

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun – Tiaret –  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Génétique moléculaire et Amélioration des plantes

Présenté par :

- Bensaber Bakhta
- Bentemra Meriem

*Thème*

Détermination du rendement en huiles essentielles  
chez le laurier rose (*Nerium oleander .L*) et leur effet  
sur la prolifération de champignon phythopathogène

Soutenu le :

Jury :

Président : BOUBEKEUR MOHAMED ABDELAZIZ

Encadrant : SOUALMI NADIA

Examinatrice : MOKHFI FATIMA ZOHRA

Année universitaire 2020-2021



## ***Remerciements***

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Nous tenons à remercier sincèrement Madame **SOUALMI NADIA** qui, en tant que promotrice de ce mémoire, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury ; Madame **MOKHFI FATIMA ZOHRA** qui a bien voulu présider le jury et Monsieur **BOUBEKEUR MOHAMED ABDELAZIZ** qui a bien voulu examiner ce travail.

Que Monsieur **YEZLI**, enseignant à la faculté de SNV trouve ici nos vifs remerciements pour son aide dans l'expérimentation et ses conseils très précieux.

Nous tenons également à remercier les personnes importantes dans notre vie, nos chers parents, nos frères et sœurs.

Enfin nous présentons nos remerciements à nos amis.



# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes parents mes guides affectueux et attentifs en reconnaissance pour leur soutien moral et pour toutes les charges assurées durant toutes ces années d'études.*

*Je dédie également ce mémoire à mes frères, à tous ma grande famille et mes proches amis Ahlem ; Malika.*

*Ainsi qu'à toute ma promotion de master génétique LMD de l'année 2020/2021.*

*A mon binôme Bensaber Bakhta.*

*Meriem*



# ***Dédicace***

***Je dédie ce modeste travail***

***A mes chers parent pour leur soutien ,leur patience,  
Leur encouragement durant mon parcours scolaires.***

***A ma s ur Naima et mon frère Yacine ainsi a toute ma famille .***

***A tous mes amis,***

***Et à l'ensemble des étudiants de la promotion master génétique LMD  
de l'année 2020/2021.***

***A mon binôme Bentemra Meriem ,et a tous ceux qui ont contribué de  
près ou de loin pour cet mémoire soit possible ,je vous dis merci***

***Bakhta***

# Sommaire

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Résumé.

Introduction.

## Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

1-Historique .....	04
2-Définition.....	04
3- Répartition et localisation .....	04
4-Fonction des huiles essentielles chez les plantes .....	05
5-Choix de la méthode d'extraction .....	06
6-Les Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	06
6-1-La distillation par l'eau.....	06
6-2-Distillation à la vapeur d'eau .....	07
6-3-L'hydro diffusion .....	08
6-4-L'extraction au dioxyde de carbone (co <sup>2</sup> ) hypercritique .....	09
6-5- L'extraction par solvant .....	09
6-6- L'extraction par enfleurage .....	10
7-La composition chimique des huiles essentielles .....	11
7-1-Les essences hydrocarburées .....	11
7-2-Les essences oxygénées .....	11
7-3-Les essences sulfurées et azotées .....	11
8-Facteurs de variabilité des huiles essentielles .....	11
8-1-Facteurs Intrinsèques .....	12
8-1-a-Facteur génotypique.....	12
8-1-b-Facteur structural .....	12
8-1-c-Facteur évolutif .....	12
8-2-Facteurs extrinsèques .....	12
8-2-a-Originé géographique, écologie et climat .....	12
8-2-b-Nature des sols et techniques culturales .....	12
8-3-c-Facteurs d'origine technologique .....	13
9-Les propriétés des huiles essentielles .....	13

<b>10-Classification des huiles essentielles .....</b>	<b>14</b>
10-1-Les huiles majeures .....	14
10-2-Les huiles médium .....	14
10-3-Les huiles de terrain.....	14

## **Chapitre II : Etude de la plante utilisée**

<b>1-Aspect botanique .....</b>	<b>16</b>
1-1-Présentation de la famille des Apocynaceae .....	16
1-2-Genre <i>Nerium</i> .....	16
1-3- L'espèce <i>Oleander</i> .....	16
1-3-1-Généralités .....	16
1-3-2- Classification .....	17
1-3-3-Description botanique.....	18
1-3-4-Distribution géographique .....	19
<b>II- Aspect chimique .....</b>	<b>19</b>
II-1- Famille des Apocynaceae .....	19
II-2- Le Genre <i>Nerium</i> .....	21
II-3- L'espèce <i>Nerium Oleander</i> .....	21
<b>III- Aspect pharmacologique .....</b>	<b>22</b>
III-1- Utilisations traditionnelles dans le monde .....	23
III-2 Toxicité du <i>Nerium Oleander L.</i> .....	24

## **Chapitre III : Le *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici***

<b>1-Généralités sur le genre <i>Fusarium</i> .....</b>	<b>26</b>
<b>2-Taxonomie .....</b>	<b>26</b>
<b>3-Cycle de vie de <i>F. Oxysporum</i> .....</b>	<b>28</b>
<b>4-Les symptômes de la pourriture racinaire (<i>Fusarium</i> crown and root rot) .....</b>	<b>30</b>
4-1- Les symptômes externes.....	30
4-2- Les symptômes internes.....	31

## **Partie II : Matériels et méthodes**

I-1-Le matériel végétal .....	33
I-2-Description de la région .....	33
I-3-Méthodes .....	34
I-3-1-Collecte des feuilles .....	34
I-3-2-Extraction des H.E par hydrodistillation .....	35
I-3-2-1-Décantation .....	36
I-3-2-2-Conservation des huiles essentielles .....	37
I-3-2-3-Le rendement .....	38
I-3-3-L'hydrolat .....	38
I-3-4-L'extrait aqueux du laurier rose .....	39
I-3-4-1-Méthodologie .....	39
II-Le matériel fongique .....	40
II-1-Définition.....	40
II-2-Préparation du milieu de culture et réalisation des tests antifongiques .....	42
II-3-Mesure du taux d'inhibition .....	43
II-4-Test statistique .....	43
<b>Partie III : Résultats et discussion</b>	
I-Rendement en huile essentielle .....	45
II-Caractéristiques organoleptiques .....	45
III- L'activité antifongique de l'huile essentielle .....	46
III-1-Méthode de confrontation directe .....	46
<b>Discussion</b> .....	48
<b>Conclusion</b> .....	51
<b>Références bibliographiques</b> .....	53
<b>Annexe</b> .....	61

# Liste des Tableaux

**Tableau 01** : Propriétés pharmacologiques de *Nerium Oleander* L.

**Tableau 02** : Principales utilisations de *Nerium Oleander* en médecine traditionnelle selon les pays.

**Tableau 03** : Formes téléomorphes de différentes espèces de *Fusarium*.

**Tableau 4**: Rendement en huiles essentielles de plante étudiée.

**Tableau 5** : Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de plante étudiée.

**Tableau 6**: Les niveaux de signification des taux d'inhibition de la souche de champignon au 7<sup>ème</sup> jour par les différents traitements.



## Liste des Figures

**Figure 1** : distillation par l'eau.

**Figure 2** : Distillation à la vapeur d'eau.

**Figure 3** : hydro diffusion.

**Figure 4** : L'extraction au dioxyde de carbone (co<sup>2</sup>) hypercritique.

**Figure 5** : extraction par solvant.

**Figure 6** : extraction par en fleurage.

**Figure 07** : Aspect morphologique le *Nerium oleander L.*

**Figure 08** : Plante de laurier rose.

(A : Arbre en fleurs ; B : Arbre en feuilles ; C : Les graines ; D : Arbre en fruits).

**Figure 09** : cycle biologique de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*.

**Figure 10** : Pourriture du collet sur plant de tomate.

**Figure 11** : Nécrose racinaire.

**Figure 12** : matériel végétal.

**Figure 13** : Carte plan-Tiaret.

**Figure 14**: feuilles de *Nerium oleander L.*

**Figure 15** : montage d'hydro distillation employé pour l'extraction d'huile essentielle (Clèvenger).

**Figure 16** : Ampoule à décanté pour la séparation d'huile essentielles.

**Figure 17** : flacon d'huile essentielle.

**Figure 18** : le broyeur (faculté SNV Tiaret).

**Figure 19** : les symptômes de *Fusarium oxysporum f.sp.radicis-lycopercici*.

**Figure20** : Méthode de confrontation directe.

**Figure 21** : Les taux d'inhibition des différents traitements sur le développement de *Fusarium oxysporum*.

## Résumé

Les composés secondaires des plantes sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les tanins et les terpènes. Dans l'optique de rechercher des alternatives aux méthodes de lutte chimique, nous avons entrepris un travail qui porte sur l'étude de l'activité antifongique des extraits des feuilles de *Nerium oleander* L. testés sur une souche de champignon (*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*). L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation a été réalisée en utilisant un dispositif de type Clevenger. La valeur du rendement en huile essentielles est de 0,45%.

La détermination du pouvoir antifongique a été réalisée par la méthode de confrontation directe. L'huile essentielle testée seule a montré une bonne activité antifongique avec un taux d'inhibition de 72%. Avec l'usage de l'extrait aqueux (obtenu à partir des feuilles séchées et broyées en poudre) et de l'hydrolat obtenu après hydrodistillation nous avons noté des taux d'inhibition respectifs de 38% et 47%. Donc le meilleur résultat est obtenu en utilisant l'huile essentielle.

**Mots clés** : Huiles essentielles, hydrodistillation, activité antifongique, *fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopercici*, *Nerium oleander* L.

## Abstract

The secondary compounds of plants are often considered to be a defense of the productive plant against various organisms such as pathogens and pests. These compounds are very many and varied, and some are widely distributed, such as alkaloids, tannins and terpenes. With a view to finding alternatives to chemical control methods, we have undertaken a work which focuses on the study of the antifungal activity of extracts from the leaves of *Nerium oleander* L. tested on a strain of the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*). The extraction of essential oils by hydrodistillation was carried out using a Clevenger type device. The value of the essential oil yield is 0.45%. The determination of the antifungal power was carried out by the direct confrontation method. The essential oil tested alone showed good antifungal

activity with an inhibition rate of 72%. With the use of the aqueous extract (obtained from the dried leaves and ground into powder) and the hydrosol obtained after hydrodistillation we noted respective inhibition rates of 38% and 47%. So the best result is obtained by using the essential oil.

## ترجمة

الكائنات الحية المختلفة مثل غالبًا ما تعتبر المركبات الثانوية للنباتات بمثابة دفاع للنبات المنتج ضد وبعضها منتشر على نطاق واسع ، مثل ، مسببات الأمراض والآفات. هذه المركبات كثيرة ومتنوعة لطرق مكافحة الكيمائية ، قمنا بعمل يتعلق القلويات والعفص والتربينات. بهدف إيجاد بدائل الذي تم *Nerium oleander L.* لمستخلصات أوراق نبات الدفلى بدراسة النشاط المضاد للفطريات تم (*Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*). الفطريات اختباره على سلالة من قيمة محصول *Clevenger*. العطرية بالتقطير المائي باستخدام جهاز من نوع استخلاص الزيوت تم تحديد القوة المضادة للفطريات بطريقة المواجهة المباشرة. أظهر الزيت 0.45% الزيت العطري وباستخدام 72% العطري الذي تم اختباره بمفرده نشاطًا جيدًا مضادًا للفطريات بمعدل تثبيط مسحوق) والهيدروسول المستخلص المائي (الذي تم الحصول عليه من الأوراق المجففة والأرض إلى %47 و 38 ذات صلة تبلغ الذي تم الحصول عليه بعد التقطير المائي ، لاحظنا معدلات تثبيط يتم الحصول على أفضل نتيجة باستخدام الزيت العطري

# Introduction

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**). L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

Ce n'est qu'au moyen âge que les huiles essentielles ont été réellement découvertes grâce aux premières distillations et plus tard, grâce aux progrès de la science et tout particulièrement à l'apparition de la chimie. Cette médecine traditionnelle ancestrale est le précurseur de la phytothérapie et de l'aromathérapie d'aujourd'hui (**Pierron, 2014**).

L'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte des nouvelles substances à pouvoir antimicrobien. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999; Teuscher et al., 2005**). Elles font également l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Deans et al., 1994; Miguel et al., 2003**).

Aussi afin de lutter contre les contaminations fongiques, des méthodes de contrôle chimiques ont été exercées. Cependant, les utilisations des fongicides synthétiques présentent des inconvénients importants en raison de l'augmentation de leurs coûts, et de leurs menace pour la santé humaine et l'environnement (**Schnaubelt, 2005; Al-Safadi, 2008**). De même, la persistance de ces résidus toxiques sur les plantes après traitement et le développement des souches résistantes, à ces composés, présentent la limite de leur emploi (**Manandhar, 2007**). D'où la recherche de nouvelles méthodes de lutte efficaces, naturelles et sans danger pour la santé.

Les huiles essentielles sont des produits de composition complexe, renfermant des produits volatils contenus dans les végétaux obtenus à partir d'une matière première végétale : fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit, ou autre ; soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par extraction mécanique. Le principal procédé d'extraction est la distillation à la vapeur d'eau. Les huiles essentielles sont un assemblage de molécules complexes qui ont toutes des propriétés particulières.

L'Algérie par sa situation géographique au centre de la méditerranée, abrite une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément dont les Apocynaceae qui sont riches en métabolites

secondaires. (Boulecheheb, 2018).

Le laurier rose, *Nerium Oleander L.*, est un arbuste de la famille des Apocynaceae pouvant atteindre 2 à 4 mètres de hauteur. Originaire du bassin méditerranéen, il pousse au bord des oueds, des routes, dans les parcs et les jardins. En Algérie cette plante est très utilisée comme arbre décoratif et existe en variétés à feuillage panache ou non de couleur verte, jaune et blanche et fleurs rouges, fuchsia, pourpres, roses ou blanches, mais une seule espèce de *Nerium* existe. Le laurier rose est un arbuste dangereux parce que toutes ses parties sont toxiques (Shumaik, 1988 ; Bismuth et al., 2000 ; Boudou-Sebastian, 2003). Néanmoins c'est un arbuste qui bénéficie des propriétés thérapeutiques que lui a attaché la médecine traditionnelle, à savoir: les industries de l'aromatisation.

