

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre

Département: Sciences Agronomiques

Spécialité: Gestion qualitative des productions agricoles

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

**Contribution à l'étude de l'activité fongicide des huiles essentielles des lamiacées (*Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*) sur *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise du fraisier**

Soutenu le : juin 2016

Présenté par :

M<sup>elle</sup> NOUIRI Fatiha

M<sup>elle</sup> TOUAHRI Hayat

Devant le jury composé de :

**Président :** Mr kelkouli M. MAA UDBKM

**Promotrice:** M<sup>me</sup> Mohamed Bouziane R. MAA UDBKM

**Examinatrice:** M<sup>elle</sup> Djebroune A. MAB UDBKM

Année universitaire : 2015/2016

دراسة النشاط الفطري باستعمال الزيوت الأساسية للعائلة الشفوية (الزعر البري. النعناع الأخضر) ضد فطر بوتريتيس سينيريا المتسبب في التعفن الرمادي للفراولة.

### ملخص

يركز عملنا على دراسة النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنبات الزعر البري و النعناع الأخضر ضد السلالة الفطرية المتسببة في التعفن الرمادي للفراولة. تم استخلاص هذه الزيوت من الجزء الهوائي للنباتات عن طريق تقنية التقطير بالبخار .

تم اختبار الزيتين بتركيز مختلفة (0.01%، 0.03%، 0.05%) و تم تقدير فعالية كل تركيز من خلال قياس معدل النمو الفطري الذي تجاوز 50% بتطبيق تركيز 0.026 % من زيت النعناع الأخضر و 0.031 % من زيت الزعر البري . فعالية زيت النعناع جيدة وذات تأثير مضاد للتطور الفطري وفقا لقياس النمو الفطري الذي يتراوح ما بين 19.3م و 38.3م مقارنة مع نبتة الزعر البري الذي يتراوح ما بين 27.6م و 58.3م. بدلالة الزمن (144سا) و الجرعة (D1, D2, D3).

### الكلمات الدالة :

الزيوت الأساسية, العائلة الشفوية , نشاط ضد الفطر .

## Contribution à l'étude de l'activité fongicide des huiles essentielles des lamiacées (*Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*) sur *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise du fraisier

### Résumé :

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles des plantes lamiacées de *Thymus vulgaris* L et *Mentha spicata* L sur souche fongique de la pourriture grise des fraises (*Botrytis cinerea*) . L'extraction des huiles essentielles de la partie arienne de *Thymus vulgaris* L et *Mentha spicata* L, a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation. L'efficacité de chaque huile essentielle pour différentes concentration (0.01%, 0.03%, 0.05%), est estimée par la détermination du taux d'inhibition de la croissance de champignon testé dépasse 50% par l'application d'une concentration des huiles de 0,026% pour *Mentha Spicata* et de 0,031% pour *Thymus vulgaris*. En effet, l'huile essentielle de *Mentha Spicata* manifeste un bon effet antifongique par rapport *Thymus vulgaris* selon la croissance mycélienne varie entre 19.3 et 38.3 pour la menthe et entre 27.6 et 58.3mm pour le thym en fonction de temps (144h) et la dose d'huile (D1, D2 et D3).

**Mots clés :** huiles essentielles, *Lamiaceae*, Activité antifongique.

## Contribution to the study of fungicidal activity of essential oils from Lamiaceae plants (*Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*) on *botrytis cinerea* agent of gray rot of strawberry

### Abstract :

Our work focuses on the study of the antifungal activity of essential from oils Lamiaceae plants *thymus vulgaris* L and *Mentha spicata* L, was realized by the hydrodistilation methods. The effectiveness of each essential oil for different concentrations (0.01%, 0.03%, 0.05%), for the determination of inhibition rates of tested fungus growth exceeds 50% by applying a concentration of oils 0,026% for *Mentha Spicata* and 0,031% for *Thymus vulgaris*. Indeed, the essential oils of *mentha spicata* manifest a good antifungal effects compared *Thymus vulgaris* according to the mycelial growth varies between 19.3 and 38.3 for *Mentha spicata* and between 27.6 and 58.3 mm for *thymus vulgaris* depending on time (144h) and the dose (D1 , D2 and D3).

**Key words:** essential oils, *Lamiaceae*, antifungal activities.

# *Remerciements*

*Avant tout, on remercie « Dieu », le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.*

*Nous présentons nos vifs remerciements à notre promotrice MM<sup>mmmm</sup>Mohamed Bouziane R., qui nous a honoré par son encadrement, et de sa précieuse aide pour l'achèvement de ce mémoire.*

*On remercie vivement les membres du jury de bien vouloir accepter d'examiner ce modeste travail :*

- Mr kerkouli M. de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury*
- M<sup>elle</sup> Djebroune A. d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous remercions toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin.*

*Fatiha et Hayat ...*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes chers parents, Djelloul et Yamina*

*Mes chers frères Mohamed et Aziz*

*Mes sœurs Houria, Salima, Fouziya, Souad, Nadhira*

*et leurs maris Abd-elkarim, Abd-elkader, Abd-elrahman et Mostafa*

*Tout mes nièces et neveux : Fadl-eddin, Abd-elnasser, Inass, Rajaa, Amina, Abd-elghafor,  
Abd-eldjalil, Allaa*

