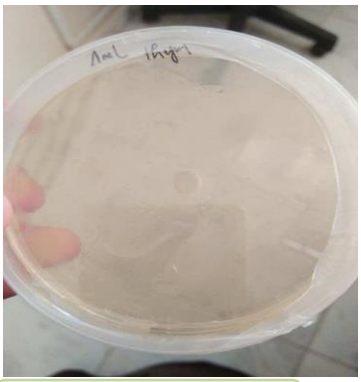


Figure. 27c

Fig. 27 a: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (400ul)*

Fig. 27b : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (700ul)*

Fig. 27c : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (1000ul)*

Fig. 27: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne exercée par l'huile essentielle de *Thymus numidicus* sur l'Oïdiumle premier jour d'incubation

Figure. 28d

Figure. 28e

Figure. 28f

Fig. 28d: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita (400ul)*

Fig. 28e: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita (700ul)*

Fig. 28f: La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita (1000ul)*

Fig.28: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par l'huile essentielle de *Menthapeperita* sur l'Oïdium le premier jour d'incubation

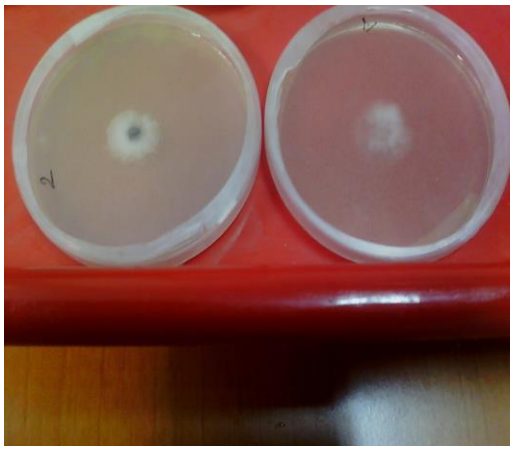


Fig. 29: Témoin après un jour d'incubation

L'observation des résultats du 3ème jour sont présente dans la figure suivante.

Fig.30: Témoin de troisième jour d'incubation

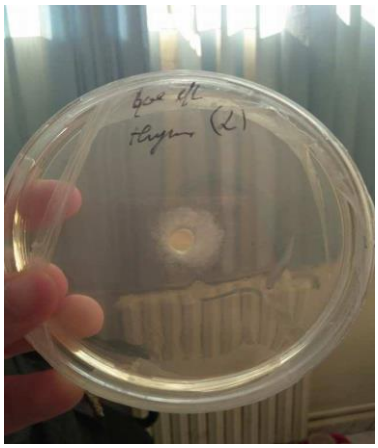


Figure .31A

Figure. 31B

Figure. 31C

Fig31A : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (400ul)*

Fig. 31B : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (700ul)*

Fig. 31C : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Thymus numidicus (1000ul)*

Fig.31 Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par l'huile essentielle de *Thymus numidicus* sur l'Oïdium le troisième jour d'incubation

Figure. 32D

Figure. 32E

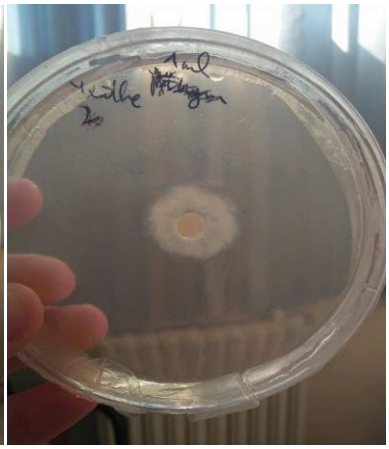


Figure. 32F

Fig.32D : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita*(400ul)

Fig. 32E : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita*(700ul)

Fig. 32F : La sensibilité de l'Oïdium vis-à-vis de l'extrait de *Menthapeperita*(1000ul)

Fig.32: Taux d'inhibition de croissance mycélienne exercée par l'huile essentielle de *Menthapeperita* sur l'Oïdium l*e* troisième jour d'incubation