Le choix de cette espèce est justifié par son abondance dans la région d'étude (Tiaret) et son utilisation en phytothérapeute traditionnelle. Notre étude est subdivisée en deux grandes parties :

Une partie théorique qui englobe et rassemble des données théoriques constituée de trois chapitres :

Le premier chapitre relatif aux huiles essentielles, le deuxième portera sur la plante étudiée (*Nerium Oleander L.*) et le troisième sur le champignon (*Fusarium oxysporumf.sp. lycopersici*)

La deuxième partie consacrée au travail pratique, elle traitera le matériel et les méthodes utilisées.

Dans la troisième partie nous montrons les résultats obtenus. Ces derniers seront discutés et interprétés.

Enfin l'ensemble du travail est clôturé par une conclusion générale.

## **Chapitre I**

# **Généralité sur les huiles essentielles**

## **1-Historique**

Les huiles essentielles sont connues depuis les temps les plus lointains, certains affirment que certaines HE ont été utilisées en Chine autour de 2800 ans av. J.-C. dans le cadre de la médecine naturelle. D'autres préconisent que les traces d'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de 7000 ans av. J.-C. dont la preuve est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On trouve également des inscriptions datant de l'époque égyptienne qui expliquent l'utilisation des arômes pour l'usage personnel, pour les préparations médicinales et religieuses. Avec le développement de la science moderne, la technologie des HE a connu de nouvelles méthodes d'extraction et d'analyse. Depuis, elles ont donné lieu à un développement ininterrompu qui a conduit à la naissance d'une industrie des plantes à parfum. On connaît actuellement 2000 HE, parmi lesquelles près de 200 font l'objet d'importantes transactions commerciales internationales, elles sont d'un usage courant et servent de matière première pour l'industrie pharmaceutique (**Djeddi, 2012**).

## **2-Définition**

L'HE est le produit noble résultant de la distillation d'une plante aromatique (par exemple la sauge), d'une semence (par exemple la carotte), d'un bois (par exemple le santal), d'un fruit (par exemple la bergamote), d'une baie (par exemple le genièvre) ou encore d'une sève d'arbre (par exemple la térébenthine) (**Nelly, 2015**).

Dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela, car il s'agit d'un produit parfumé et volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique (**Moro Buronzo, 2008**). Les huiles essentielles, très volatiles passent donc rapidement de l'état liquide à l'état gazeux, elles s'allument facilement et brûlent d'une flamme brillante (**Tongnuanchan, P&Benjakul, S. (2014)**

## **3- Répartition et localisation**

C'est souvent chez les végétaux supérieurs qu'on rencontre les HE (**Desmares**



et al.,

2008). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et bien

que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des

racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (toute-épice, anis, badiane),

des graines (muscade). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile

essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation

(Bruneton, 2009).

La teneur en HE d'un végétal varie selon l'espèce et elle est de l'ordre de 1% à 3% : (géranium: 0,15-0,3%); (vétiver: 1-2,5%); (ylang-ylang: 1,6-2,0%); (rose de Provence: 0,007%). Il existe, cependant, quelques exceptions comme les clous de girofle (15-20%) ou la

badiane de Chine (5%) (Smajda, 2009).

A noter que, pour une même espèce, la composition des essences peut varier d'un organe

à un autre et suivant les conditions du milieu. En climat chaud, la teneur en huile essentielle

est plutôt élevée (Boughnendjioua, 2015).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la

présence de structure histologique spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la

surface de la plante : cellules à huiles essentielles des *Lauraceae* ou des *Zingiberaceae*, poils

sécréteurs des *Lamiaceae*, poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae*, canaux

sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Bruneton, 2009).

Chez les lamiacées, l'organe sécréteur majeur est le trichome glandulaire (figure 1)

(Venkatachalam et *al.*, 1984). Deux types de trichomes sont décrits, les trichomes pelletés et les trichomes capités, qui sont distingués l'un de l'autre par la structure et le mode de sécrétion. Le premier est formé d'une base cellulaire épidermique, un col cellulaire et une tête de 4-16 cellules. Dans les trichomes matures, la sécrétion est accumulée au large de l'espace sub-cuticulaire, qui forme au-dessus les cellules sécrétrices. Les trichomes capités sont très différents en forme (court, long, avec une tête unicellulaire ou pluricellulaire) (Maleci, 2006).

#### 4-Fonction des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et d'assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques, interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance) et interaction plante-animal, pour leur protection contre les prédateurs (Fouché et *al.*, 2008).

#### 5-Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à



prendre en compte (**Fernandez et Cabrol-Bass, 2007**).

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales

d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- La taille et la forme des molécules constitutives ;
- L'adsorption.

Le Tableau 1 résume les techniques les plus couramment utilisées et quelques types de

produits fabriqués. Ces techniques d'extraction mettent en œuvre, en ligne la plupart du temps, plusieurs types d'opérations fondamentales. Les principales opérations industrielles ont été résumées dans la Figure 1 (**Peyron, 1992**)

## **6-Les Méthodes d'extraction des huiles essentielles (Tongnuanchan, P&Benjakul, S. 2014)**

Les HE sont extraits principalement par des méthodes parmi lesquelles :

### **1- La distillation par l'eau**

Dans ce procédé la matière végétale est immergée complètement dans l'eau et l'alambic chauffé pour amener son contenu à ébullition, lorsque la substance condensée refroidit, l'eau et l'huile essentielle se séparent. L'eau résiduelle est parfois commercialisée sous l'appellation « eau florale », « hydrosol » ou « hydrolat »(ex :eau de rose, eau de lavande, eau d'orange ...).

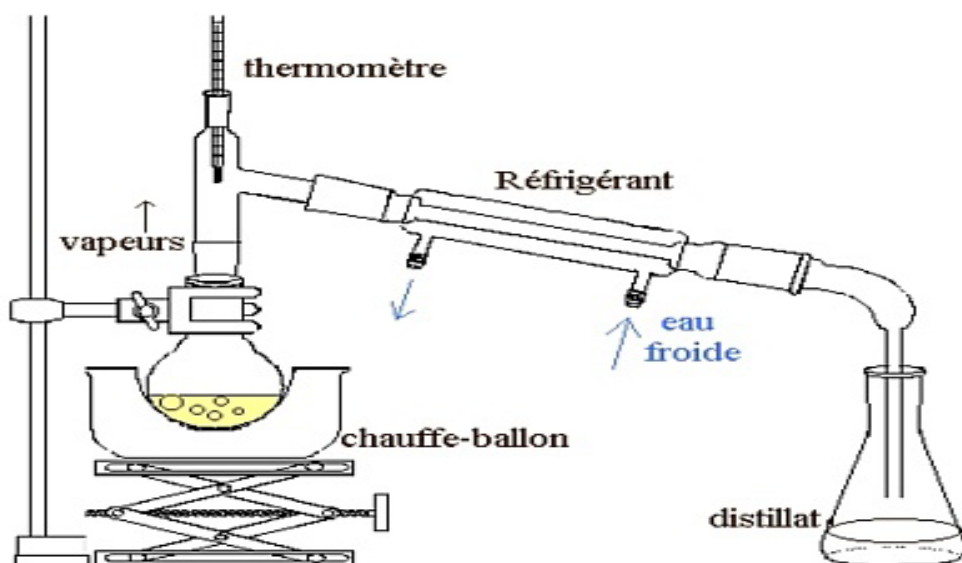


Figure 1 : distillation par l'eau

## 2-Distillation à la vapeur d'eau

C'est la méthode la plus couramment utilisée pour la fabrication des H.E. Elle consiste à faire passer de la vapeur d'eau à travers la matière végétale placée dans l'alambic. La vapeur provoque l'ouverture des cavités des plantes qui libèrent ainsi les molécules des HE volatiles. La température doit être ajustée et contrôlée pour ne pas « brûler » l'élément végétal ni dénaturer l'huile essentielle. La vapeur qui contient les HE est redirigée à travers un système de refroidissement (serpentin) où elle se liquéfie, ce qui sépare de fait l'huile essentielle de l'eau.

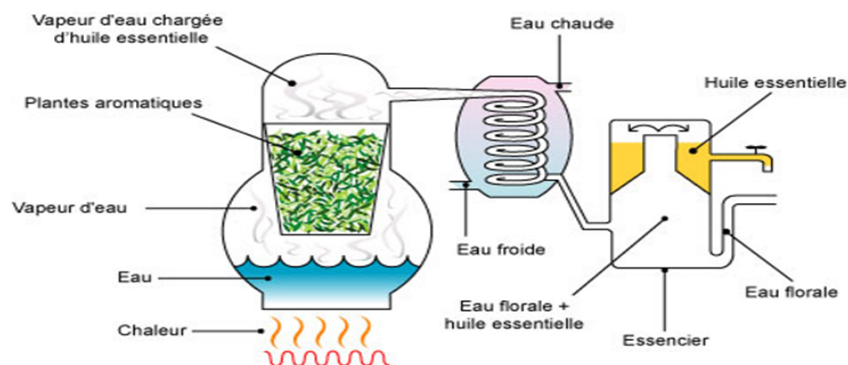


Figure 2 : Distillation à la vapeur d'eau (Marie, 2006)

### 3-L'hydro diffusion

Cette appellation désigne une autre forme de la distillation à la vapeur. La vapeur est introduite par la haute pour passer à travers la matière végétale choisie. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. Cette méthode utilise moins de pareur, le processus d'obtention est plus court et le rendement en huile est meilleur.

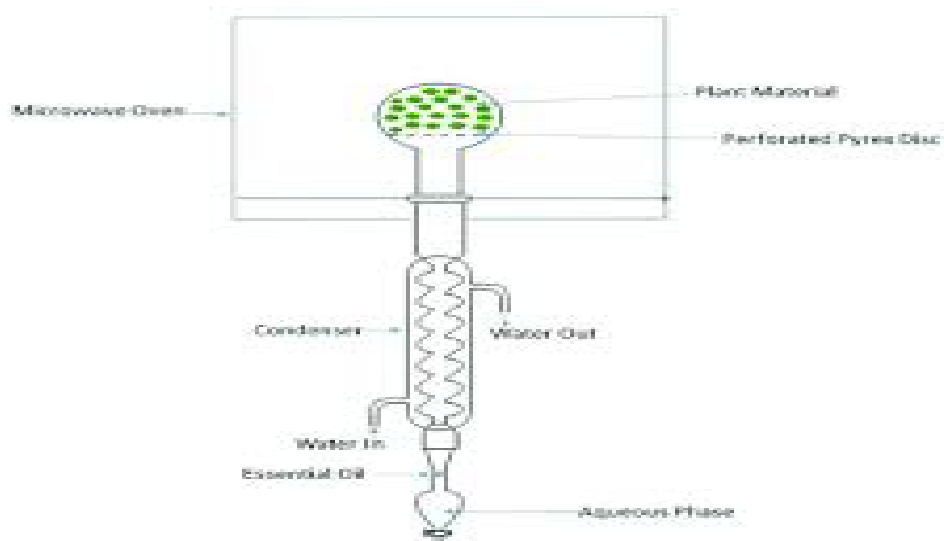


Figure 3 : hydro diffusion

#### 4-L'extraction au dioxyde de carbone (co<sup>2</sup>) hypercritique

Ce processus d'extraction est récent. Il est très coûteux, mais produit des H.E d'excellente qualité. A 33°C, le dioxyde de carbone atteint son point critique, c'est-à-dire la limite entre l'état gazeux et l'état liquide. Il possède à cette température, certaines propriétés des états gazeux et liquides, ce qui en fait un excellent solvant pour l'extraction des H.E fragiles.

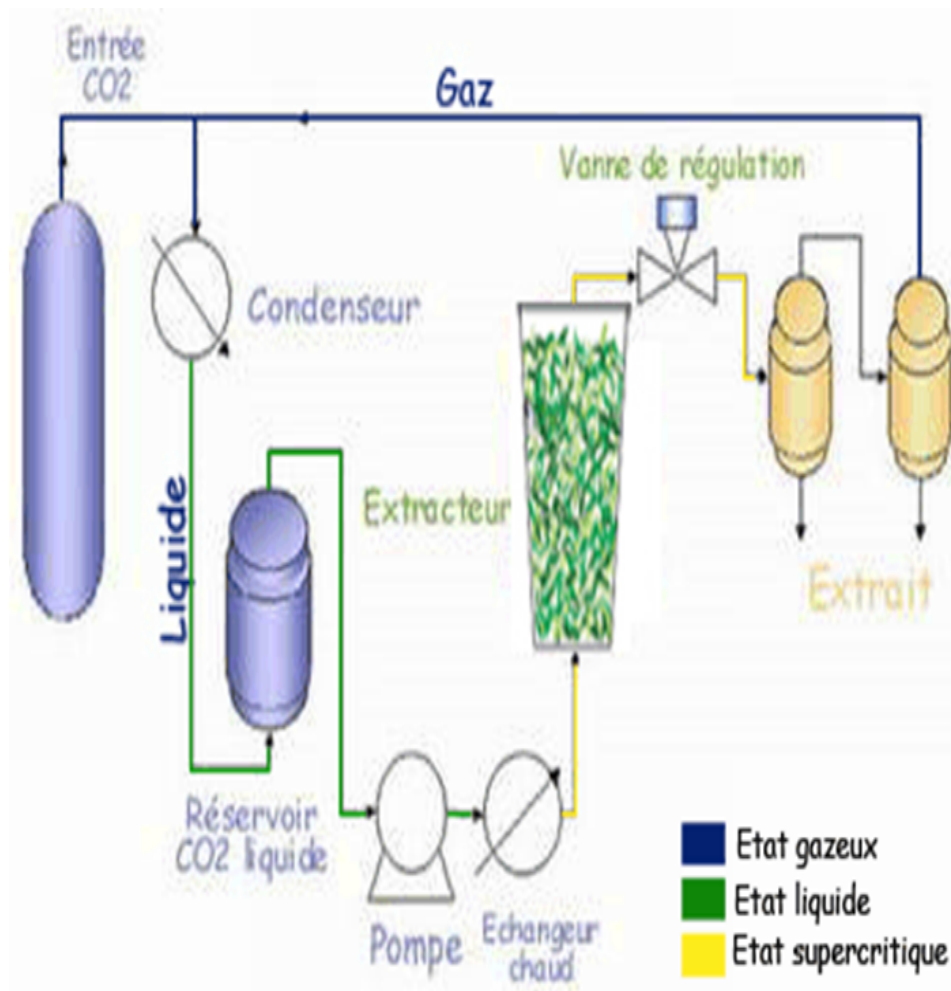


Figure 4 : L'extraction au dioxyde de carbone (co<sup>2</sup>) hypercritique

#### 5- L'extraction par solvant (Dominique BANDOUX 2008).

Il existe d'autres méthodes d'extraction comme l'extraction par solvant ou

l'enfleurage mais uniquement pour la parfumerie et non pour la thérapie. Cette méthode est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. Les plantes et le solvant sont placés dans un récipient et chauffés pour favoriser l'extraction des huiles par le solvant. La mixture ainsi obtenue est ensuite filtrée et devient ce que l'on appelle un «concret», qui est alors mélangé à de l'alcool, refroidi et filtré. Après évaporation de l'alcool, reste l'huile très parfumée, appelée «absolu».