*Mes chères amies : Fatima, Siham, Houda et Khayra,*

*Toute la promotion de Master II 2016*

*Toute la famille Touahri et Fettouch*

*Toutes mes collègues*

*Toutes mes amies*

*J'adresse à tous un grand merci pour tout*

*Hayat ...*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes chers parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.*

*À Mon Cher frère Fateh merci de m'avoir encouragé.*

*À mes chères sœurs : Houria, Aicha, Maseouda et Fatima.*

*À leurs enfants : Abd-elrahmane, Ridwane, Sirage -eddin, Rima, Sirine et Abd-elkarime.*

*À ma grande mère maternelle qui reste toujours gravée à ma mémoire.*

*À mes deux chères amies : Fatiha et Maseouda, merci pour votre patience et de m'avoir tenu la main jusqu'à la dernière ligne de ce mémoire.*

*À mes très chères familles : Nouiri et Laboub.*

*À tous mes amis et camarades.*

*À toute la promotion de deuxième années Master : Gestion qualitative de production agricole (2015/2016).*

*À tous ceux qui m'ont tant encouragé et aidé avec leur présence et leur sourire.*

*Fatiha...*

## Liste des figures

Désignation	Page
<b>Figure 01 : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de la Plante</b>	<b>06</b>
<b>Figure 02 : Différents types de cellules sécrétrices chez la sauge officinale</b>	<b>07</b>
<b>Figure 03 : Poils glandulaires dans l'épiderme de primevère de chine (<i>Primula sinensis</i> L)</b>	<b>07</b>
<b>Figure 04 : Poche sécrétrices dans le fruit du <i>Citrus limon</i>. Coupe transversale ×25</b>	<b>07</b>
<b>Figure 05 : Canal résinifère d'origine schizogène dans l'aiguille de pin Coupe transversale × 400</b>	<b>05</b>
<b>Figure 06 : Structure d'isoprène</b>	<b>09</b>
<b>Figure 07 : Voie de biosynthèse des huiles essentielles via les phénylpropanoïdes</b>	<b>11</b>
<b>Figure 08 : Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante</b>	<b>15</b>
<b>Figure 09 : Montage de Schilcher pour hydrodistillation</b>	<b>15</b>
<b>Figure 10 : Appareillage d'expression à froid des huiles essentielles</b>	<b>15</b>
<b>Figure 11 : Extraction assistée par micro-onde</b>	<b>16</b>
<b>Figure12 : Principe d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique</b>	<b>16</b>
<b>Figure 13 : Plante de <i>Thymus vulgaris</i></b>	<b>23</b>
<b>Figure 14 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L</b>	<b>23</b>
<b>Figure 15 : Distribution du genre <i>Thymus</i> dans le monde</b>	<b>24</b>
<b>Figure16: Plante de <i>Mentha spicata</i></b>	<b>28</b>
<b>Figure17: Aspects morphologiques de <i>Mentha spicata</i></b>	<b>28</b>
<b>Figure 18 : Aire de répartition de la menthe verte dans le monde</b>	<b>29</b>
<b>Figure 19 : Plant de fraises Aquarelle d'un plant de fraises</b>	<b>35</b>

<b>Figure 20 : Coupe schématique du cœur d'un fraisier</b>	<b>35</b>
<b>Figure 21 : Répartition de la production des fraise en Europe</b>	<b>36</b>
<b>Figure 22 : Stades phenologique des fraises</b>	<b>38</b>
<b>Figure 23 : Symptômes causés par <i>Botrytis cinerea</i> sur différentes plantes hôtes</b>	<b>40</b>
<b>Figure 24 : Conidies de <i>Botrytis cinerea</i> produites sur boite de pétri 14 jours de culture sur un milieu PDA à 21C°</b>	<b>42</b>
<b>Figure 25 : Conidies sur un conidiophore</b>	<b>43</b>
<b>Figure 26 : Conidiophore ramifié avec conidies à un stade de développement Homogène</b>	<b>43</b>
<b>Figure 27 : Cycle biologique de <i>Botrytis cinerea</i></b>	<b>44</b>
<b>Figure 28: <i>Thymus vulgaris</i> L</b>	<b>46</b>
<b>Figure 29: <i>Mentha spicata</i> L</b>	<b>46</b>
<b>Figure 30: Fraises infectées par <i>Botrytis cinerea</i></b>	<b>47</b>
<b>Figure 31 : Fraise saine</b>	<b>47</b>
<b>Figure 32: Outils et appareils utilisés dans notre étude</b>	<b>48</b>
<b>Figure 33 : Localisation des régions de la récolte des lamiacées étudiées</b>	<b>49</b>
<b>Figure 34 : Séchage des plantes de thym</b>	<b>50</b>
<b>Figure 35 : Echantillons de thym secs</b>	<b>50</b>
<b>Figure 36 : Echantillons de la menthe secs</b>	<b>51</b>
<b>Figure 37 : Hydrodistillateur de type Clevenger</b>	<b>52</b>
<b>Figure 38 : Ependorffs couverts par un papier aluminium a: <i>Thymus vulgaris</i> ; b: <i>Mentha spicata</i></b>	<b>52</b>
<b>Figure 39 : Préparation des différentes concentrations pour le test fongicide</b>	<b>54</b>
<b>Figure 40 : Dépôt des disques mycéliens</b>	<b>55</b>
<b>Figure 41 : Répétitions avec témoin</b>	<b>55</b>