Les résultats après 7 jours d'incubation par le traitement de la Menthe et du Thym sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau 7:Les résultats après 7 jours d'incubation par le traitement de la Menthe et du Thym

Témoin **Menthe 1000** **Thym 1000**	
Témoin **Menthe 700ul** **Thym 700ul**	
Témoin **Menthe 400ul** **Thym 400ul**	
Témoin (1et 2)	

III - 1-6Calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

Le tableau suivant présente la moyenne du diamètre de croissance des colonies le 7ème jour

Le tableau8 : Moyenne du diamètre de

croissance des colonies le 7ème jour

	Diamètre de la colonie le 7ème jour (Thym de numidie)	**Diamètre de colonie le 7ème jour (Menthe poivrée)**
Témoin	8,5 cm	8,5 cm
Concentration 1000ul	5,23 cm	5,1cm
Concentration 700ul	5,4cm	5,2cm
Concentration 400ul	5,26cm	5,23cm

Les résultats d'évolution de diamètre et représenté dans le graphe suivant (Figure33)

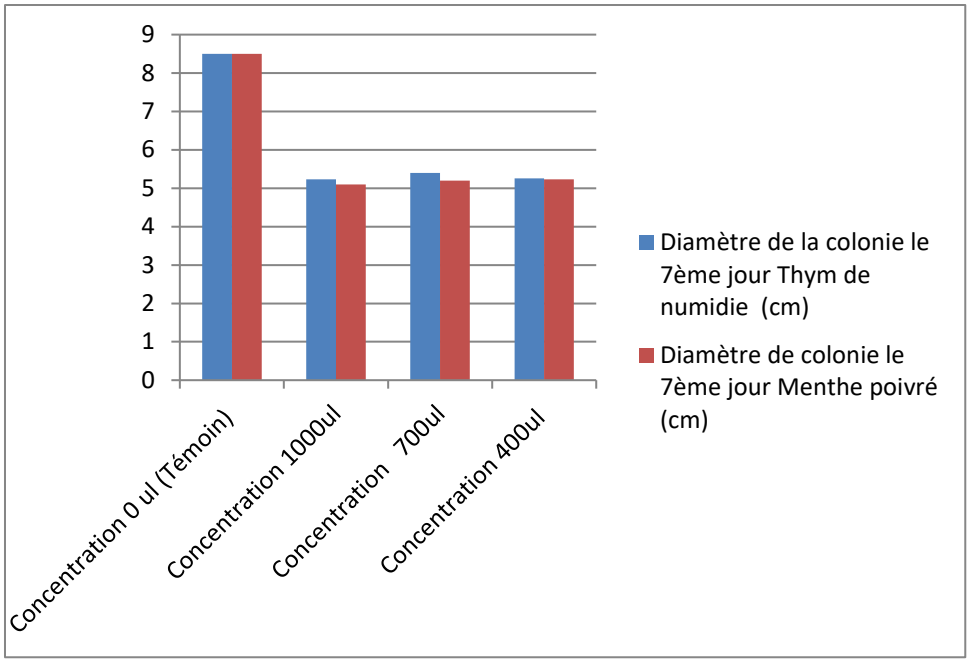


Fig. 33: le diamètre des colonies du thym de numidie et de la menthe poivrée le 7ème jour

III -1-6-1 Taux d'inhibition de la croissance du champignon dans les boites contenant le Thym tableau 9 :

La dose	1000ul	700ul	400ul
Le taux d'inhibition	38%	36%	38%

III **-1-6-2Taux d'inhibition de la croissance du champignon dans les boites contenant la menthe tableau 10 :**

La dose	1000ul	700ul	400ul
Le taux d'inhibition	**40%**	**38%**	**38%**

III -1-7 Vitesse de croissance

Tableau 11 : Calcul de la vitesse de croissance chez les boites contenant le thym

La dose	1000ul	700ul	400ul
Vitesse de croissance	0,74Cm/jour	0,77cm / jour	0,75 cm / jour

Tableau 12 : Calcul de la vitesse de croissance chez les boites contenant la menthe

La dose	1000ul	700ul	400ul
Vitesse de croissance	0,72Cm/jour	0,74cm / jour	0 ,75 cm / jour

III 2- Discution

D’après les résultats obtenus sur l’effet des huiles essentielles de *Menthapeprita* et de *Thymus numudicu*s, on constate que ses deux huiles empêchent partiellement la croissance mycélienne.