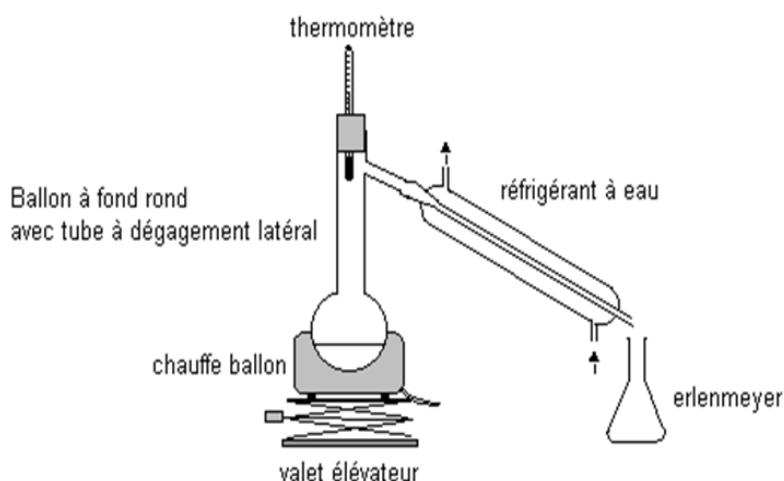


Figure 5 : extraction par solvant

## 6- L'extraction par enfleurage

L'enfleurage est l'une des plus anciennes techniques d'extraction utilisées en parfumerie. Elle est réservée pour réaliser des huiles florales de très grande qualité et est essentiellement utilisée pour les plantes ou partie de plantes, dont l'arôme est trop fragile pour supporter la chaleur d'une distillation. Par exemple les pétales de fleurs fraîchement cueillies sont étalés sur de la graisse sur des châssis de verre qui sont remplacés toutes les 24 heures, les huiles essentielles saturant progressivement la graisse. Le composé obtenu, appelé «pommade», est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée.



**Figure 6** : extraction par enfleurage

## 7- La composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges souvent très complexes de molécules organiques, elles sont classées en trois catégories :

### 1-Les essences hydrocarburées

(Essences de térébenthine, de citron...etc.)ces essences sont riches en terpène, sont les plus nombreuses et constituent les pellicules cireuses qui recouvrent parfois les feuilles, les fleurs, les semences .Ces composés sont assez



difficilement entraînés à la vapeur d'eau, on distingue les hydrocarbures aromatiques monoterpéniques ( $C_{10}H_{16}$ ) ses qui terpéniques ( $C_{15}H_{24}$ ) et quelques fois des hydrocarbures saturés (septan, coctan, nontane...etc.).

## **2-Les essences oxygénées**

(Essence de rose, essence de menthe...etc.) Ce sont généralement toutes les essences solides. A l'intérieur de ce groupe on rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des phénols, des astéroïdes, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes-phénols.

## **3-Les essences sulfurées et azotées**

Ces essences prennent naissance au cours de la distillation des parties de plantes qui renferment des substances albuminoïdes (crucifères, liliacées). Il existe d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles, acide organique, flavonoïdes, coumarines volatiles...etc. (Valnet, 1980 ; Bruneton, 1995).

Et parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement ; On l'appelle composée majoritaire. La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (Jon .T et al, 1997).

## **8-Facteurs de variabilité des huiles essentielles**

La composition des HE d'une espèce donnée dépend de plusieurs facteurs d'origine intrinsèques (spécifiques de l'équipement génétique de la plante) et extrinsèques (liées aux conditions environnementales de la plante). Ces facteurs peuvent influencer à la fois et la quantité et la qualité des huiles produites. Le temps de récolte, l'humidité relative, la photopériode, la méthode d'extraction, la position de l'organe sur la plante (son emplacement), les techniques culture des plantes aromatiques si elles sont cultivées,

la structure du sol et le climat font partie de ces facteurs (**Panizzi et al., 1993**).

### 1-Facteurs Intrinsèques

**a) Facteur génotypique** : les variations de la composition des HE provenant d'un même

phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences

génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique

ou à des mutations (polyploidies, aberration chromosomique).

**b) Facteur structural** : le potentiel et la composition de l'essence dépendent de l'organe.

Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles peuvent produire des HE différentes (**Pingot, 1998**). Ils

dépendent également de la nature des glandes sécrétrices.

**c) Facteur évolutif** : la biosynthèse des principes odorants évolue lors de la maturation de

la plante. Elle est prédominante pendant les périodes de forte croissance ou pendant celles

correspondantes à des activités métaboliques intenses telles que la floraison et la fructification

(Bernard et *al.*, 1988).

### 2- Facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques peuvent être de nature diverse comme :

**a) Origine géographique, écologie et climat** : les rendements des HE ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante (**El Abed et Kambouche, 2003**).

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la production et

la

quantité de l'essence (**Dupont, 2000**).

La durée d'exposition au soleil, la température nocturne et diurne, l'humidité, le régime

du vent, la pluviométrie, ...etc., sont des paramètres responsables des modifications de la

proportion de l'essence et de la composition chimique (**Clarck et Menary, 1980**).

**b) Nature des sols et techniques culturales** : la nature du sol (calcaire, siliceux, ...), les aspects culturaux comme la densité de culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an

et l'alimentation en eau affecte d'une manière déterminante la qualité des HE et leur rendement (**El Abed et Kambouche, 2003**).

**c) Facteurs d'origine technologique** : le mode d'extraction d'une HE marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci. En effet, l'hydrodistillation et la distillation

par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence. La durée et la

vitesse de distillation, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence (**Clark**

**et Menary, 1984**).

Selon Bruneton (1999), un changement très léger dans la durée de distillation peut entraîner des manques de 18 à 20% dans les constituants chimiques des huiles.

Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réactions chimiques d'altération (hydrolyse, élimination, cyclisation,

réarrangement et autres ...) sur les composés terpéniques thermosensible de l'essence (**Morin**

**et al., 1985**).

## 9 -Les propriétés des huiles essentielles (Paul Dupont)

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de

tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales. Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offrent une véritable alternative.

Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours de leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais. En fait, les vertus antiseptiques des plantes sont connues depuis des milliers d'années. Les hommes se sont ainsi aperçus, par exemple, que certains aromates, comme le thym, la sarriette ou la cannelle freinaient la fermentation des aliments.

Aujourd'hui, les pouvoirs antiseptiques des huiles essentielles sont scientifiquement prouvés : ainsi, l'huile essentielle de thym en solution aqueuse à 5% détruit le streptocoque en 4 minutes, le staphylocoque en 4 à 8 minutes et le bacille de la tuberculose en 30 à 60 minutes.

Selon le type d'huile essentielle, les propriétés peuvent être analgésique (soulage la douleur par une action sédative sur les nerfs),antibiotique (lutte contre les infections internes), antidépresseur (lutte contre les états dépressifs), antiémétique (soulage les états nauséux et élimine l'envie de vomir),anti-inflammatoire (réduit les inflammations), antispasmodique (prévient et soigne les douleurs spasmodiques de l'intestin et de l'utérus), antitoxique (agit comme un antipoison),antiviral (inhibe ou élimine les virus),carminatif (expulse les gaz intestinaux),cicatrisant (accélère et améliore la cicatrisation),digestif (stimule et facilite la digestion. Soulage l'indigestion), fongicide (prévient et détruit les infections fongiques), ionique (tonifie le corps ou un organe spécifique),

### **10-Classification des huiles essentielles.**

On peut classer les huiles essentielles en 03 groupes selon leur indice aromatique (Jon. T et *al.*, 1997).

**1-Les huiles majeures** : elles agissent bien sur les bacilles à Gram(+) ou à Gram (-).

Ce sont des huiles dont l'action bactéricide est constante et forte. L'indice aromatique de cette classe se situe entre 0.45 et 0.88.

**2-Les huiles médium** : Elles sont moyennement antiseptiques. Elles assurent la transition entre les majeures et les essences spécifiques nécessaires à chaque malade. Elles ont une contribution efficace en cas de thérapie de relais. Leur indice aromatique se situe entre 0.10 et 0.45

**3-Les huiles de terrain** : Elles sont des huiles dont l'indice est inférieur à 0.1.

**Chapitre II :**  
**Etude de la plante utilisée**

## I-Aspect botanique

### 1-Présentation de la famille des Apocynaceae

La famille des Apocynaceae ou Apocynacées est une famille de dicotylédones de l'ordre des Gentianales, se sont pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes, des régions tempérées à tropicales (**Judde et al.2002**). La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale (**Bruneton, 2001; Shriff et al., 2006**). Aujourd'hui cette famille donne de nombreuses plantes ornementales ainsi que des plantes médicinales. En Algérie on peut citer comme exemple le laurier rose.

### 2-Genre Nerium

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces

(**Popenoe. J., 1975; Yamauchi. T. et col., 1983**):

- *Nerium Oleander* L.
- *Nerium indicum* Mill (syn: *N. odorum* sol).

### 3- L'espèce Oleander

#### 3-1-Généralités :

Le *Nerium Oleander* L. ou laurier-rose (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae originaire de la rive sud de la mer Méditerranée (**Derwich et al., 2010**). Il est parfois appelé Oléandre et plus rarement Rosage ou Nérion ou Lauraine. Le nom latin *Nerium* vient du grec *nerion* signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (**Paris et Moyse, 1971**). Le nom spécifique *Oleander* vient de l'italien « *Oleandro* » qui vient du latin « *Olea* » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages.

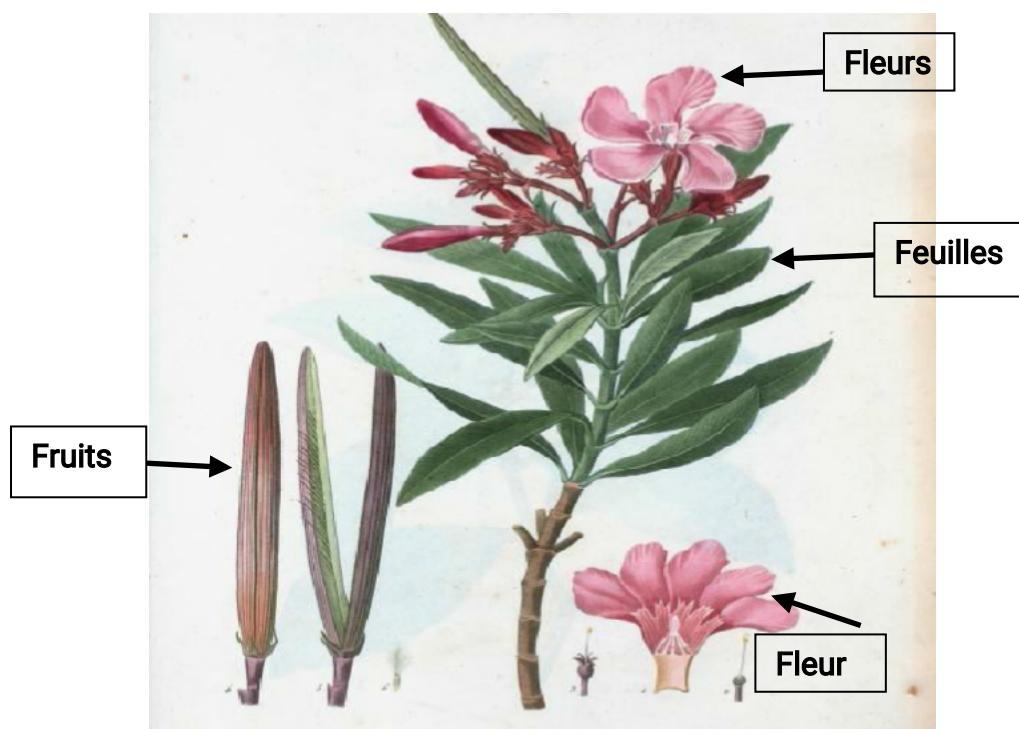


Figure 07 : Aspect morphologique le *Nerium Oleander* L. (Stursa, 2001).

### 3-2- Classification

Selon la flore de l'Europe, le *Nerium Oleander* L. est classé comme suit (Stursa, 2001).