<b>Figure 42 : Protocole expérimentale de l'essai antifongique</b>	<b>56</b>
<b>Figure 43 : Principe de la méthode de la diffusion par puits</b>	<b>57</b>
<b>Figure 44: Huile essentielle du thym</b>	<b>61</b>
<b>Figure 45: Huile essentielle de la menthe verte</b>	<b>61</b>
<b>Figure 46 : Symptômes de pourriture grise sur feuilles et fruits du fraisier</b>	<b>62</b>
<b>Figure 47 : Croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> sur milieu PDA</b>	<b>63</b>
<b>Figure 48 : Mycélium de <i>Botrytis cinerea</i></b>	<b>63</b>
<b>Figure 49 : Observation microscopique de <i>Botrytis cinerea</i> (G10 x 40)</b>	<b>64</b>
<b>Figure 50: Différentes parties de <i>Botrytis cinerea</i> observé sous microscope optique (G x 100)</b>	<b>64</b>
<b>Figure 51 : Croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> après 72h, 96h, 120h et 144 h d'application des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> L</b>	<b>67</b>
<b>Figure 52 : Croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> après 72h, 96h, 120h et 144h d'application des huiles essentielles de <i>Mentha Spicata</i> L</b>	<b>67</b>
<b>Figure 53 : Aspect microscopique de <i>Botrytis cinerea</i> avant (0%) et après le traitement par les doses 0,01%, 0,03% et 0,05% de l'huile essentielle du <i>Thymus vulgaris</i> L</b>	<b>69</b>
<b>Figure 54 : Aspect microscopique de <i>Botrytis cinerea</i> avant (témoin) et après le traitement par les doses 0,01%, 0,03% et 0,05% de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> L</b>	<b>69</b>
<b>Figure 55: Effet inhibiteur de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur <i>B. cinerea</i> après 7 jours d'incubation</b>	<b>71</b>
<b>Figure 56: Effet inhibiteur de l'huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> sur <i>B. cinerea</i> après 7 jours d'incubation</b>	<b>71</b>
<b>Figure 57: Indice antifongique des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> après incubation de 7 jours</b>	<b>74</b>
<b>Figure 58: Indice antifongique des huiles essentielles de <i>Mentha spicata</i> après incubation de 7 jours</b>	<b>74</b>
<b>Figure 59 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> sous l'effet des différentes concentrations des huiles essentielles du <i>Thymus vulgaris</i> (VT) et de <i>Mentha spicata</i> (VM)</b>	<b>77</b>



## Liste des tableaux

Désignation	Page
<b>Tableau 01: Les techniques d'extraction des huiles essentielles</b>	<b>13</b>
<b>Tableau 02 : Localisation des principales espèces du thym en Algérie</b>	<b>25</b>
<b>Tableau 03 : Localisation des principales espèces de la menthe en Algérie</b>	<b>30</b>
<b>Tableau 04 : Propriétés organoleptiques des HE de <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Mentha spicata</i></b>	<b>60</b>
<b>Tableau 05 : Propriétés organoleptiques des HE de <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Mentha spicata</i> selon les normes AFNOR</b>	<b>61</b>
<b>Tableau 06 : Croissance mycélienne (en mm) de <i>Botrytis cinerea</i> en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du <i>Thymus vulgaris</i> L</b>	<b>65</b>
<b>Tableau 07: Croissance mycélienne (en mm) de <i>Botrytis cinerea</i> en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle de <i>Mentha spicata</i> L</b>	<b>65</b>
<b>Tableau 08 : Degré de sensibilité de <i>B. cinerea</i> vis-à-vis des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i> et de <i>M. spicata</i></b>	<b>70</b>
<b>Tableau 09 : Indice antifongique des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> et de <i>Mentha spicata</i> sur la souche fongique étudiée (<i>Botrytis cinerea</i>) à travers l'analyse de la variance</b>	<b>72</b>
<b>Tableau 10 : Indice antifongique des huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i></b>	<b>73</b>
<b>Tableau 11 : Indice antifongique des huiles essentielles de <i>M. spicata</i></b>	<b>73</b>
<b>Tableau 12 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> vis-à-vis des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> et de <i>Mentha spicata</i> à travers l'analyse de la variance</b>	<b>75</b>
<b>Tableau 13 : Vitesse de croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> traité par les huiles essentielles de <i>T. vulgaris</i></b>	<b>76</b>
<b>Tableau 14 : Vitesse de croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i> traité par les huiles essentielles de <i>M. spicata</i></b>	<b>76</b>
<b>Tableau 15 : Efficacité des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> et de <i>Mentha spicata</i> sur la souche fongique étudiée (<i>Botrytis cinerea</i>) à travers l'analyse de la variance</b>	<b>78</b>
<b>Tableau 16 : Groupes homogènes du Facteur 1(Plante)</b>	<b>79</b>
<b>Tableau 17 : Groupes homogènes du Facteur 2 (Dose)</b>	<b>79</b>
<b>Tableau 18 : Groupes homogènes de l'interaction entre les deux facteurs 1 et 2</b>	<b>80</b>