La mise en évidence de cet effet apparié dans le diamètre et la duré de croissance de l’Oïdium dans les boite qui contient des différente dose des huiles

L’inhibition de la croissance mycélienne et en fonction de la dose de l’extrait en huile essentielles. Ainsi, plus la dose est forte plus la croissance est limitée.

Les trois doses de la menthe ont montré une diminution de la croissance mycélienne pour les doses 1000, 700 et 400ul. La croissance mycélienne a atteint un diamètre qui varie entre 5cm et 5,23 cm. Il est à noter que le diamètre du mycélium du témoin est de 8,5 cm.

Les résultats de la présente étude ressemblent à ceux de Gulluse et *al*. (2007). Ils confirment que l’huile obtenue à partir de *Menthalongifolia* possède un grand effet antifongique.

L'huile de la Menthe pouliot (*Menthapulegium*) dont le composé majoritaire est la R (+) pulégone (82%) est dotée d'un fort pouvoir antifongique (Belghazi*et al.*,2002).

Une étude portant sur les effets antifongiques de l’huile essentielle du thym de numidieet plus particulièrement sur les conséquences de cette huile sur l'ultra structure du champignon a été faite par Rasooli*et al.,(*2006). Barral*et al.,(*2007) ont montré que ces substances naturelles provoquent des dommages irréversibles sur la membrane cellulaire ainsi que sur les organites du champignon. Selon Caillet et Lacroix (2007), ces molécules inhibent la germination des spores, et l'élongation du mycélium

Les trois doses du thym de numidieont montré une diminution de la croissance mycélienne pour les doses 1000, 700 et 400ul. La croissance du mycélium a atteint un diamètre qui varié entre 5cm et 5,4 cm. Il est à mentionner que le diamètre du mycélium du témoin est de 8,5 cm.

L’analyse de la variance du diamètre de croissance montre que la dose a un rôle dans la prolongation du temps de croissance normale du mycélium. Lorsque les boites contiennent différentes doses de l’huile, la croissance est plus lente contrairement aux boites renfermant aucune dose d’huile.

A partir des résultats obtenus, on note que les deux huiles ont le même effet sur la croissance de l'oïdium pour la dose 400 ul. Alors que le thym exerce une activité un peu plus forte que celui de la menthe poivrée pour les doses de 1000ul et 700 ul

En calculant le taux d'inhibition de croissance mycélienne, on a trouvé qu'il diminue en fonction de doses. A l'absence des huiles le taux est nul.Par contre, le taux d'inhibition de croissance en présence de la Menthe poivrée à 1000, 700 et 400ul est respectivement de 39%, de 36%, et de 38%

Le taux d'inhibition de croissance en présence du Thym de numidie à 1000, 700 et 400ul est respectivement de 40%, de 38%, et de 38%.

Il est à mentionner que la vitesse de croissance mycélienne en absence des huiles est plus importante que la vitesse de croissance lors de l'application d'une petite en huiles, car à ce niveau on observe une diminution de la vitesse.Aussi, plus la dose est importante plus la vitesse de croissance diminue.Ainsi, la vitesse de croissance est de 1,21 cm/jour est enregistrée à 0%, et ceci en absences des huiles

Par rapport aux concentrations ; 1000, 700 et 400ul de la menthe poivrée la vitesse de croissance est respectivement de 0,72cm/j, 0,74 cm/j, et 0,75 cm/j .