Règne : Plantae

Division : Angiospermae

Classe : Dicotyledoneae

Ordre : Gentianales

Famille : Apocynaceae

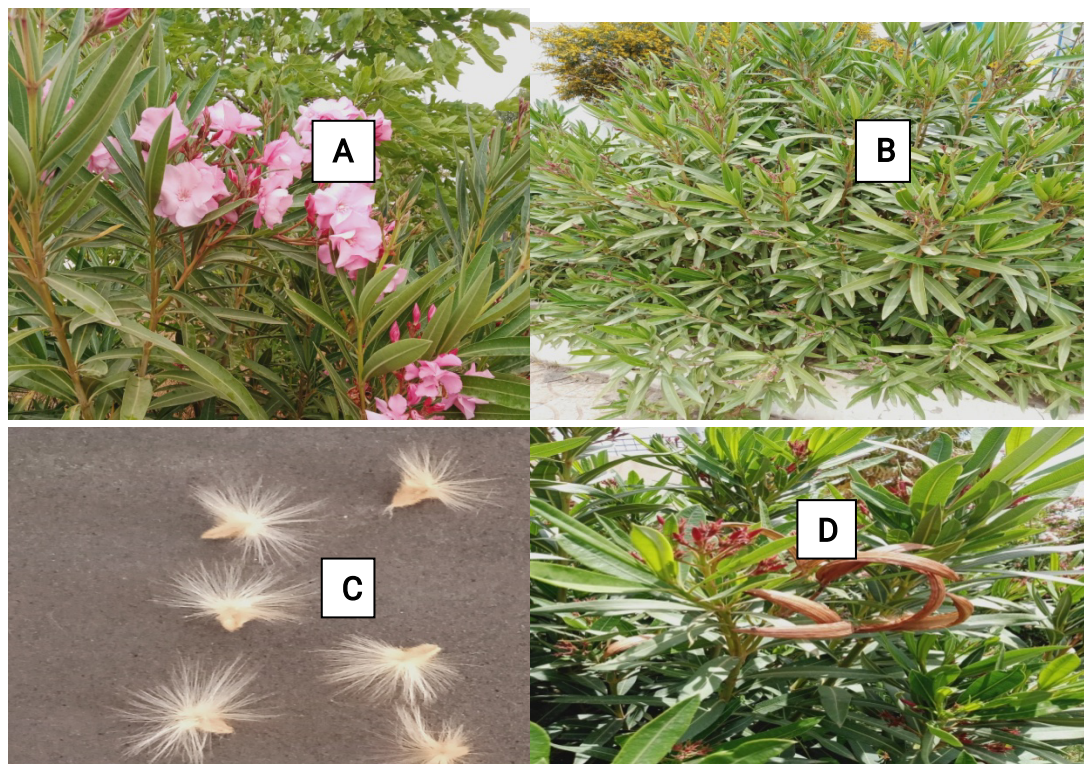
Genre : *Nerium*

Espèce : *Nerium oleander*



### 3-3-Description botanique :

Le laurier rose est un Arbuste dressé atteignant 3-4 m de hauteur, possédant des feuilles opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuse, serrées. Les fleurs sont disposées en corymbes terminaux, ont une corolle infundibuliforme à gorge rose s'évasant en 5 lobes étalés et ornés d'un appendice à 3-4 dents courtes ; elles s'épanouissent de juin à septembre, sont de teinte rose ou blanche. Le fruit comporte deux follicules allongés (8-16 x 0.5-1.5cm), soudés jusqu'au début de la déhiscence. Les graines sont duveteuses, et surmontées d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion.



**Figure 08** : Plante de laurier rose  
(A : Arbre en fleurs ; B : Arbre en feuilles ; C : Les graines ; D : Arbre en fruits) (Original,

---

2021)

### 3-4-Distribution géographique

*Nerium Oleander L.* (Apocynaceae) est largement distribué dans la région méditerranéenne, l'Asie subtropicale, et le sud-ouest des États-Unis (**Siddiqui et al., 2012**).

Elle pousse sur des sols bien drainés, le long des cours d'eau et les ravins secs des zones

côtières et intérieures à une hauteur de 800 m au niveau de la mer (**Orecchio et Amorello, 2009**).

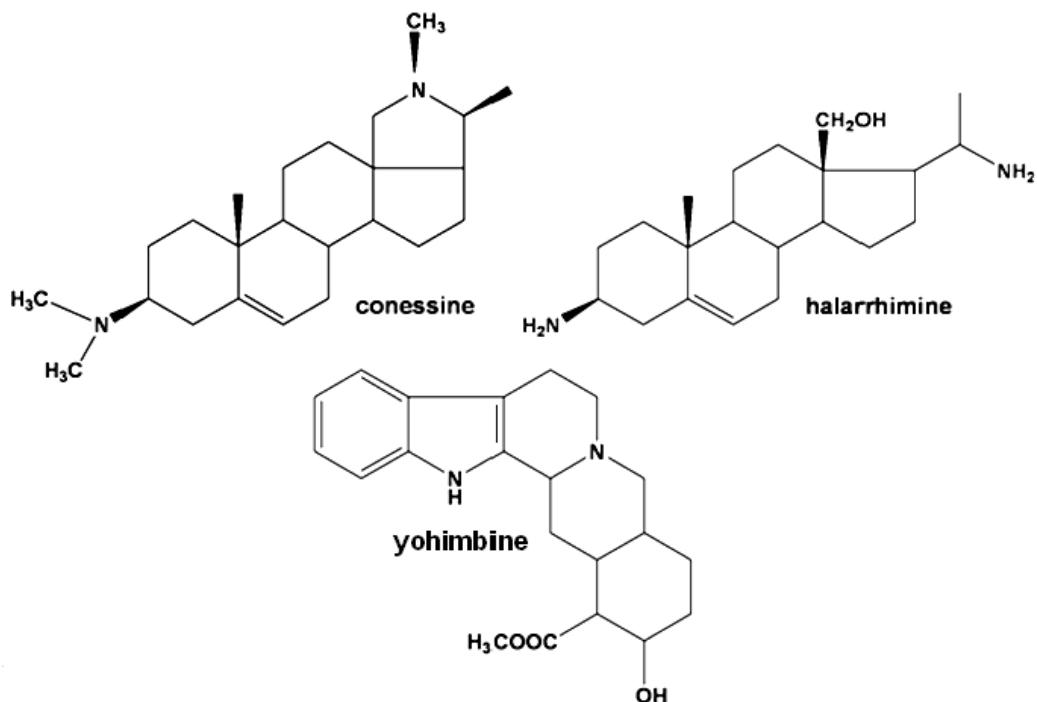
Outre ces espèces sauvages, il est de plus en plus cultivé comme arbuste ornemental ou pour former des haies dans les parcs et jardins car sa hauteur peut atteindre 2 à 3 mètres (**Moulsma et al., 2000**).

Elle tolère la sécheresse et parfois un léger gel (-10°C) (**Soundararajan et Karrunakaran, 2010**).

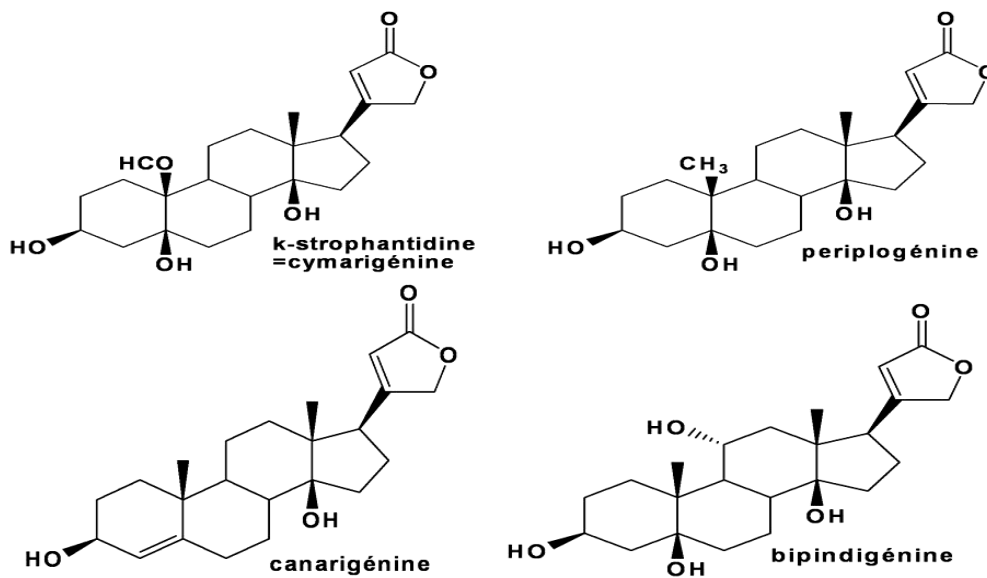
## II- Aspect chimique

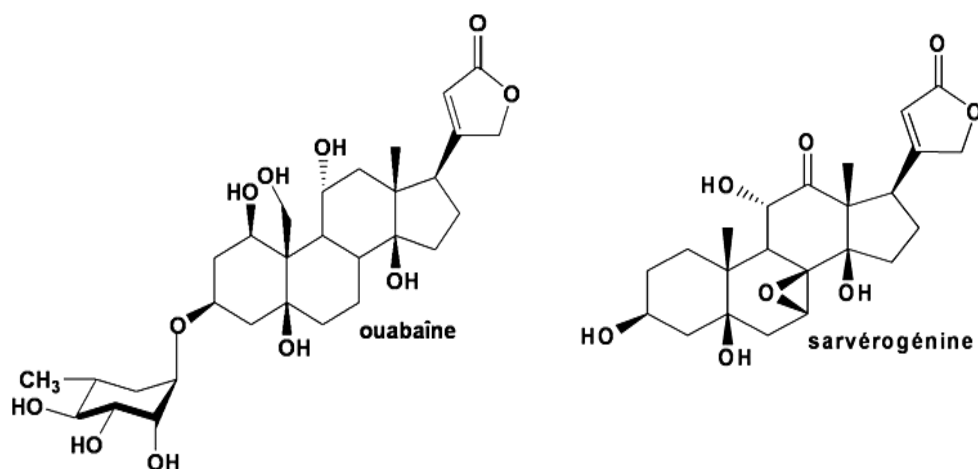
### 1- Famille des Apocynaceae

Les hétérosides cardiotoniques et les alcaloïdes à noyaux indolique et stéroïdique sont considérés comme les marqueurs chimie taxonomiques de la famille des Apocynaceae (**Hostettman et al., 2000**).



Exemples des alcaloïdes à noyaux stéroïdique et indolique (R.R. Paris. et col., 1971).





Hétérosides cardiotoniques des Apocynaceae (Bruneton. J., 2001).

## 2- Le Genre *Nerium*

Les espèces de *Nerium* ; *Nerium indicum* et *Nerium Oleander*, sont des plantes toxiques. A ce titre leur utilisation en phytothérapie est limitée à l'usage externe. *Nerium indicum* est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide (Eun Jeong., 2001; Shan Yu et al., 2004). Les écorces de *Nerium indicum* ont été signalées comme douées d'une activité molluscicide contre *Lymnaea acuminata* (Singh. et al., 1998).

## 3- L'espèce *Nerium Oleander*

Malgré sa toxicité établie, l'espèce *Nerium Oleander* N. est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées populaires (Adom et al., 2003).

### III- Aspect pharmacologique

Au point de vue des ouvrages classiques de la matière médicale, la famille des Apocynaceae fournit des drogues de première importance en thérapeutique (**Pauwels, 1979**). C'est le cas des alcaloïdes indoliques anticancéreux (ex. vinblastine et vincristine extraites de la pervenche de Madagascar ou celle de la vincamine obtenue par la pervenche mineur) (**Gausson et al., 1982**).

D'après la littérature, les diverses parties de *Nerium Oleander* ont exhibé in-vitro et in-vivo une série d'activités biologiques et pharmacologiques (Tab. 01) :

**Tableau 01** : Propriétés pharmacologiques de *Nerium Oleander* L.

Parties utilisées	Propriétés pharmacologiques et utilisation / (références)
Feuilles	Cardiotoniques, antibactériens ( <b>Hussain, 2004; Delille, 2007</b> )
Racines	Anticancéreux, antilèpreux, anti-ulcèreux, antibactériens, cardiotoniques ( <b>Hanson, 1985 ; Siddiqui, 1989 ; Huq, 1999</b> )
Différents parties	Antimalaria, antivirale, anti-ulcèreux, anticancéreux, antidote ( <b>Ibrahim, 2007</b> ) et comme insecticide ( <b>Adom, 2003</b> ). Emménagogue, comme Abortif, antispasmodique et dans le traitement d'angine de poitrine... ( <b>Al-yahya et al., 2000; Aouinty et al., 2006</b> ), antiparasitaires...  ( <b>Siddiqui et al., 1987; Siddiqui et al., 1989; Adom et al., 2003; Ibrahim et</b>

	<i>al.</i> , 2007).
--	---------------------

## 2 - Utilisations traditionnelles dans le monde

Le *Nerium Oleander* est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (Almahy *al.*, 2006). Les usages traditionnels des différents organes de *Nerium Oleander* selon les pays sont décrits dans le tableau 02.

**Tableau 02** : Principales utilisations de *Nerium. Oleander* en médecine traditionnelle selon les pays. (Adom et *al.*, 2003).

Parties utilisées	Pays	Indications	Mode d'emploi
feuilles fraîches ou séchées	Afrique du sud	abortif	*
	Algérie	nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires	décoction
	Iran	cardiotonique et diurétique	infusion
	Maroc	antidiabétique, abortif, démangeaison, mal de tête, antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma	Décoction, infusion, macération

différents organes	Tanzanie et Turquie	Antibactérien	décoction
	Cuba	médecine de folklore	*
	Inde et Bangladesh	Antibactérien	*

### 3- Toxicité du *Nerium Oleander L.*

*Nerium oleander L.* est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études (**Adom. et al., 2003; Almahy. et al., 2006 ; Barbosa. et al., 2008**). *Nerium Oleander L.* étant plus souvent associée à des intoxications accidentelles chez les enfants ou même chez les animaux domestiques (**Bruneton. J., 2001**). Toutefois, des tentatives de suicide au *Nerium Oleander* sont régulièrement colligées par les toxicologues dans différentes parties du globe, et un cas d'utilisation à visée criminelle a été récemment rapporté (**Bourgeois. et al., 2005**).