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association française de normalisation  
**ANDI** : Agence Nationale de Développement de l'Investissement  
**ANOVA** : Analyse de variance  
**ATCC**: American tube control collection  
***B. cinerea***: *Botrytis cinerea*  
**C.V** : Coefficient de la variance  
**Ddl**: Degré de liberté  
**DSA** :Direction des Services Agricoles  
**FAO** : Foods and Agriculture Organization  
**HE** : Huile essentielle  
**IA** : Indice antifongiques  
**Inter** : Interaction  
**IPP** : Isopentenyl Pyrophosphate  
**ITCMIA**: Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles Alger  
***M. spicata***: *Mentha spicata*  
**P** : Probabilité  
**PAM** : Plantes aromatiques et médicinales  
**PDA** : Potato-Dextrose-Agar  
**pH** : Potential hydrogen  
**PI** : Pourcentage d'inhibition  
**S.C.E** : : Somme des carrées et des écarts  
***T. vulgaris***: *Thymus vulgaris*  
**Var** : Variance  
**VC** : Vitesse de croissance mycélienne  
**VM** : Vitesse de croissance mycélienne de *Mentha spicata*  
**VT** : Vitesse de croissance mycélienne du *Thymus vulgaris*  
**ZI** : Zone d'inhibition

## Sommaire

	<b>Page</b>
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles</b>	<b>03</b>
<b>I.1. Chronologie historique</b>	<b>04</b>
<b>I.2. Définition</b>	<b>04</b>
<b>I.3. Répartition et localisation</b>	<b>05</b>
<b>I.3.1. Répartition</b>	<b>05</b>
<b>I.3.2. Localisation</b>	<b>06</b>
<b>I.4. Propriétés physiques</b>	<b>08</b>
<b>I.5. Composition et propriétés chimiques</b>	<b>08</b>
<b>I.5.1. Terpènes ou hydrocarbures terpéniques</b>	<b>09</b>
<b>I.5.2. Composés phénoliques ou composés oxygénés</b>	<b>10</b>
<b>I.6. Biosynthèse</b>	<b>10</b>
<b>I.6.1. Voie des Terpénoïdes</b>	<b>10</b>
<b>I.6.2. Voie des Phénylpropanoïdes</b>	<b>11</b>
<b>I.7. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative</b>	<b>12</b>
<b>I.7.1. Facteurs intrinsèques</b>	<b>12</b>
<b>I.7.2. Facteurs extrinsèques</b>	<b>12</b>
<b>I.8. Techniques d'extraction</b>	<b>12</b>
<b>I.9. Domaines d'utilisation</b>	<b>16</b>
<b>I.9.1. Industrie alimentaire</b>	<b>17</b>
<b>I.9.2. Industrie des parfums et cosmétiques</b>	<b>17</b>
<b>I.9.3. Industrie pharmaceutique</b>	<b>17</b>
<b>I.9.4. Industrie chimique</b>	<b>17</b>
<b>I.10. Vertus biologiques</b>	<b>17</b>
<b>I.10.1. Activités antibactériennes</b>	<b>17</b>

<b>I.10.2. Activités antifongiques</b>	<b>18</b>
<b>I.10.3. Activités antivirales</b>	<b>18</b>
<b>I.10.4. Activités antiparasitaires</b>	<b>19</b>
<b>I.10.5. Activités insecticides</b>	<b>19</b>
<b>I.11. Activité antioxydant</b>	<b>19</b>
<b>I.12. Rôle dans la plante</b>	<b>20</b>
<b>Chapitre II : Présentation des plantes lamiacées étudiées</b>	<b>21</b>
<b>II.1. Généralités sur la famille des lamiacées</b>	<b>22</b>
<b>II.2. Présentation des plantes étudiées</b>	<b>22</b>
<b>II.2.1. Thym commun (<i>Thymus vulgaris</i>)</b>	<b>22</b>
<b>II.2.1.1. Systématique</b>	<b>22</b>
<b>II.2.1.2. Description botanique</b>	<b>23</b>
<b>II.2.1.3. Répartition géographique</b>	<b>24</b>
<b>II.2.1.4. Exigences pédoclimatiques</b>	<b>25</b>
<b>II.2.1.5. Huile essentielle et composition chimique</b>	<b>26</b>
<b>II.2.1.6. Propriétés et utilisation</b>	<b>26</b>
<b>II.2.2. Menthe verte « <i>Mentha spicata</i> »</b>	<b>27</b>
<b>II.2.2.1. Systématique</b>	<b>28</b>
<b>II.2.2.2. Description botanique</b>	<b>28</b>
<b>II.2.2.3. Répartition géographique</b>	<b>29</b>
<b>II.2.2.4. Exigences pédoclimatiques</b>	<b>30</b>
<b>II.2.2.5. Huile essentielle et composition chimique</b>	<b>31</b>
<b>II.2.2.6. Propriétés et utilisation</b>	<b>31</b>
<b>Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis</b>	<b>33</b>
<b>III.1. La culture du fraisier</b>	<b>33</b>
<b>III.1.1. Généralités</b>	<b>33</b>
<b>III.1.2. Historique</b>	<b>33</b>
<b>III.1.3. Classification botanique</b>	<b>34</b>
<b>III.1.4. Description botanique</b>	<b>34</b>
<b>III.1.5. Production et importance économique</b>	<b>35</b>
<b>III.1.6. Cycle de production</b>	<b>37</b>