Les doses de 1000, 700 et 400ul du thym de numidie la vitesse de croissance est respectivement de 0,74cm/j, 0,77 cm/j, et 0,75 cm/j.

L'huile essentielle du Thym a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis l'Oïdium. Ainsi, la vitesse de croissance, et le diamètre diminue chaque fois que la dose augmente. Il est de même pour l'huile essentielle de la menthe. Cette molécule bioactive a une activité inhibitrice sur l'Oïdium. Il faut noter que la vitesse de croissance, et le diamètre diminue avec l'augmentation de la dose.

Donc ces deux huiles n'empêchent pas le champignon de pousser. Mais, elles retardent seulement sa croissance selon nos résultats obtenu de notre recherche

En général, la variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie appliquée, les microorganismes testés et les huiles essentielles utilisées (Pattnaik et *al.*, 1996).

D’après Chebli et *al.*,(2003) et De Vilela et *al.*,(2009),lapulégone et le 1,8-cinéole purs provoquent une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des concentrations plus élevées que les huiles essentielles dans leur totalité.

Ainsi l'activité de l’huile essentielle est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires (Chebli et *al.,* 2003; Ouraini et *al.,* 2007).

En se basant sur les résultats de la présente étude, on déduit la présence d’une activité antifongique observée chez les huile essentielles du thym provient soit de l’efficacité des ses composants, ou bien du résultat de synergie entre les différents constituants des huiles (Mustapha et *al.,* 2008).

Conclusion :

Ce travail traite l'effet antifongique des huiles essentielles de *Menthapeperita*et de *Thymus numidicus* vis-à-vis de l'*Oïdium*. Ce champignon est très répandu sur une large gamme de cultures notamment le maraichage. C'est pour cette raison qu'on àpensé à substituer des fongicides de synthèse par de nouveaux produits d'origine biologique afin de minimiser la contamination du sol, de l'air, et de l'eau par les substances toxiques d'origine chimique.

L'extraction des huiles essentielles faite par l'hydro distillation a donné un rendement de 2,02% pour *Mentha peperita,* et un rendement de 1,2 % pour *Thymus numidicus*

L'évaluation de l'effet antifongique de ses deux huiles testées sur l'Oïdium a été réalisée par la méthode de contact direct.

Cette activité a montré qu'ils les ont un effet ralentisseur de croissance de ce champignon car avec une dose de 1000 Ul le diamètre de croissance et de 5,1 pour la menthe et de 5,23 pour le thym. Ainsi, il est à noter que plus que la dose est importante plus le diamètre de croissance est petit.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mis en évidence.

Références bibliografique :

- Afnor, 2000- huile essentielle. Association française de normalisation. Paris. Pp559-563.
- Anonyme 1997. La place du bois de feu dans un système agro forestien ILTTA/CIFOR rapport final .yaounda mai 1997.
- Azalenko k. (1995), Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo : Lippiamutiflora. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé
- BabaAissaf., 1999 - Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb), Librairie moderne, Rouïba, 173
- **Barral J., Boivin J., Coudurier S., Desmazieres C., Gonzalez A., Guidez F., Lapotre A., MEGY F. (2007).** Valorisation des effets antim icrobiens de l' huile essentielle de lavandin Grosso. *ONIPPAM*, 1- 67
- Bazylkoa. etStrzeleckah. (2007). Ftotherapie.,78 :391-395
- Behidj-Benyounes Nassima, DahmeneThoraya., BehidjKhadidja Kenza., GanaSalima., et CheboutiNadjiba. Evaluation de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Thymus numidicus* à Chréa**. Le** VII^{ème} Séminaire International de Médecine Vétérinaire. Sous le thème: Santé Animale et Sécurité Alimentaire, Constantine, 11-12 Avril 2015
- Behidj-BenyounesNassima, DahmeneThoraya, KehiaNesrineetZeregKarima. Effet antimicrobien de l'huile essentielle des sommités fleuries de la Menthe poivrée *Mentha* x *piperita* récoltée dans la région de Larbaa (Mitidja-Algérie).1^{ier} Séminaire National sur: La Biotechnologie des molécules bioactives et pathologies cellulaires, (BATNA, 26 et 27 Octobre 2013).
- **Belghazi L., Lahlou N., Alaoui I., Abousaouiria T., Habti N., Tantaoui IA., Talbi M., Blaghen M., Fellat-Zarrouk. (2002).** Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essent ielle de la menthe pouliot . Test antifongique . Congrèsde biochimie. Casablanca. *Biochimie et santé*, 38-40
- Bélanger RR, Bushnell WR, Dik AJ, Carver TLW, eds. The powdery mildews: a comprehensive treatise. St Paul: APS Press 2002; 292 p
- **Bouihdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J. (2006).** Thymus essential oils: chemical co mposition and in vitro antioxidant and antibacterial