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée, ce qui peut s'avérer mortelle pour un adulte. Les premiers signes de l'intoxication : inconscience, irritation de muqueuses, nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhée, polypnée, troubles cardiaques graves, brûlure de la peau parfois signalée chez les sujets sensibles. Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72 h) après l'ingestion d'une quantité toxique (**Adom. et al., 2003**).

Les hétérosides cardiotoniques principaux constituants de *Nerium Oleander* sont les substances toxiques reconnus à cette espèce (**Bruneton, 2001**).

## Chapitre III :

Le *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*



## 1-Généralités sur le genre *Fusarium*

Les espèces du genre *Fusarium* (*Fusarium* sp) sont communément associées aux végétaux supérieurs et font partis des champignons les plus rencontrés dans les écosystèmes terrestres (**Ploetz, 2001**) et les plus fréquemment isolés par les phytopathologistes. Le genre *Fusarium* comprend certaines des espèces de champignons phytopathogènes d'importance économique les plus grandes pour l'agriculture et l'horticulture (**Summerell et al., 2010 ; Ma et al., 2013; Gordon, 2017**). La diversité des hôtes infectés par *Fusarium* sp, le nombre de taxa pathogènes et les types d'habitats dans lesquels ils sont présents en font un cas particulier en phytopathologie (**Leslie et al., 2006**). Ainsi, les *Fusarium* phytopathogènes sont rencontrés aussi bien dans les sols cultivés des régions tempérées que des régions tropicales. Dans les régions tempérées, de nombreuses cultures sont attaquées par les *Fusarium* engendrant des dégâts économiques conséquents.

Parmi le genre *Fusarium*, *Fusarium oxysporum* est certainement l'espèce de champignon tellurique la plus répandue dans la nature et dans tous les types de sols (**Champion, 1997, Fravel et al., 2002**). Différentes souches de ce pathogène existent, celles qui envahissent le système vasculaire par les racines profondes induisant une maladie de type systémique et celles qui peuvent pénétrer les racines sans envahir les vaisseaux et causer la maladie (**Fravel et al., 2002**). En outre, il possède de nombreuses formes spécialisées ce qui lui permet de s'attaquer à une multitude de cultures, telles que les légumineuses (*F. oxysporum f. sp. pisi* sur pois) (**Champion, 1997**), les plantes maraîchères (*F. oxysporum f. sp. lycopersici*) (**Messiaen et al., 1991**)

## 2-Taxonomie

Le genre *Fusarium* appartient au phylum des Deutéromycètes (champignons imparfaits, Fungi imperfecti), car la plupart des espèces étaient d'abord décrites sur la base de caractères morphologiques et une reproduction sexuée n'a pas été observée. Ces formes imparfaites (anamorphes) sont caractérisées par un mycélium septé et la production de conidies hyalines généralement unicellulaires sur des conidiophores libres; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (**Lepoivre, 2003**). De plus, *Fusarium* produit des macroconidies composées de 2 à plusieurs

cellules. Leur forme recourbée typique avec une cellule apicale plus ou moins pointue est un des critères d'identification des représentants du genre ; dans beaucoup d'espèces on observe une cellule basale en forme de pied (Seifert, 2001). La production de métabolites secondaires et notamment de toxines (mycotoxines et phytotoxines) est courante parmi les *Fusarium*, et le profil de ces composés peut être utilisé pour la classification des espèces (Thrane, 2001).

Des formes sexuées (téléomorphes) ont été maintenant observées pour certaines espèces de *Fusarium*. Elles font toutes partie des Ascomycètes, de la famille des Nectriales et notamment des genres *Gibberella* et *Nectria* (Seifert, 2001). Quelques exemples sont montrés dans le **Tableau 3**.

Ainsi, *Fusarium oxysporum* est considéré comme Ascomycète bien que le stade sexuel doive être encore trouvé. Il est proposé d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* que *Nectria* (Di Pietro *et al.*, 2003, Michielse et Rep, 2009). Au sein de l'espèce *F.oxysporum* on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes.

**Tableau 03-** Formes téléomorphes de différentes espèces de *Fusarium* (Leslie et Summerell, 2006).

Espèce de <i>Fusarium</i>	Téléomorphe
<b>F. graminearum</b>	<i>Gibberella zea</i>
<b>F. fujikuroi</b>	<i>Gibberella fujikuroi</i>
<b>F. verticilloides</b>	<i>Gibberella moniliformis</i>
<b>F. avenaceum</b>	<i>Gibberella avenacea</i>
<b>F. solani</b>	<i>Nectria haematacocca</i>
<b>F. acuminatum</b>	<i>Gibberella auminata</i>
<b>F. lateritium</b>	<i>Gibberella baccata</i>

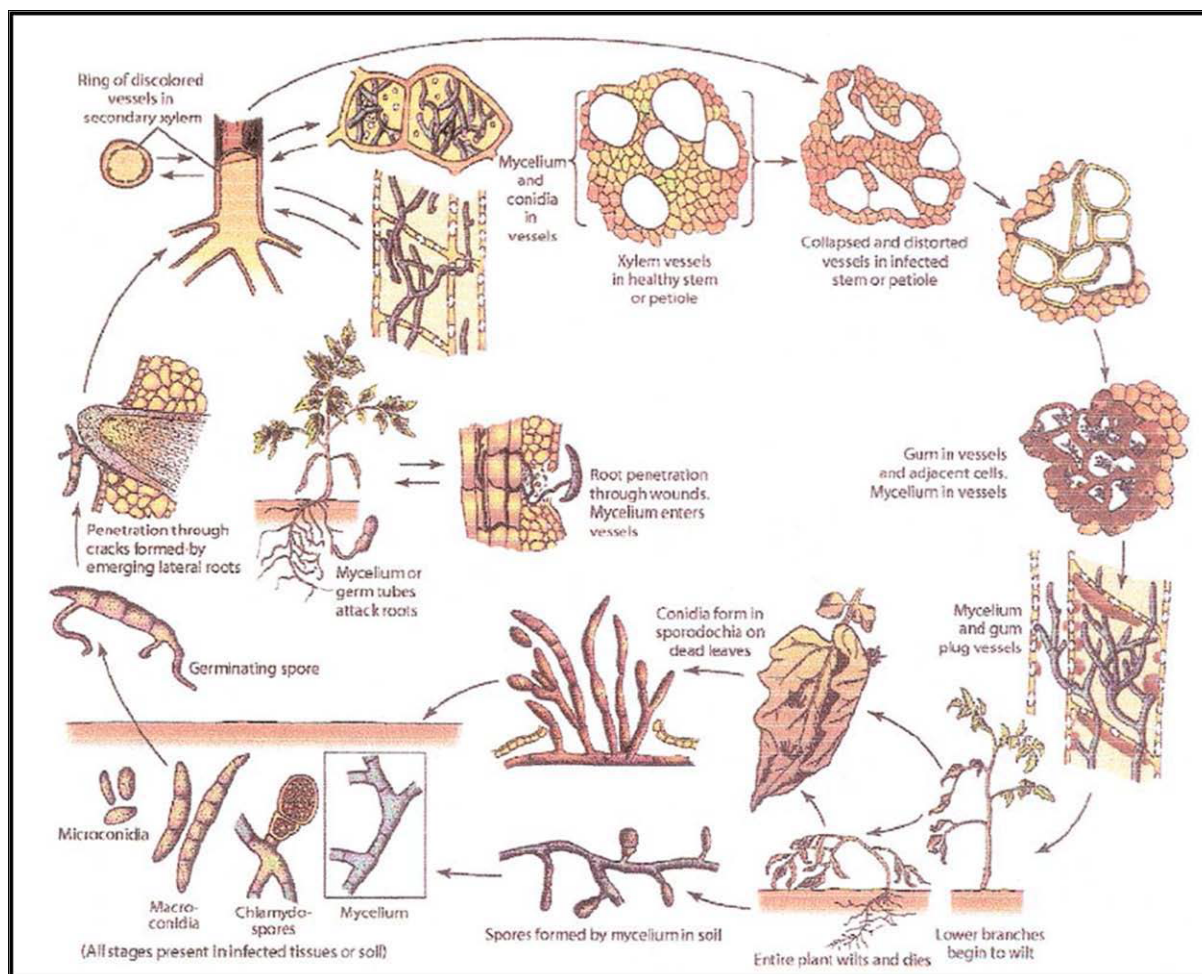
<b>F. circinatum</b>	Gibberella circinata
<b>F. pseudograminearum</b>	Gibberella coronicola

### 3-Cycle de vie de *F. Oxysporum*

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les isollements effectués indiquent qu'un gramme de sol peut renfermer près de  $10^5$  propagules, où les *F. oxysporum* représentent 80 à 90% de la population fusarienne totale de la rhizosphère (**Correll et al., 1986**).

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance (chlamydospores) en état de dormance (**Booth, 1971**). En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables le cycle se déroule comme suit (figure 09) :

- Les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent les racines au niveau des blessures ou des ouvertures naturelles ;
- Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie et colonise toutes les cellules avoisinantes ;
- Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le cortex. Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des micro-conidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante ;
- A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies et qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (**El Mahjoub et al., 1979**).



**Figure 09:** cycle biologique de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (AGRIOS, 2005)

- 1-Conidies, chlamydo-spores ou mycélium vivant dans le sol.
- 2-Germination des spores.
- 3-Pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines.
- 4-Invasion des vaisseaux par les conidies et/ou mycélium.
- 5-Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux.
- 6-Flétrissement et mort de la plante.
- 7-Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

#### 4 - Les symptômes de la pourriture racinaire (*Fusarium* crown and root rot):

La pourriture des racines et du collet est une maladie causée par *Fusarium oxysporum f.sp. radicles-lycopersici* (Forl) (**Jarvis et Shoemaker, 1978**).

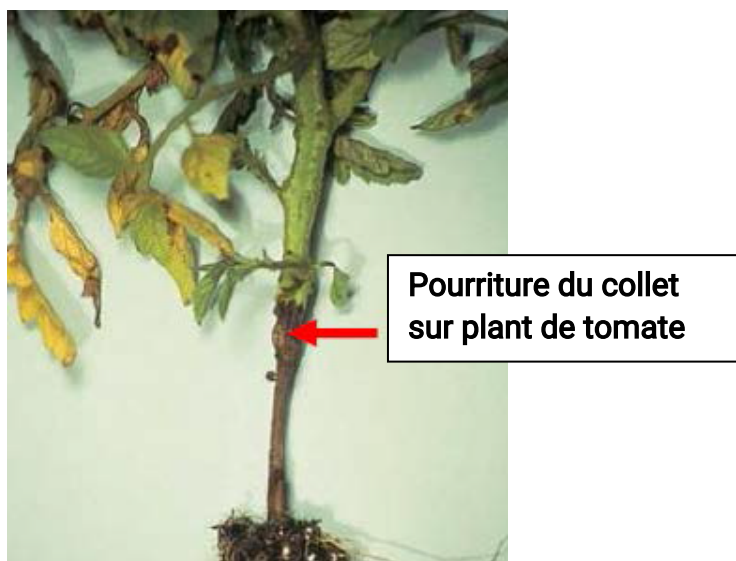
Cette maladie a été découverte pour la première fois au Japon en 1969 (**Menzies et Jarvis, 1994**), la maladie est présente aujourd'hui dans plusieurs pays du globe terrestre, où elle est caractéristique des cultures printanières et s'attaque aux racines et au collet de la tomate aussi bien aux cultures en plein champ que sous abris (**Blancard, 1997**). Elle a été signalée dans plusieurs pays du bassin méditerranéen où elle est plus ou moins dommageable (**Blancard, 1997**).

Cette maladie terricole causée par *Fusarium oxysporum f.sp. radicles-lycopersici* s'attaque aux plantules et entraîne leur mort (**Henni, 1998**). Elle peut s'exprimer surtout à maturité lorsque les plantes sont chargées de fruits (**Blancard, 1997**).

### 1- Les symptômes externes:

Contrairement aux maladies vasculaires, des flétrissements plus ou moins importants apparaissent sur les folioles du sommet de la tige qui est fortement amincie dans cette zone

En fonction des plantes, ces flétrissements peuvent être dans un premier temps réversibles durant la nuit, et leur incidence peut varier en fonction des conditions climatiques. Les flétrissements peuvent être soudains, et évoluer très rapidement vers la nécrose. Le dessèchement des folioles et des feuilles, conduisent à la mort des plantes. Certains auteurs signalent aussi l'apparition de jaunissements foliaires situés à la périphérie du limbe des vieilles feuilles. Ceux-ci sont suivis de la nécrose des pétioles et de la chute des feuilles. Certaines plantes affectées précocement voient leur croissance réduite. Quelle que soit la gravité des flétrissements, les symptômes primaires sont à rechercher sur les racines et le collet des plantes (Fig. 12) Sur les racines apparaissent de nombreuses lésions brun rougeâtres, humides, évoluant rapidement en pourriture. Plus le diamètre des racines est faible, plus celles-ci pourrissent et se décomposent rapidement.



**Figure 10:** Pourriture du collet sur plant de tomate (AGRIOS, 2005)

## 2- Les symptômes internes:

Il convient à noter que le système vasculaire présente aussi quelques symptômes, bien que nous n'ayons pas à faire à une maladie uniquement vasculaire. D'une manière générale, le cylindre central des grosses racines révèle des brunissements assez marqués. Il en est de même pour les tissus vasculaires du pivot et ceux situés de part et d'autre de ces derniers. Le brunissement peut s'étendre jusqu'à la tige sur plusieurs dizaines de centimètres au-dessus du collet. Des racines adventives se développent parfois sur la tige pour faire face à l'attaque du champignon (Blancard, 1997). (Fig. 13).



**Figure 11 :** Nécrose racinaire (Blancard, 2009)

# **Partie II**

## **Matériels et méthodes**

## 1- Le matériel végétal

Le matériel végétal utilisé consiste en des feuilles de Laurier rose (*Nerium oleander L.*). Les feuilles sont prélevées à partir de plantes dans la région de Tiaret en Mars 2021.