<b>III.1.7. Maladies et ennemis</b>	<b>38</b>
<b>III.2. Le Botrytis ou pourriture grise</b>	<b>39</b>
<b>III.2.1. Importance économique</b>	<b>39</b>
<b>III.2.2. Symptômes et dégâts</b>	<b>39</b>
<b>III.2.3. Gamme d'hôte</b>	<b>41</b>
<b>III.2.4. Présentation du champignon <i>Botrytis cinerea</i></b>	<b>41</b>
<b>III.2.4.1. Position taxonomique</b>	<b>41</b>
<b>III.2.4.2. Description morphologique</b>	<b>42</b>
<b>III.2.4.3. Cycle biologique</b>	<b>43</b>
<b>Chapitre IV : Matériel et méthodes</b>	<b>46</b>
<b>IV.1. Matériel</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.1. Matériel végétal</b>	<b>46</b>
<b>IV.1.2. Matériel fongique</b>	<b>47</b>
<b>IV.1.3. Matériel du laboratoire</b>	<b>47</b>
<b>IV.2. Méthodes d'étude</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.1. Présentation des sites prospectés</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.2. Méthodes d'obtention des huiles essentielles</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.2.1. Récoltes des plantes</b>	<b>49</b>
<b>IV.2.2.2. Séchage et conservation</b>	<b>50</b>
<b>IV.2.2.3. Extraction des huiles essentielles</b>	<b>51</b>
<b>IV.2.2.4. Conservation des huiles essentielles</b>	<b>52</b>
<b>IV.2.3. Isolement, repiquage et identification</b>	<b>53</b>
<b>IV.2.3.1. Isolement et repiquage</b>	<b>53</b>
<b>IV.2.3.2. Identification</b>	<b>53</b>
<b>IV.2.4. Mise en évidence du potentiel antifongique des huiles essentielles</b>	<b>54</b>
<b>IV.2.4.1. Préparation des différentes concentrations</b>	<b>54</b>
<b>IV.2.4.2. Application des disques mycéliens</b>	<b>55</b>
<b>IV.2.4.3. Evaluation de la croissance mycélienne</b>	<b>57</b>
<b>IV.2.4.5. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)</b>	<b>58</b>
<b>IV.2.5. Analyse statistique</b>	<b>58</b>
<b>Chapitre V: Résultats et discussions</b>	<b>58</b>

<b>V.1. Caractéristique organoleptiques des huiles essentielles du <i>Thymus vulgaris</i> et <i>Mentha spicata</i></b>	<b>59</b>
<b>V.2. Identification de la souche fongique testée</b>	<b>60</b>
<b>V.2.1. Symptomatologie</b>	<b>62</b>
<b>V.2.2. Caractéristiques macroscopiques</b>	<b>62</b>
<b>V.2.3. Caractéristiques microscopiques</b>	<b>62</b>
<b>V.3. Pouvoir antifongique</b>	<b>63</b>
<b>V.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne</b>	<b>64</b>
<b>V.3.1.1. Calcul des diamètres des colonies mycéliennes</b>	<b>64</b>
<b>V.3.1.2. Observation microscopique des colonies mycéliennes</b>	<b>64</b>
<b>V.3.1.3. Degré de sensibilité de <i>Botrytis cinerea</i> aux différentes huiles essentielles Appliquées</b>	<b>68</b>
<b>V.3.1.4. Inhibition de la croissance mycélienne</b>	<b>70</b>
<b>V.3.2. Indice antifongiques (IA)</b>	<b>71</b>
<b>V.3.3. Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Botrytis cinerea</i></b>	<b>72</b>
<b>V.4. Etude statistique</b>	<b>75</b>
<b>V.4.1. Analyse de la variance</b>	<b>77</b>
<b>V.4.2. Groupes homogènes selon le test de NEWMAN-KEULS-seuil 5%</b>	<b>77</b>
<b>Conclusion</b>	<b>78</b>
<b>Référencebibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	

## Introduction générale

L'Algérie, avec sa grande superficie et la présence de fortes altitudes, abrite une flore médicinale et aromatique importante. Sur les 2 150 espèces inventoriées ; 350 d'entre-elles sont reconnues comme étant à vertus aromatiques et médicinales. Les espèces les plus exploitées (pour leur popularité, leur abondance et leur large utilisation en médecine traditionnelle et en aromathérapie) sont le romarin, le myrte, le pistachier, le lentisque, l'églantier, le genévrier de phoenicie, le caroubier, le thym, la globulaire et la menthe (**Le Floch, 1983**). Cependant, cette flore algérienne reste très peu utilisée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique (**Pistelli, 2001 ; Kirch, 1995**).

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles ont été employées pendant des milléniums pour fournir des saveurs caractéristiques pour les aliments et les boissons (**Baydar et al., 2004**). En plus de la saveur contribuée aux aliments, beaucoup de ces plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne et pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogènes, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire (**Sacchetti et al., 2005**).

La recherche de ces additifs naturels, particulièrement d'origine végétale, a notamment augmenté ces dernières années et cela pour faire face aux substances synthétiques qui ont été employées couramment. Ainsi, en raison du souci croissant des consommateurs aux denrées contenant de tels additifs chimiques, le développement des produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile (**Rožman et Jeršek, 2009**).