activities. Département De Biologie, Faculté des Sciences- Université Abdelmalek Essaâdi. Tétouan (Maroc)

- Bolay ,a .2005 . les oidium de suisse (Erysiphaceés)cryptogamicahelvetica 20 :1-176
- BRIAN M.L (1995), The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem(USA), p.57-148
- **Bruneton J.,**1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier ed.,Paris :
  Tec et Doc. 915
- Bruneton J., 1999a - Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3ième édition. Ed. Tec et Doc., pp. 484 – 535
- Bruneton J., 1999b - Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale&Paris,Lavoisier, 585p
- **Caillet S., Lacroix M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alime ntaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appl iquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).
- Carroll JE, Wilcox WF. Effect of humidity on the development of grapevine powdery mildew. Phytopathology 2003; 93: 1137-1144.
- Calonnec A, Latu G, Naulin JM, Roman J, Tessier G. Parallel simulation of the propagation of powdery mildew in a vineyard. Computer Science 2005; 3648: 1254-1264.
- Calonnec A, Cartolaro P, Naulin JM, Bailey D, Langlais M. A host-pathogen simulation model: powdery mildew of grapevine. Plant Pathology 2008; 57: 493-508.
- Chacou M.et Bassou K., 2007.Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *MenthaSpicataL*isdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogenes: *E.coli,Pseudomonasaeroginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtiluis* et *Candida albicans*.Mémoire de DES microbiologie. UniversitédeKasdiMerbah Ouargla, P. 14-27
- Chellemi DO, Marois JJ. Development of a demographic growth model for Uncinulanecator by using a microcomputer spreadsheet program. Phytopathology 1991; 81(3): 250-254.
- Chemical Engineering Research and DesignVolume 91, Issue 12, December 2013, Pages 2309–2322

- Corio-Costet MF. Erysiphenecator. Monographies de microbiologie. Editions Ted et Doc / Lavoisier / EM inter 2007; 136 p.
- composition and fungicidal activity of comercial oils of thymus vulgaris L. J. Essent. Oil Res. 16(1) : p. 69 - 74
- Cretti I., 1981 - les plantes aromatiques et médicinales, comment les reconnaître et les utilisées, Ed. Atlas, p128
- Crisp P, Wicks TJ, Troup G, Scott ES. Mode of action of milk and whey in the control of grapevine powdery mildew. Australian Plant Pathology 2006; 35: 487-493.
- Delp CJ. Effect of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. Phytopathology 1954; 44(11): 615-626.
- Difaallahsalim ;rezekallahfatima et abbouassia , Etude bibliographique de la génétique de la résistance à drecherateres.
- **Edris A.E., Shalaby A. et Fadel H.,** 2003. Evaluation of a chemotype of spearmint (Menthaspicatal) growing in Siwa Oasis, Egypt. Eur. Food Technol. 218 : 74-78.
- Erickson EO, Wilcox WF. Distribution of sensitivities to three sterol demethylation inhibitor fungicides among populations of Uncinulanecator sensitive and resistant to triadimefon. Phytopathology 1997; 87: 784-791.
- Evans W.C., 1998 - Trease and Evan's Pharmacognosy, 14th edition SANDERS, pp. 48- 65, 612 p.
- Franchomme P. et Penoul D. (1990), Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446p.
- Franfel E N, Water House A L,Teissedre P L,. 1995. Agric. Food. Chem.,v.43, p 221-235.
- **Freeman L., Carel Y. (2006).** Aromathérapie. *NUTRA NEWS* Science, Nutrition, Prévention et Santé. http:/ www. nutranews.org
- Gadoury DM, Seem RC, Pearson RC, Wicox WF. Effects of powdery mildew on vine growth, yield, and quality of Concord Grapes. Plant Disease 2001; 85(2): 137-140.
- **Girard G.,** 2010. Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier aujourd'hui, France : Université Henri Poincaré Nancy 1.
- Goeb Ph. (1999), Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB
- Gubler WD, Rademacher M, Vasquez SJ, Thomas CS. Control of powdery mildew using the UC Davis powdery mildew risk index. American Phytopathological Society (APS) 1999; http://www.aspnet.org:online:feature:pmildew:top.html.