Figure 12 : Matériel végétal (Plante de *Nerium oleander L.*)

## 2- Description de la région (Hellal, 2015)

Elle se trouve à 1150m d'altitude, son climat se caractérise par deux périodes à savoir :un hiver rigoureux et un été chaud et sec avec une température moyenne de 37,2°C. En période normale la wilaya de Tiaret reçoit 300à400mm de pluies par an, avec une fluctuation saisonnière de la pluviométrie allant de 157mm en hiver à 31mm en été .Elle appartient à l'étage



bioclimatique semi-aride inferieur à hiver frais ou le climat est du type méditerranéen .Le relief qui est hétérogène ,est matérialisé par :une zone de montage au Nord ;des hautes plaines au centre ,des espaces semi-arides au Sud (68,44%) . La wilaya recèle d'importantes potentialités naturelles et notamment 1.609.900 Ha de terres agricoles, 142.966Ha de zones steppiques et d'une zone forestière de 142.422Ha. La superficie agricole totale est répartie à raison de 704.596Ha. Agricole utiles.

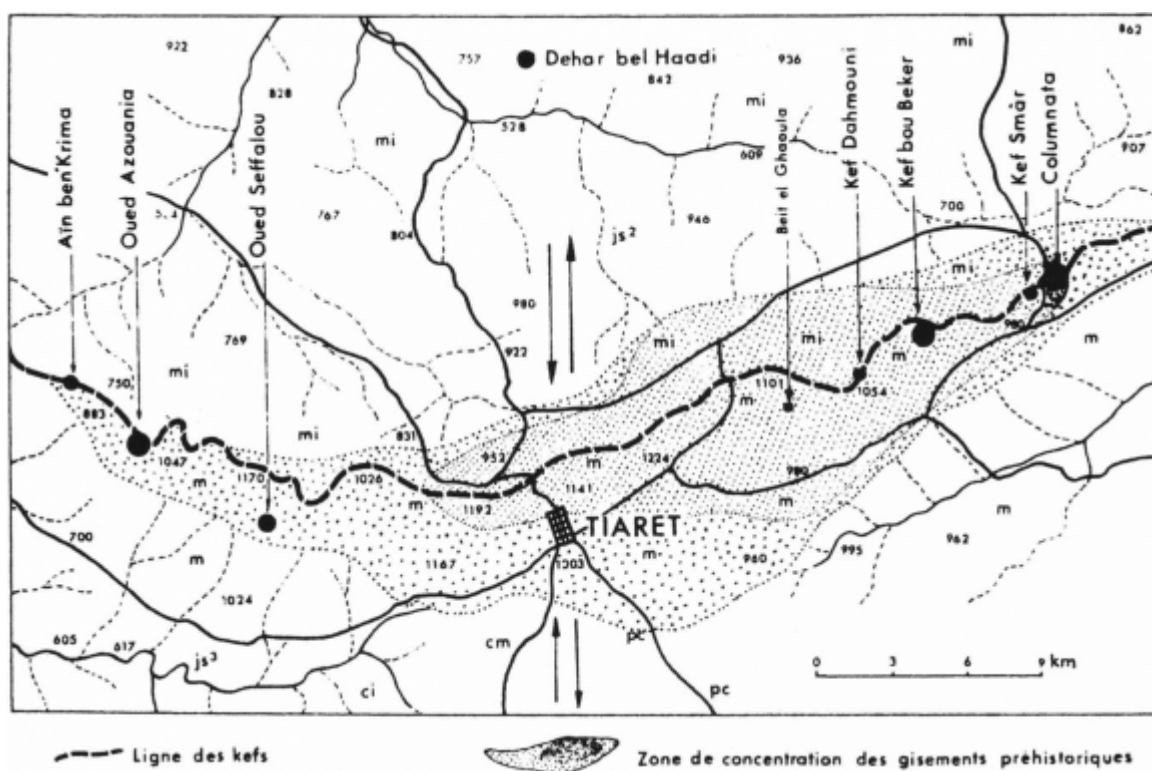


Figure 13 : Carte plan-Tiaret

### 3-Méthodes

#### 3-1- Collecte des feuilles

Les feuilles sont collectées le mois de mars 2021, elles sont séchées à l'abri

de la lumière et dans un endroit aéré pendant 20jour.



**Figure14:** Feuilles de *Nerium oleander* L.

### **3-2-Extraction des H.E. par hydro distillation**

Cette partie de l'expérimentation s'est déroulée au laboratoire de protection des végétaux ; Faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université IBN KHALDOUN de Tiaret.

La méthode choisie est celle de l'hydrodistillation. L'extraction est réalisée à l'aide d'un montage à distillation simple (Clevenger). Un ballon d'une capacité d'un litre où baigne la matière végétale (Laurier rose), le tout est porté à une température de 60°C au moyen d'un chauffe ballon pendant 4 heures . Ce ballon est surmonté d'un coude en verre relié à un réfrigérant qui sert à condenser la vapeur d'eau contenant l'huile essentielle extraite. Le distillat est récupéré dans un erlenmeyer.

Nous signalons que dans notre expérimentation nous testons également l'hydrolat obtenu après l'hydrodistillation ainsi que l'extrait aqueux de la même plante, obtenu

après séchage et broyage des feuilles.

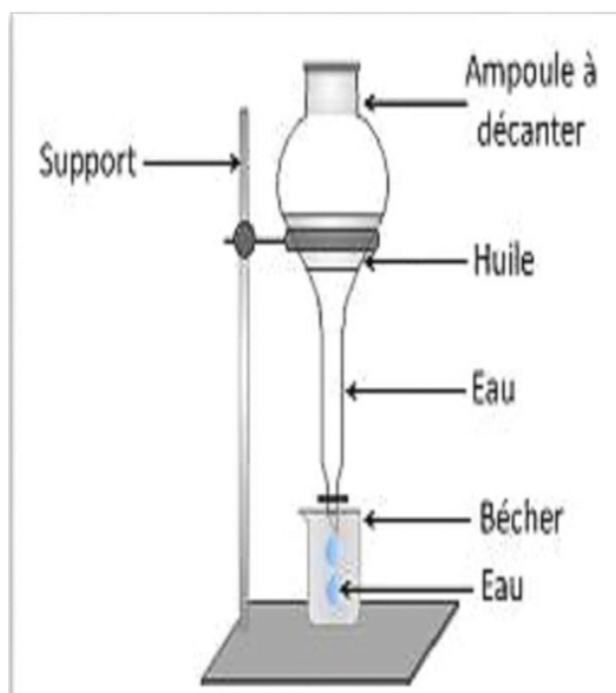


**Figure 15 :** Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction d'huile essentielle :  
Clevenger

**A :** Chauffe ballon ; **B :** Ballon contenant des feuilles de laurier rose ; **C :** Réfrigèrent ;  
**D :** Bêcher ; **E :** Zone d'arrivée et sortie de l'eau

### 3-2-1-Décantation

La décantation est réalisée dans une ampoule à décanter de 300 ml, dans laquelle, le mélange précédent, se sépare en deux phases non miscible pendant 24h ; le rendement en huiles essentielles étant minime.



**Figure16** : Ampoule à décanter pour la séparation d'huile essentielles

### 3-2-2–Conservation des huiles essentielles

Après la décantation, les huiles essentielles récupérées sont conservées à 4°C dans des flacons en verre, fermés hermétiquement enveloppés de papier aluminium. Très volatiles par nature, les HE peuvent rapidement perdre leurs propriétés. Très vite, elles commencent à vieillir, généralement au bout de 6 mois. Au mieux, elles peuvent conserver leurs propriétés thérapeutiques pendant environ trois ans (**Jean-Michel L.,2007**). Pour cela, elles doivent être impérativement gardées à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur, et contenues dans des flacons en verre (les HE sont réputées « ronger » les plastiques) opaques ou teintés (en bleu ou brun) hermétiquement clos, entreposés debout (**Werner M, 2002. Abrassart J., 1997**). Les HE se volatilisent au contact de l'air. Aussi, il faut bien veiller à ne pas laisser les flacons trop longtemps ouverts (**Werner M, 2002.Valnet J.1984**)



Figure17 : Flacons contenant de l'huile essentielle

### 3-2-3– Le rendement

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal (AFNOR, 1982). Après récupération des huiles essentielles, le rendement est calculé par la méthode suivante :

$$R = m / m_0 \times 100$$

**R** : rendement en huile essentielle (%)

**M** : masse en gramme de l'huile essentielle

**m<sub>0</sub>** : masse en gramme de matière végétale sèche

### 3-3-L' hydrolat

A l'issue de la distillation à la vapeur d'eau des différentes parties de plantes aromatiques, on obtient de l'huile essentielle dense en principes actifs (non hydrosolubles) au-dessus dans le vase florentin, et la vapeur d'eau redevenue liquide après refroidissement se concentre en bas. Cette vapeur d'eau redevenue liquide est chargée de composés aromatiques de l'huile essentielle environ 2 à 3 %, et d'autres

principes actifs hydrosolubles que l'on ne retrouve pas dans l'huile essentielle, ce qui lui confère des propriétés propre (**TABET ZATLA**).

C'est donc l'eau utilisée pour la distillation de plantes aromatiques qui se sépare de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic que l'on appelle hydrolat, eau florale ou hydrosol en anglais.

Il est important de noter que chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, et que l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante. L'hydrolat a un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais beaucoup moins concentré qu'une huile essentielle. Certaines eaux florales sont d'usage courant en cuisine et en soins externes, comme l'eau de fleurs d'oranger, l'eau de rose et l'eau de bleuet. Les hydrolats sont extrêmement sensibles aux développements des bactéries à cause de leur faible teneur en huile essentielle et à la présence de particules végétales, raisons pour lesquelles, ils ne se conservent pas longtemps, (de 12 à 24 mois). Il faut donc impérativement les conserver à l'abri de la lumière dans des flacons opaques, à l'abri de la chaleur, et à l'abri des variations de température (**TABET ZATLA**).

### **3-4- L'extrait aqueux du Laurier rose :**

#### **3-4-1-Méthodologie :**

##### **➤ Séchage de la plante :**

Les feuilles de laurier rose, sont séchées sous l'ombre à l'abri du soleil pendant quatre semaines.

##### **➤ Broyage :**

Les feuilles de la plante séchée sont broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine



Figure18 : le broyeur (faculté SNV Tiaret)

➤ **Préparation de l'extrait aqueux de la plante:**

L'extrait aqueux de la plante étudiée (*Nerium oleander* L.) est obtenu en laissant macérer 15g de la poudre dans 150ml de l'eau distillée pendant 24h sous agitation. L'extrait ainsi obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est conservé dans un flacon en verre à 4°C. (Gbogbo et al.,2013)

## II-Le matériel fongique

La souche fongique retenue pour notre expérimentation est *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (responsable de la fusariose racinaire chez la tomate)

### 1-Définition :

*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ou FORL (*Fusarium* crown and root rot) est inféodé au système racinaire de la tomate, sur lequel il provoque le brunissement de nombreuses racines qui finissent par pourrir. Généralement, les tronçons de xylème situés dans le pivot et dans certaines grosses racines brunissent

aussi ainsi que, par la suite, les vaisseaux de la tige. Ainsi, une strie brune, large de quelques millimètres, peut s'étendre dans celle-ci sur plusieurs centimètres. Par la suite, le brunissement affecte une portion plus importante de vaisseaux et peut être observé jusqu'à plus de 30 cm au-dessus du sol ou du substrat).

Ces différentes altérations provoquent le flétrissement de folioles et de feuilles plutôt situées à l'apex et/ou un jaunissement des feuilles de la base des plantes. Ces symptômes foliaires surviennent souvent à l'approche de la récolte, lors de journées chaudes et à un moment où les plantes commencent à être chargées en fruits (*Blancard, 2013*).



**Figure19** : Les symptômes de *Fusarium oxysporum* f.sp. radicum-lycopersici.

Les isolats de *F. oxysporum* f. sp. radicum-lycopersici sont obtenus à partir des plants de tomate présentant des symptômes de flétrissement et de pourriture du collet et stockés sur milieu PDA à 4°C. Ces isolats font partie des souches du laboratoire de Microbiologie ; Faculté SNV ; Université Ibn Khaldoun Tiaret. Ces derniers sont obtenus et isolés par Monsieur YEZLI Wassini, enseignant MCA à la faculté SNV de l'université de Tiaret.

Qu'il reçoive ici nos vifs remerciements.



## 2-Préparation du Milieu de culture et réalisation des tests antifongiques

**Il est à noter que la méthode utilisée est la méthode de confrontation directe**

- ✓ Il s'agit: du Milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar) :  
Mettre en suspension 19g du milieu en poudre dans 1L d'eau distillée, après nous mettons le bécher à chauffer sur un agitateur magnétique et nous portons à l'ébullition pendant 1minute jusqu'à la dissolution complète du mélange. Par la suite nous procédons à la stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15min.
- ✓ Laisser refroidir le mélange à environ 40°à50°C.
- ✓ Le milieu de culture est versé dans des boites de Pétri stériles puis nous ajoutons un disque vierge de *Fusarium* sp découpé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, ce dernier est disposé au centre de la boite.
- ✓ le milieu PDA est laissé par la suite pour qu'il solidifie. cette technique est répétée trois fois pour chaque traitement, pour le témoin ainsi que pour l'huile essentielle, l'hydrolat et l'extrait aqueux ;
- ✓ Cette technique de confrontation directe est réalisée par l'ajout de deux traits de deux cm de façon parallèles des différents traitements de part et d'autre du disque vierge de *Fusarium* à l'aide d'une anse de platine. les deux traits parallèles sont espacés de trois cm.
- ✓ Les boites sont mises à incuber dans une étuve, à une température de 28°C et à l'obscurité, pendant 7 jours. La croissance diamétrale est notée à partir du troisième jusqu'au 7ème jours.