Les huiles essentielles sont connues pour posséder une activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants tels que les bactéries et les champignons (**Gachkar et al., 2007**). Parmi ces derniers *Botrytis cinerea*, un pathogène de la famille des *Sclerotiniaceae*, ubiquiste et polyphage, capable d'infecter plus de 200 espèces de plantes dicotylédones et monocotylédones, causant des pertes économiques importantes sur les cultures avant et après récolte (**Rosslenbroich et Stuebler, 2000 ; Gudelj et al., 2004 ; Hubert et al., 2005**). Ce champignon est responsable de la pourriture grise, une maladie cryptogamique qui sévit à n'importe quel stade du développement ainsi qu'en période de stockage sur plusieurs cultures d'intérêt agronomique

majeur comme la vigne, le tournesol, la tomate et surtout la fraise (ACTA, 1990 ; Walker, 2013). Il développe sur les organes qu'il parasite un duvet blanc qui vire très rapidement au gris brun clair lorsque les conidies sont formées (Hmouni et al, 1999 ; Hmouni, 2000).

Afin de lutter contre ce champignon d'une manière biologique nous nous sommes proposées de réaliser un travail qui consiste à évaluer l'activité fongicide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées à savoir *Thytmus vulgaris* et *Mentha spicata* et cela sur l'espèce *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise des fraises. De ce fait, cette approche a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Collecte des échantillons (parties aériennes) de *Thytmus vulgaris* et *Mentha spicata* de la commune de Bathia et Djamaa Ouled chikhe de AinDefla.
- Déshydratation des échantillonsprélevés
- Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation
- Détermination des caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur, aspect) des huiles essentiellesextraites
- Echantillonnage des fraises infectées présentant des symptômes typiques de la pourriture grise à partir d'une culture sous serre située àMouzaya
- Isolement, repiquage et identification du champignon présent sur les fraisesinfectées
- Evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles sur la souche *Botrytiscinerea*
- Mesure des diamètres de la croissancemycélienne
- Calcul de l'indice fongique(IA)
- Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)
- Analysestatistique



# **Chapitre I :**

## **Généralités sur les huiles essentielles**

#### I.1. Chronologie historique

Les huiles essentielles ont été dans la pratique, dans presque toutes les civilisations anciennes, connues à la race humaine (**Jessica, 2010**). Les Egyptiens, les Grecs, les Romains, les Perses, les Chinois et les Indiens étaient connus pour avoir pratiqué l'aromathérapie avec des huiles essentielles dans leurs médicaments pendant des siècles. Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3 000 avant J.C. (**Baser et Buchauer, 2010**).

Dès le XVIII<sup>ème</sup> siècle, Diderot et Alembert font référence dans leur Encyclopédie à l'obtention des huiles essentielles par distillation de différentes plantes. Le premier livre en aromathérapie et huiles essentielles, intitulé « L'art de l'aromathérapie » a été écrit par Robert Tisserand en 1977. Dès lors, l'aromathérapie et les huiles essentielles sont devenues populaires dans le monde entier (utilisées comme traitement alternatif) (**Jessica, 2010**).

#### I.2. Définition

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin Suisse Paracelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**). Cette définition a été reprise à peu de choses près par AFNOR (Association Française de Normalisation) : « L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000 ; 2010**).

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes, ...) (**Yahyaoui, 2005 ; Benayad, 2008**). Ces huiles sont synthétisées grâce à l'énergie solaire par les cellules sécrétrices et sont connues sous

## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

---

différents noms : essences végétales, essences aromatiques, huiles volatiles ou parfums (Belkou et *al*, 2005).

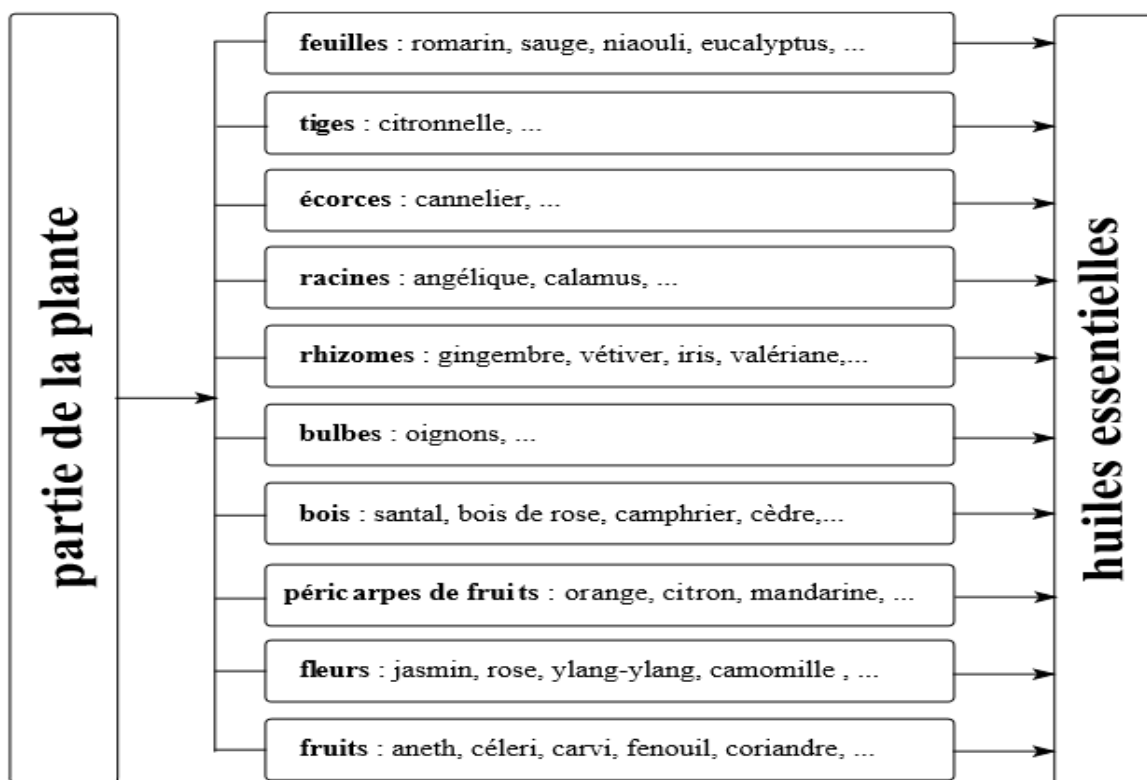
Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Bouamer et *al*, 2004 ; Anton et Lostein,2005).