- Heintz, C . ; BLAICH, R. ; 1990 : Ultrastructural and histochemical studies on interactions between Vitisvinifera L and Uncinulanecator (SCHW.) BURR. NewPhytol. 115,107-117.
- Hentzcathrine et H.jdiehl . Etude de la reproduction sexuée de l'oidium de la vigne
- **Jalas J., 1971**- Note of *Thymus* L. (*Labiatae*) in Europe.I. Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*, N° 64, pp. 199-215.
- **Kabouche A., Kabouche Z. etBruneau C., 2005**- *Analysis of the essential oil of Thymus numidicus (Poiret) from Algeria. Flavour and Fragrance Journal, N° 20, pp. 235-236*
- Keller, H. (2003). Socialization for competence Cultural models of infancy. HumanDevelopment, 46, 288 – 311.
- **Lachance Y., 2001**- Info Essence, Bulletin sur les huiles essentielles et autres extraits végétaux. N° 17, pp.1-9
- Leinhos, G.M.E.; Gold, R.E.; Düggelin, M. & Guggenheim, R. (1997). Development and morphology of Uncinulanecator following treatment with the fungicides kresoxim- methyl and penconazole. MycologicalResearch, Vol. 101, No. 9, 1033-1046, ISSN 0953-7562
- Le Roux Mayra F. Fernandez[a,] Benoît Barroso[f], Xuân-Mi Meyer[a, b,], Michel Meyer[a, b], Marie-Véronique Le Lann[c, d], Galo C.[e], Mathias Brehelin[f]Experiments and dynamic modeling of a reactive distillation column for the production of ethyl acetate by considering the heterogeneous catalyst pilot complexities
- Leung A.Y. et Foster S., 1996 - Encyclopedia of common naturel ingredients used in food, drugs and cosmetics, a Wiley-Interscience Publication. 649p.
- Marie-Elisabeth LucchesiExtraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles
- Martin B, Hernandez S, Silvarrey C, Anton Jacas J, Cabaleiro C. Vegetable, fish and mineral oils control grapevine powdery mildew. PhytopathologiaMediterranea 2005; 44: 169-179.
- M.E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, Flavour and Fragrance Journal An original solvent free microwave extraction of essential oil from spices. 2004, 19, 134-138
- Morales R., 1997: The history, botany andtaxonomy of the genus thymus.

In thyme: the genus thumus medicinal and aromatic plants-industrials profiles; stahl-biskup,E;Saes, F., Eds: taylor and francis(vol.17). London.