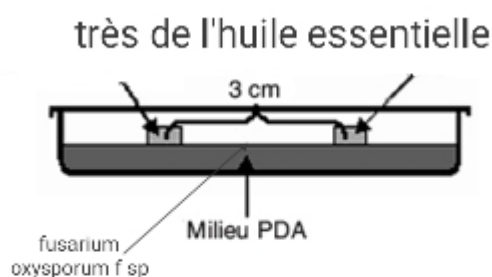


Figure20 : Méthode de confrontation directe (Hibar, 2005)

### 3-Mesure du taux d'inhibition :

Le diamètre d'inhibition est mesuré en mm à l'aide d'une règle. Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres de la zone d'inhibition après le temps d'incubation requis puis calculer le taux d'inhibition avec la formule suivante:

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

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

dC = Diamètre des colonies dans les boîtes « témoin négatif »

dE = Diamètre des colonies dans les boîtes contenant les traitements

Le produit est dit :

-très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible.

-actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % la souche fongique est dite sensible

-moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ,la souche est dite limitée.

-lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%; la souche est dite peu sensible ou résistante (Alcamo, 1984;Rotimi et al., 1988)

### 3- Test statistique :

Les données collectées ont été soumises à l'analyse de variance effectuée à l'aide du logiciel SPSS 20. La comparaison des moyennes est effectuée au seuil de 5%

## **Partie III**

# **Résultats et discussion**

### I-Rendement en huile essentielle

-Détermination du rendement en huile essentielle

**Tableau 4:** Rendement en huiles essentielles de plante étudiée

<b>Espèce</b>	<b><i>Nerium oleander</i></b>
<b>Rendement</b>	<b>0,45%</b>

Le rendement en huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Nerium Oleander* concernées par notre expérimentation est de 0.45% par rapport à la matière sèche.

Il est à noter que le rendement en huiles essentielles est directement influencé par la région, le climat, la saison et le stade végétatif ou reproductif de la plante et le mode d'extraction. La plante utilisée durant notre expérimentation est au stade végétatif elle n'a pas encore commencé sa mise à fleure.

Le rendement est conforme avec les normes AFNOR. Le rendement est influencé par différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction. (ZABEIROU et HACHIMOU ,2005).

### II-Caractéristiques organoleptiques

Le tableau 5 ci-dessous montre les caractéristiques organoleptiques des l'huile essentielle de *Nerium oleander* L.

**Tableau 5** : Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de plante étudiée

	Aspect	Couleur	Gout	Odeur
L'AFNOR	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Fort	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
L'huile essentielle de <i>Nerium Olender</i>	Liquide mobile, limpide	incolore	Fort	plus ou moins camphrée

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR. (AFNOR,1999).

### III- L'activité antifongique de l'huile essentielle

#### 1- Méthode de confrontation directe

La figure 21 représentée ci-dessous met en évidence les résultats de l'action des différents traitements sur le développement de *F.oxysporumf.sp.radicislycopercici*. La première expérimentation est réalisée avec la méthode de confrontation directe. Le traitement à l'huile essentielle révèle un taux d'inhibition de 72%. Sous l'effet de

l'hydrolat ce paramètre prend la valeur de 47 % alors que l'extrait aqueux inhibe la prolifération du champignon à 38%.

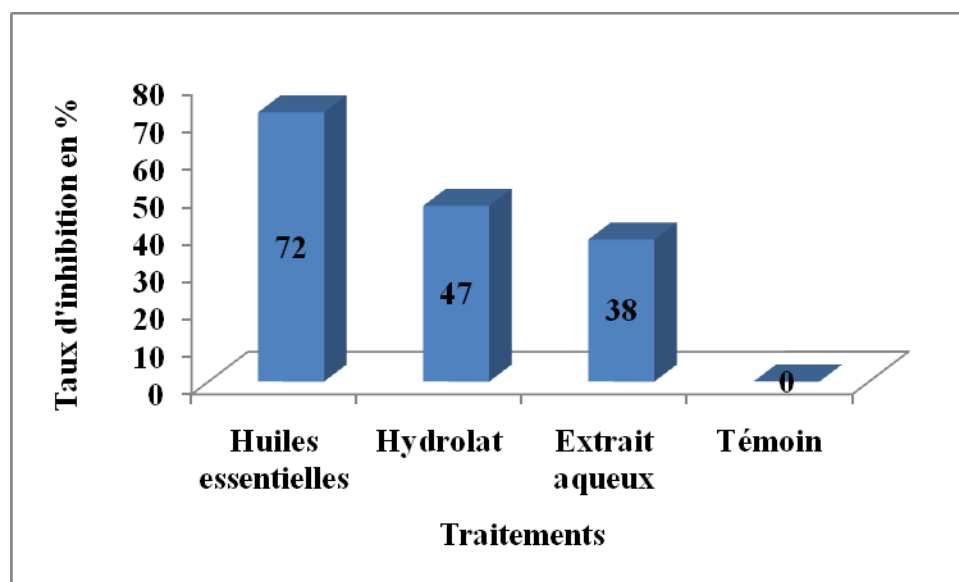


Figure 21 : Les taux d'inhibition des différents traitements sur le développement de *Fusarium oxysporum*

Tableau 6: Les niveaux de signification des taux d'inhibition de la souche de champignon au 7<sup>ème</sup> jour par les différents traitements.

Paramètre	Traitements				Probabilité
	H.E.	Hydrolat	Extrait aqueux	Témoin	
Taux d'inhibition	72%	47%	38%	0%	0,000

Le tableau 6 représente les résultats statistiques de l'action des différents extraits de *Nerium oleander* sur la croissance de *F.oxysporumf.sp.radicislycopercici*. Les valeurs obtenues révèlent que l'espèce *F.oxysporumf.sp.radicislycopercici* est

sensible, et que les extraits sont actifs, selon les normes de (Alcamo ,1984 ; Rotimi et al.,1988).Les tests statistiques réalisés indiquent clairement que l'évolution mycélienne est étroitement liée aux différents extraits appliqués,  $p=0.000$ .

### Discussion :

L'ensemble des résultats obtenus dans nos conditions expérimentales montre que les tests ont présenté une action antifongique sur *F.oxysporumf.sp.radicislycopercici*. Ces derniers permettent de causer des taux d'inhibition jusqu'à 72% pour l'usage de l'HE, 47% sous le traitement de l'hydrolat puis 38% en utilisant l'extrait aqueux. Durant cette expérience, nous avons testé l'activité biologique par technique de confrontation directe.

Plusieurs études ont été menées pour comprendre les mécanismes d'action de plantes, dont plusieurs attribuent cette fonction aux composants phénoliques (Bastien, 2008). D'après Lahlou (2004) l'activité d'une HE est en relation directe avec sa composition chimique. Ainsi, une HE non diluée agit moins que son constituant principal. La relation entre la composition et l'activité suggère que cette activité peut être due aux composants majeurs (alcools, phénols, terpènes, ou composés cétoniques) et aux composants mineurs. Il est possible que ces deux composants agissent ensemble en synergie. Egalement et d'après le même auteur certaines études ont montré que l'activité antimicrobienne des HE peut être supérieure à celle de leurs composés majoritaires testés séparément (alcoolique, phénolique, terpénique ou cétonique). Cette dominance d'activité des huiles essentielles sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des huiles essentielles.

Pibiri, 2005 et Satrani et al., 2001, rapportent que les propriétés antimicrobiennes des HE de plusieurs plantes aromatiques et médicinales ont été



attribuées à leur profil chimique et surtout aux alcools terpéniques.

Nos résultats corroborent avec ceux obtenus par ceux obtenus par (Benbrahim, Benhachlaf et Hameurlaine, 2016). Ils ont révélé un effet inhibiteur de la même huile essentielle sur *F.oxysporumf.sp.radicislycopercici*, en appliquant la méthode des puits . Ils ont noté chez le témoin 0% d'inhibition et en utilisant 25 µl d'H.E. ils noté 85,43 % d'inhibition et en utilisant la dose de 50 µl ils ont constaté une inhibition de 93,87%.Les mêmes auteurs ont utilisé la méthode de dilution en milieu solide avec 1000 µl d'H.E., ils ont observé une inhibition de 63,67%.

Au terme de ses travaux, **Hadizadeh (2009)** a mis en évidence une activité antifongique qui va jusqu'à 90,3 % contre le champignon *Fusarium oxysporum* en utilisant des extraits éthanoliques de *N. oleander* avec différentes concentrations.

Par ailleurs des travaux similaires réalisés (**Belaidi ,2014**) par des extraits aqueux de (*Datura stramonium* L et *Neriumoleander* L) sur *Fusariumoxysporum* ; ils ont prouvé que *N. oleander* a inhibé l'évolution de ce champignon jusqu'à 100% avec l'apport de 100 µl d'extrait aqueux au milieu de culture PDA. Le pouvoir antifongique d'huile essentielle du laurier rose pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique de (DUKE., 2009) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllene, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions. De même (CHU et KEMPER, 2001) signalent que le pouvoir antifongique d'une huile essentielle est lié aux: β-pinène, pcimène, 1,8 cinèole et α-pinène. L'activité antifongique d'huile essentielle, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle (Giordani et al., 2008). D'après (Celimene et al. 1999), parmi les composés des HE ayant un effet antifongique, les composés phénoliques jouent un rôle inhibiteur des enzymes des cellules fongiques contenant dans leur site actif le groupement SH.

Dans notre expérimentation l'extrait aqueux a eu un effet un effet limitant pour la prolifération du champignon. L'activité antifongique d'extrait aqueux peut être

expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'extrait. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cet extrait (Giordani *et al.*, 2008) . Abdeghani *et al.*, (2008) mettent aussi en relation l'activité antifongique des extraits avec les substances bioactives de la plante.

# **Conclusion générale**

#### CONCLUSION

Au cours de leurs processus évolutifs, les plantes, pour pallier aux bioagressions, se sont spécialisées dans la synthèse des métabolites secondaires. Certaines familles de végétaux métabolisent des alcaloïdes, souvent violemment toxiques, des acides ou des hétérosides ou encore des molécules aromatiques comme certains alcools: phénols, cétones, aldéhydes, et terpènes produits en permanence par des plantes aromatiques. Plusieurs de ces classes de molécules peuvent être présentes dans une même plante.

Notre travail a été mené dans le cadre d'évaluer l'activité antifongique de l'H.E. de la plante *Nerium oleander* et de l'hydrolat obtenu après extraction de cette huile, ainsi que l'extrait aqueux de la même plante vis-à-vis de l'agent pathogène de la fusariose racinaire de la tomate *Fusarium oxysporum*. Les résultats obtenus indiquent que les extraits obtenus de la plante *Nerium oleander* ont une activité antifongique évaluée assez importante par la méthode de confrontation directe.

Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production des antifongiques naturels. Il serait très intéressant de poursuivre cette étude afin de préciser la nature du ou des composé (s) responsable(s) de cette activité biologique. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autres espèces de plantes.

Pour les futures études nous proposerons de comparer l'effet de l'extrait de l'espèce étudiée de différentes régions (en Algérie) et d'utiliser les autres parties de la plante (tiges, racines, fleurs et fruits).

Les essais en milieu réel restent à effectuer pour évaluer l'efficacité pratique de cette plante. Nos résultats montrent que le laurier rose qui est largement disponible peut constituer un outil alternatif prometteur pour la lutte biologique.

# Références bibliographique

**Abdelghani., Weaver., ZIDAN., Hussein., Keevil& Brown.,** 2008: Microwave-assisted synthesis and antimicrobial activities of flavonoid derivatives. *Bioorganic&MedicinalChemistryLetters* 18, 518-522.

**Abrassart J.L.** : Aromathérapie essentielle : huiles essentielles : parfums pour le corps et l'âme. Éditions Guy Trédaniel. (1997) 271 pages.

activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79:199 -203p.

**-Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (2003)** : The cardiotoxic effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated *African health sciences*. Vol. 3, pp. 77-82  
Agricultural research center.

**Agrios, G.N. 2005.** Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495. pp. 524-525, 539.

**Almahy et al., (2006)** :Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander*

**Al-yahya et al., (2000)**

**Aouinty et al., (2006)** Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles de ricin. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, vol. 10, n°. 2, pp. 67-71.  
au terrain. Ed. Quae, Paris, 552 p.

**B. Al-Safadi.** 2008. Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria. *Biologia*.63 (2): 177-182.

**B. Pant, S. Manandhar.** 2007. In-vitro propagation of carrot (*Daucus carota*). *Sci. World*.(5):51-53.

**Barbosa. R. R., Fontenele-neto. J. D., Soto-blanco. B. (2008)** :Toxicity in goats caused by oleander (*Nerium oleander*).*Research in Veterinary Science.*, vol. 85, issue 2, pp. 279-281

**Bastien F.** (2008). Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la réunion. Thèse de Doctorat en Médecine Vétérinaire. Université Paul-Sabatier, Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse. 78p

**BELAIDI A., 2014.** Évaluation du potentiel biocide des extraits foliaire aqueux de (*Datura*

**Bernard T., & Coll.** (1988). "Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie". *Information chimie*, 289.

**Bismuth, C., F.; Baud, F.; Conso, S.; Dally, J.P.; Rejaille, F.; Garnier, R.; Jaeger, A.** 2000. *Toxicologie clinique*. 5th ed. Medecine-Sciences Flammarion, Paris. 1092 pp.

**Blancard D.** 2009. Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition: Quæ.

**Booth C.,** 1971. The genus *Fusarium*. Common wealth Mycological Institutue. Kew. Surrey,

**Boudou-Sebastian, C.** 2003. Baies et plantes toxiques. *Le moniteur des pharmaciens et des laboratoires*, cahier II du numéro 2490.

**Bourgeois. B., Incagnoli. P., Hanna. J., Tirard. V. (2005)** : Traitement par anticorps antidigitalique d'une Intoxication volontaire par laurier rose. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.*, vol. **24**, pp. 640-642.

*Brazilian Journal of Medical and Biological Research.*, vol. **31**, pp. 951-954.