### I.3. Répartition et localisation

#### I.3.1. Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs (17 500 espèces aromatiques). Plusieurs familles botaniques sont capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles : Myrtacées (girofle), Lauracées (laurier), Rutacées (citron), Lamiacées (menthe), Apiacées (coriandre), Zingibéracées (gingembre), ... (Benkada, 1990).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante (Fig. 01), par exemples : dans les sommités fleuries ou fleurs (menthe, orange, rose, lavande, girofle, ...), les feuilles (eucalyptus, laurier, menthe, thym, sauge, aiguilles de pin, sapin, ...), les organes souterrains (racines : vétiver, ..., rhizomes : gingembre, ...), les fruits (agrumes, badiane, anis, fenouil, ...), les graines (noix de muscade, coriandre, ...) et, bien que cela soit moins habituel, dans le bois et les écorces (cannelle, santal, bois de rose, ...) (Brunton, 1993 ; Yahyaoui, 2005 ; El kalamounni,2010).



**Figure 01** : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de la plante  
(El Kalamounni, 2010)

### I.3.2. Localisation

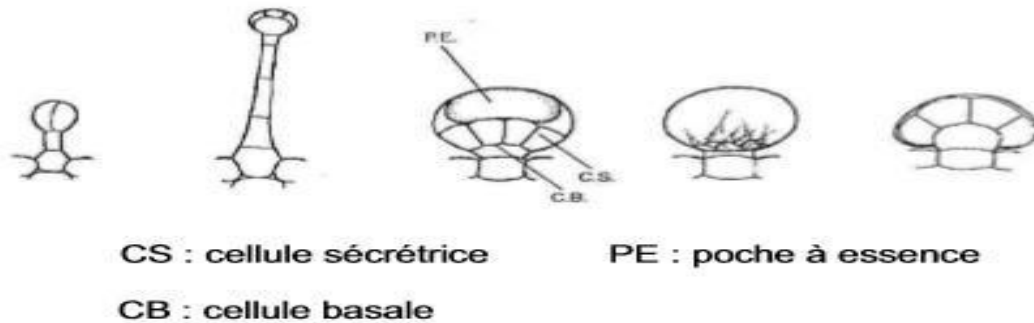
Les huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Bouamer *et al*, 2004).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisés, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles (*Lauraceae*) (Fig. 02), poils sécréteurs ou trichomes (*Laminaceae*) (Fig. 03), poches sécrétrices (*Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Laminaceae*) (Fig. 04) et les canaux sécréteurs (Fig. 05) qui existent dans de nombreuses familles.

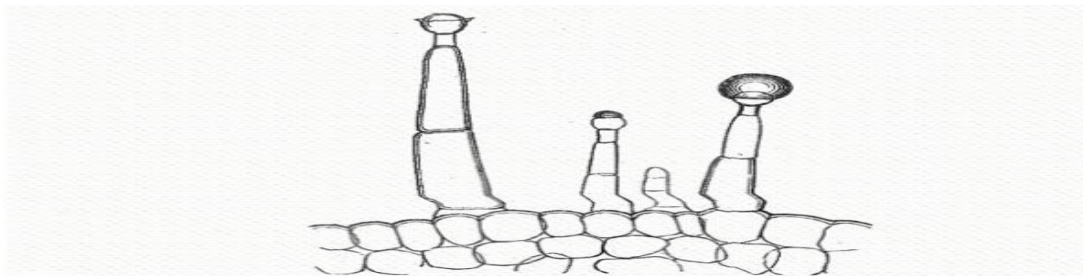
Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante

## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

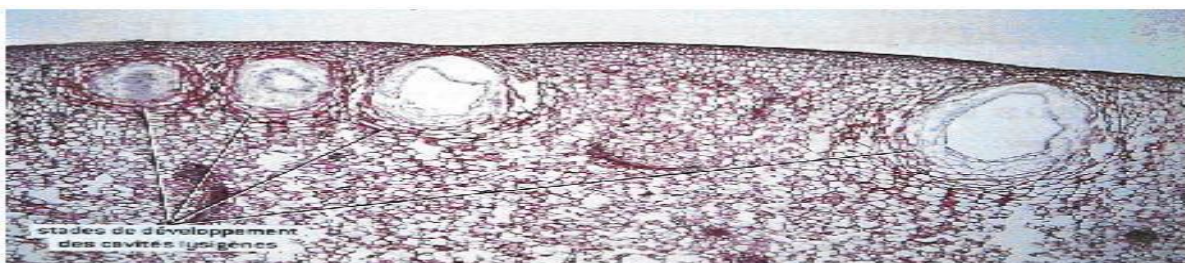
(Belkou *et al*, 2005). On les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Martini et Seiller, 1999).