- Nicolas GUILPART Relations entre services écosystémiques dans un agroécosystème à base de plantes pérennes : compromis entre rendement de la vigne et régulation de l'oïdium
- **Paris R.R &Moyse H., 1971** - Précis de Matière médicale, Ed. Masson et cie, T.III, pp .266 - 276.
- Pearson RC, Gärtel W. Occurrence of hyphae of Uncinulanecator in buds of grapevine. Plant Disease 1984; 69(2): 149-151
- Percival, S ., Mertens , E J .,TALCOH, S.L ., 2005.Ellagic acid and quercetin interacts with reserveratiol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in humainleukaemia cancer letters :141-157.
- **Perrot E.M., 1928** - Cultures des plantes médicinales. Ed. Presse universitaires de France, 294 p
- Pezet R, Bolay A. L'oïdium de la vigne: situation actuelle et conséquences pour la lutte. Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture 1992; 24: 67-71
- **Rasooli I., Bagher R.M., ALLAMEH A., (2006)**. Growth inhibition and morphological alterations of Aspergillus Niger by essential oils from Thymus Eriocalyx and Thymus x-porlock. *Food Control*. **17**, 359-364
- .Renaylt , R ., 1955. Chimie végetale. Edition: Eyrolles, Gauthier-Vallar, Paris.PP:745
- **Richard H., 1992**- Epices et aromates. Ed. dec et doc Lavoisier, collection science et techniques alimentaires, Paris, 339 p
- Rolland. Y ., 2004. Antioxydants naturels des végétaux. Review.11 :1-6.
- Rügner A, Rumbolz J, Huber B, Bleyer G, Gisi U, Kassemeyer HH, Guggenheim R. Formation of overwintering structures of Uncinulanecator and colonization of grapevine under field conditions. Plant Pathology 2002; 51: 322-330.
- Sall MA. Epidemiology of grape powdery mildew: a model. Phytopathology 1980; 70(4): 338-342.
- Sall MA, Wrysinski J. Perennation of powdery mildew in buds of grapevines. Plant Disease 1982; 66(8): 678-679
- Savocchia S, Stummer BE, Wicks TJ, Heeswijck R, Scott ES. Reduced sensitivity of Uncinulanecator to sterol demethylation inhibiting fungicides in southern Australian vineyards. Australian Journal of Plant Pathology 2004; 33: 465-473.
- .Schnee, Sylvain Facteurs de résistance à l'oïdium (ErysiphenecatorSchwein.) chez la vigne (Vitis vinifera L.)

- S. Schnee, J.-L. Spring, O. Viret, P.-H. Dubuis, S. Godard et K. Gindro, Agroscope Changins-Wädenswil ACW, CP 1012, 1260 Nyon Outils pour la sélection précoce de cépages résistants à l'oïdium
- Sophie Blanc. Cartographie génétique et analyse de la résistance au mildiou et à l'oïdium de la vigne chez Muscadinia Rotundifolia
- Steva H, Clerjeau M. Cross-resistance to sterol biosynthesis inhibitors fungicides in strains of Uncinulanecator isolated in France and Portugal. Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent 1990; 55: 983-988.
- Tchamdja K.M.(1995), Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.
- Teisseire P.J. (1991), Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p
- Teuscher, Anton R, Lobstein A., 2005 - Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, Lavoisier, 522p.
- Tweedy BG, Turner N. Mechanism of sulphur reduction by conidia of Monliniafructicola. Contributions from Boyce Thompson Institute 1966; 23(7): 255.
- V. A. Kurkin, Chem. Nat. Compd. 2003, 39,123p
- Willocquet L., Colombet D., Rougier M., Fargues J. &Clerjeau M., 1996. Effects of radiation, especially ultraviolet B, on conidial germina- tion and mycelial growth of grape powdery mildew. European Journal of Plant Pathology
- Zambonelli A, D'Aurelio A.Z, Severi A, Benvenuti E, Maggi L et Bianchi A., 2004.Chemical

Annexe :

Matériel non biologique

Tableau 14 : matériel non biologique utilisée au laboratoire

Milieu de culture	**Appareillage et petit matériel**	**verreries**
Milieu Malt	Balance analytique Pince stériles Spatule Etuve	Bécher Boite de Pétri Stérile Flacons Bec benzène

Résumé

L'objectif de cette étude est l'utilisation de l'huile essentielle de *Menthapeperita* et de *Thymus nomidicus* comme des biofongicides vis-à-vis d'une souche fongique isolée et identifiée à partir des feuilles de la culture de la courgette à Boudouaou–El Bahri. L'espèce isolée appartient au genre oïdium. La méthode d'extraction est l'hydraudistilation qui nous a permi d'avoir des rendements en huile essentielle respectivement de 2,02% pour *Menthapeperita* et de 1,2 % pour *Thymus numidicus.*

L'étude de l'activité antifongique des deux huiles testées a été réalisée par la méthode de contact direct.