**Bruneton J (2001)-** Plantes toxiques :-végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2ème édition, pp.129-136.

**Bruneton J.,** (1999). Pharmacognosy: Phytochemistry, Medicinal Plants (éd. 2nd Edition). London:

**CELIMENE C.C., MICALES J.A., FERGE L., YOUNG R.A., 1999.** Efficacy of

**Champion R.** (1997). Identifier les champignons transmis par les semences : Techniques et pratiques. Ed.

**CHU J., KEMPER K. J., 2001.** Lavender (Lavan du lassung) Long wood Herbal task.Force,

**Clark R. J., & Menary, R. C.** (1984). The effect of two harvests per year on the yield and *colocynthis* and *Nerium oleander* in rats.

composition of *Tasmanian peppermint* oil (*Mentha piperita* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35, pp. 1191–1195. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles.

Construit,EPFL(Suisse).

**Correll et al., 1986.** Identification of *Fusarium oxysporum* *Current Organic Chemistry.*, vol. **4**, pp. 973-1010.

**Delille L (2007)-** Les plantes médicinales d'Algérie, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.

**Derwich E, Benziane Z, Boukir A (2010).** Chemical Composition of Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea* and Evaluation of its Antimicrobial Activity. *Inter. J. Agri. Biol.*

12(2): 199-204.

d'hydrodistillation. *Bulletin de la Société Chimique Française*, 5, pp. 921-930.

**Di Pietro, A., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., Roncero, M.I.G. (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus *Molecular Plant Pathology*, 4: 315-325.

Diffusion crucienne, 365.

**DUKE A.J., 2009.** Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars- Ngri, Belsville

**Dupont, R. (2000).** *Propriétés physiques et psychiques des huiles essentielles.* France: Editions

**El Abed et Kambouche,2003.**

**El Mahjoub M., Bouzaidi A., Juhri A., Hamrouni A., El Beji, 1979.** Influence de la england., 237P.

essentiels de satureja calamintha et satureja calamintha alpina du maroc.

**Eun Jeong. S. (2001)** Effects of the sap of the common oleander *Nerium indicum* (Apocyanaceae) on male fertility and spermatogenesis in the oriental tobacco budworm *Helicoverpa assulta* . *The Journal of Experimental Biology.*, vol. **204**, pp. 3935-3942.

f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. *Phytopathology*

*Fitoterapia.*, vol. **71**, 385-391.

**Florence MAYER.2012** AFNOR

*Florida state horticultural society*, p.426.

**Fravel D., Olivain C. and Alabouvette C. (2002).** *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*,

**Gausсен et al.,(1982)** *Précis de botanique* : 2. Végétaux supérieures, 2ème édition, pp.393-395.

Gembloux (Eds.), Brussels, Belgium, 149-167

**Giordani R., HADEF Y., KALOUSTIAN J. 2008.** Compositions and antifungal guinea pig hearts.

**Hadizadeh I.,Peivastegan B.,&Kolahi M.,2009.** AntifungalActivity of NettleUrticadioica L.,ColocynthCitrulluscolocynthisL.Schrad,OleanderNeriumoleanderL.andKonarZiziphu



s spina-christi L. Extracts on Plants Pathogenic Fungi., Pakistan Journal of Biological Sciences., 12:58-63

**Hanson J R (1985)** -The chemistry of natural products, (R. H. Thomson ed.), chapter 4. Blackie USA:

**Henni, JE.** 1998. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. p.171.

**Hostettman. Et al., (2000)**

<http://www.afnor.org/liste-des-actualités>

**Huq M M, Jabbar A, Rashid M A, Hasan C M (1999)** -A novel antibacterial and cardiac steroid from the roots of *Nerium oleander*. *Fitoterapia.*, vol. **70**, pp. 5-9.

**Hussain M A et Gorski MS (2004)**- Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn. Asian Journal of Plant Sciences 3. Vol 2, P 177-180.

**Ibrahim et al., (2007)**- Stimulation of oleander in production by combined *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and fungal elicitation in *Nerium oleander* cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology.*, vol. 41. pp. 331-336  
Intercept, 1119 pp.

*International Journal of Molecular Medicine.*, vol. **14**, pp. 917-924.

*International journal of tropical medicine.*, vol. **1**, n°. 2, pp. 58-61.

Isolation and structure of two cardiac glycosides from the leaves of *Nerium oleander*. *Phytochemistry.*, vol. **26**, pp. 237-241.

**Jarvis, W.R., Shoemaker, R.A., 1978.** Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology* 68, 1679-1680

**Jean-Michel L., Valérie H. :** Les huiles essentielles: principes d'utilisation. Kinesither Rev. (2007) 61:18-23.

**Judd W S et al. (2002)**-dans Botanique systématique. P366

**K. Schnaubelt.** 2005. Essential oil therapy according to traditional Chinese medical concepts. *Int. J. Aromather.* (15): 98-105.

**Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012).** La connaissance des huiles essentielles. Qualitologie et aromathérapie: entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Collection Phytothérapie pratique, Springer-Verlag, Paris,

France.

Kanerin and 12, 13-dihydrourosolic acid, two new pentacyclic triterpenes from the leaves of *Nerium oleander*. *Journal of Natural Products.*, vol. **52**, pp. 57-62.

**Lahlou, M. (2004)**. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448

**Lepoivre P., (2003)**. *Phytopathologie: bases moléculaires de biologiques des*

**Leslie, J.F. and Summerell, B.A. (2006)** *The Fusarium laboratory manual.*

Li, R.-Y., Wu, X.-M., Yin, X.-H., Long, Y.-H., and Li, M. (2015) Naturally produced citral can significantly inhibit

**Menzies, J.G., and Jarvis, W.R. 1994.** The infestation of tomato seed by *Fusarium oxysporum f. sp. radialis-lycopersici*. *Plant Pathol.* 43:378-386.

MERBAH OUARGLA.

**Messiaen C-M., Blancard D., Rouxel F., Lafon R. (1991)**. Les maladies des plantes maraîchères : Du labo

**Michielse, C.B., Rep, M. (2009)**. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*.

**MIGUEL G, SIMÕES M, FIGUEIREDO AC ET AL. 2004.** Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititus*, *Thymus camphoratus*, and *Thymus mastichina*. *Food Chem* 86: P183 –8.

*Molecular Plant Pathology*, 10 (3): 311-324.

**Morin, L., Guenther, C., Peyron, L., & Richard, H. (1985)**. Etude des intervenants lors du procédé

**Moulsma M., Lacassie E., Boudre I., Gaulier J M., Delafosse B., Lardet G. 2000.** A propos d'un cas d'intoxication volontaire au Laurier rose (*Nerium oleander L.* y *Apocynaceae*). *Annales de Toxicologie Analytique*, vol. XII, n° 2. P122.

moyen d'huile essentielle : thèse de doctorat : Faculté environnement Naturel, Architectural et

*Nerium oleander L.*; analytical method using voltammetry; assessment of air quality in the

normal physiology and induce cytotoxicity on *Magnaporthe grisea*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 118: 19–25.

**Orecchio S., & Amorello D., 2009.** Platinum and rhodium associated with the leaves of Palermo (Italy) area. *Journal of Hazardous Materials.*, **174**:720-727.

**Panizi L., Flamini G., Cioni P. L., & Morelli I. (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 39, pp. 167–170..

par Ait benamara Yasmina ( R.BALZ) Les huiles essentielles et comment les utiliser  
imprimerie du Cristois 1986.

Paris. 691p.

**Paris. R.R et Moyse. H. (1971)** *Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones* (tome III), pp.32-52

pathsystemes et fondement des stratégies de lutte. De Boeck & Presses  
Agronomiques de

**Pauwels, L. (1979)** *Revue de recherche scientifique*, spécial : médecine traditionnelle au Zaïre, volume unique, pp. 185-188. Institut de recherche scientifique.

**PEYRON L., 2002** : Production of bitter orange neroli and petitgrain oils. *Cité In* Dugo G. And Di Giacomo A., 2002 : Citrus, the Genus Citrus. Edition Taylor and Francis. 642 p.

**PIBIRI P., 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et de système de ventilation ou

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

pinosylvins against white rot and brown rots fungi. *Holz forschung*, 53: 491-497p.

**Ploetz R C. 2001.** Diseases of tropical crops caused by *Fusarium* spp. P. 295-309. *In: Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. Summerell BA, Leslie JF, Blackhouse D, Bryden WL. eds. The American Phytopathological Society, St Paul, MN.

**Popnoe. J. (1975)** Oleander cultivars at the Fairchild tropical garden.

Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *Citrullus*

Quae, Paris, 398 p.

salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au *Macrophomina phaseoli*

**SATRANI B.AL., 2001.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles secondary metabolites. In : *Fusarium*. (Eds. Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden

**Seifert, K.A. (2001).** *Fusarium* anamorphic generic concepts. In: *Fusarium*. (Eds.

**Shan Yu et al., (2004)** Characterization of polysaccharides from the flowers of

*Nerium indicum* and their neuroprotective effects.

**Shriff. N. (2006)** Antimicrobial activity of *Rauvolfia tetraphylla* and *Physalis minima* leaf and callus extracts. *Africa journal of biotechnology.*, vol. **5**, n°. 10, pp. 946-950.

**Shumaik, G.M.; Wu, A.W.; Ping, A.C.** 1988. Oleander poisoning: treatment with digoxin-specific Fab antibody fragments. *Annals of Emergency Medicine*, 17 (7): 732-735.

**Siddiqui. S., Begum. S., Siddiqui. B. S., Hafeez. F. (1989)**

**Siddiqui. S., Hafeez. F., Begum. S., Siddiqui. B. S. (1987)**

**Singh. S et Singh. D.K. (1998)** Molluscicidal activity of *Nerium indicum* bark.

**Soundararajan T., & Karrunakaran C.M., 2010.** Micropropagation of *Nerium Oleander* stramonium L. et *Nerium oleander* L.), Mémoire Master Académique, Université KASDI

**Stursa J., 2001.** Arbres et Arbustes à feuilles persistantes. Grand Paris. P118-203  
Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden W.L., Burgess L.W), APS Press St. Paul,

The potential of Africa plants as a source of drugs.

**Thrane, U. (2001)** Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on through the immature Pods. *Journal of Agricultural Science.*, **2**:181-193.

**Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science*, 79(7), R1231-R1249.

USA.

v. 157, pp. 493-502.

W.L., Burgess L.W.), APS Press St. Paul, USA.

**Valnet J. :** Aromathérapie : traitement des maladies par les essences de plantes. Éditions Maloine. 545 pages, (1984). 32p. 76: 396-400.

**Valnet J. :** Aromathérapie : traitement des maladies par les essences de plantes. Éditions Maloine. 545 pages, (1984). 32p. 76: 396-400.

**Waller J., Koenig H., Chambet M., Kremer M.:** Limites du test de filamentation en sérum pour l'identification de *Candida albicans*. *J. Mycol. Med.* (1991) 1 : 144-5.

**Werner M. :** Les huiles essentielles : réveil du corps et de l'esprit. Éditions Vigot, collection Santé Bien-être, 95 pages, (2002).

**Yamauchi. T. et col (1983)** Quantitative variations in the cardiac glycosides of

oleander. *Phytochemistry*, vol. **22**, pp. 2211-2214.

# **ANNEXE**

## Annexe n° 1

### Préparation de PDA :



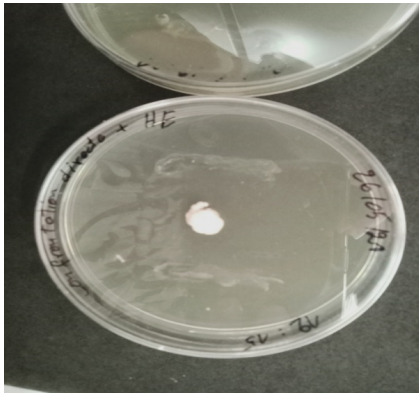
Bicher porte de PDA



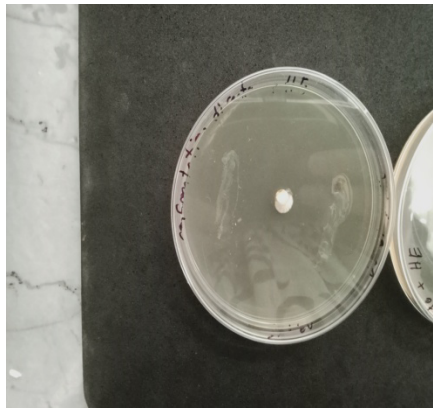
Solution dans l'agitateur Flacons porte le milieu PDA  
jusqu'à l'homogénéité



Flacons porte le milieu PDA

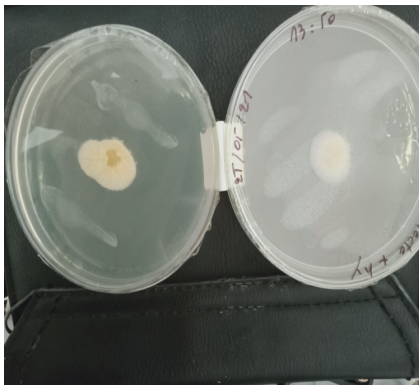


Après trois jours



Après une

confentation directe de l'huile essentielle



Après trois



Après une semaine

Confrontation directe de l'hydrolat



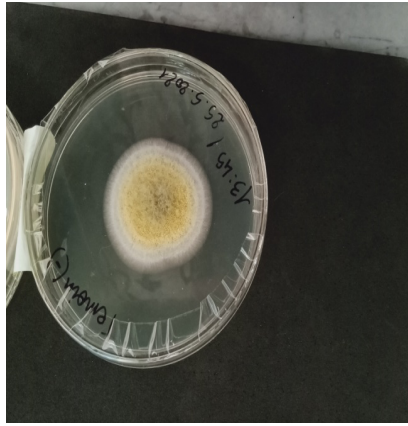
Après trois jours



Après une semaine

Confrontation directe de l'extrait aqueux





Confrontation direct témoin