L'efficacité de chaque huile essentielle pour les différentes concentrations; 5%, 3,5%, et 2% est estimée par la détermination du taux d'inhibition de la croissance des champignons étudiés.

La dose minimale de 400ul pour les deux huiles a donné un diamètre des colonies de 5cm chacune. Alors que le diamètre de croissance mécyliene est de 5,1 pour la menthe poivré, et de 5,23 pour le *Thymus numidicus* pour une dose de 1000 ul. Alors que pour le témoin ce diamètre a atteint le diamètre de 8,5 cm

En effet, l'huile essentielle de*Menthapeperita* manifeste un bon effet antifongique par rapport à l'effet de thymus qui apparié dans le taux de croissance.

Mots clés: huile essentielle, *Thymus numidicus*, *Menthapeperita*, oïdium, activité antifongique, courgette.

Summary

The objective of this study is the use of the essential oil of Mentha peperita and Thymus nomidicus as biofungicides with respect to a fungal strain isolated and identified from the leaves of the zucchini crop in Boudouaou -El Bahri. The isolated species belongs to the genus Oidium. The extraction method is the hydraudistilation which allowed us to have yields of essential oil of 2.02% for Mentha peperita and 1.2% for Thymus numidicus, respectively.
The study of the antifungal activity of the two oils tested was carried out by the direct contact method.
The effectiveness of each essential oil for different concentrations; 5%, 3.5%, and 2% is estimated by determining the growth inhibition rate of the fungi studied.
The minimum dose of 400ul for both oils gave a colony diameter of 5cm each. While the mechyline growth diameter is 5.1 for peppermint, and 5.23 for Thymus numidicus for a dose of 1000 µl. While for the control this diameter reached the diameter of 8.5 cm
Indeed, the essential oil of Mentha peperita shows a good antifungal effect compared to the effect of Thymus that matched the growth rate.

Key words: essential oil, Thymus numidicus, Mentha peperita, oidium, antifungal activity, zucchini.

ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة هو استخدام الزيوت الأساسية من النعناع و الصعتر كمضادات فطرية فيما يتعلق بسلالة الفطرية المعزولة من أوراق من محصول الكوسا في بودواو البحري. الأنواع المعزولة تنتمي إلى جنس الفطرية البيضاوية. طريقة استخراج الزيوت هيhydraudistilation ،

وقد سمحت لنا غلة من الزيوت الأساسية من 2.02٪ للنعناع و 1.2٪ لصعتر بدراسة نشاط مضاد اثنين من الزيوت الاختبار الذي يكون بوسيلة اتصال المباشر.

فعالية كل من الزيوت الأساسية بتركيزات مختلفة، وتقدر 5٪، 3.5٪ و 2٪ من تحديد معدل تثبيط نمو الفطريات حيث أعطت جرعة الحد الأدنى من 400ميكرولتر عن كل الزيوت قطر مستعمرة 5سم لكل منهما. في حين أن قطر المستعمرة النمو 5.1 النعناع، و5.23 لصعتر لجرعة من 1000 ميكرولتر في حين أن الشاهد فيصل قطره الى8.5 سم من الزيوت الأساسية النعناع يظهر له أثر مضاد جيد بالمقارنة مع تأثير الصعتر الذي يقابل معدل النمو.

الكلمات الرئيسية: الزيوت الأساسية ، الصعتر، النعناع، العفن، نشاط مضاد، كوسة.