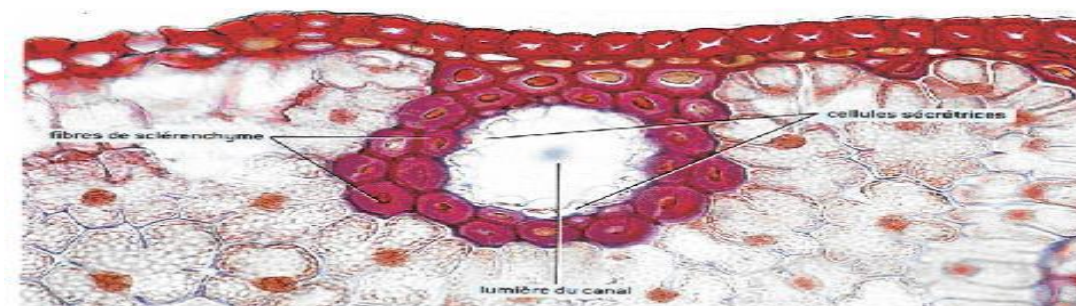
**Figure 02 :** Différents types de cellules sécrétrices chez la sauge officinale (Franchomme *et al.*, 2003)



**Figure 03 :** Poils glandulaires dans l'épiderme de primevère de chine (*Primula sinensis* L. (Speranza et Calzoni, 2004)



**Figure 04 :** Poches sécrétrices dans le fruit du citronnier (*Citrus limon*). Coupe transversale × 25 (Speranza et Calzoni, 2004)



**Figure 05** : Canal résinifère d'origine schizogène dans l'aiguille de pin. Coupe transversale  $\times 400$  (Speranza et Calzoni, 2004)

### I.4. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont des mélanges de substances de très faible masse moléculaire (Degryse et al., 2008), lipophiles, huileuses, volatiles, odorantes et liquides à température ambiante (Bruneton, 1993). Ces huiles sont sensibles à l'effet de la chaleur (très inflammables) (Yahyaoui, 2005 ; Benayad, 2008) et incolores ou jaunes pâles à l'état liquide et à température ordinaire. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (1). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévie la lumière polarisée (optiquement active) (Rhayour, 2002; Desmares et al., 2008).

Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol, ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000). Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Par contre, elles sont solubles dans les alcools, les huiles végétales et dans la plupart des solvants organiques usuels (Bruneton, 1999). Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Rhayour, 2002; Benini, 2007; Benayad, 2008 ; El kalamounni, 2010).

### I.5. Composition et propriétés chimiques

Les huiles essentielles, contenues dans les plantes à de très faibles concentrations, sont des mélanges complexes et variés, constitués de composés organiques de structures et de

fonctions chimiques très diverses. Généralement, ces composés sont classés en deux groupes : les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés (Maleckey, 2006).

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chémotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les cétones et les aldéhydes (Benayad, 2008). Ces extraits ne sont pas forcément huileux (ne contient ni d'acides gras, ni d'aucun autre corps gras) (Bernadet, 2000).

### I.5.1. Terpènes ou hydrocarbures terpéniques

Les composés de type terpénique sont largement rencontrés dans les huiles essentielles. Ce sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte, formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthyl buta-1,3-diène (molécule de base) ou appelé encore isoprène, de formule  $C_5H_8$  (Fig. 06). La formule brute de ses hydrocarbures terpéniques est  $(C_5H_x)_n$  dont le  $x$  est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc) (Maleckey, 2006).

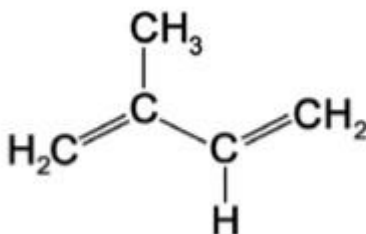


Figure 06 : Structure d'isoprène (Maleckey, 2006)

On distingue ainsi selon le nombre de carbone constituant les molécules de ce groupe (Maleckey, 2006) :

- Les terpènes simples ou monoterpènes : formés de deux isoprènes :  $C_{10}H_{16}$
- Les sesquiterpènes : formés de trois isoprènes :  $C_{15}H_{24}$
- Les diterpènes : formés de quatre isoprènes :  $C_{20}H_{32}$
- Les triterpènes : formés de six isoprènes qui, par oxydation, conduisent à de nombreuses résines.

## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

---

- Les tétraterpènes : formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes
- Les polyterpènes : à n isoprènes qui comprennent en particulier, le caoutchouc.

Les terpènes les plus rencontrés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatils c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée telles que les mono et les sesquiterpènes (Maleckey, 2006).

### I.5.2. Composés phénoliques ou composés oxygénés

Les composés phénoliques dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ) sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Souvent, ils sont des allyls, des propénylphénols et parfois des aldéhydes (Farhat, 2010).

Selon le mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer d'autres composés chimiques, le plus souvent de faible masse moléculaire tel que : les acides (de  $C_3$  à  $C_6$ ), les alcools, les cétones, les esters acycliques, les lactones et les coumarines (Farhat, 2010).

## I.6. Biosynthèse

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies : la voie des terpénoïdes et la voie des phénylpropanoïdes (Mann, 1987).

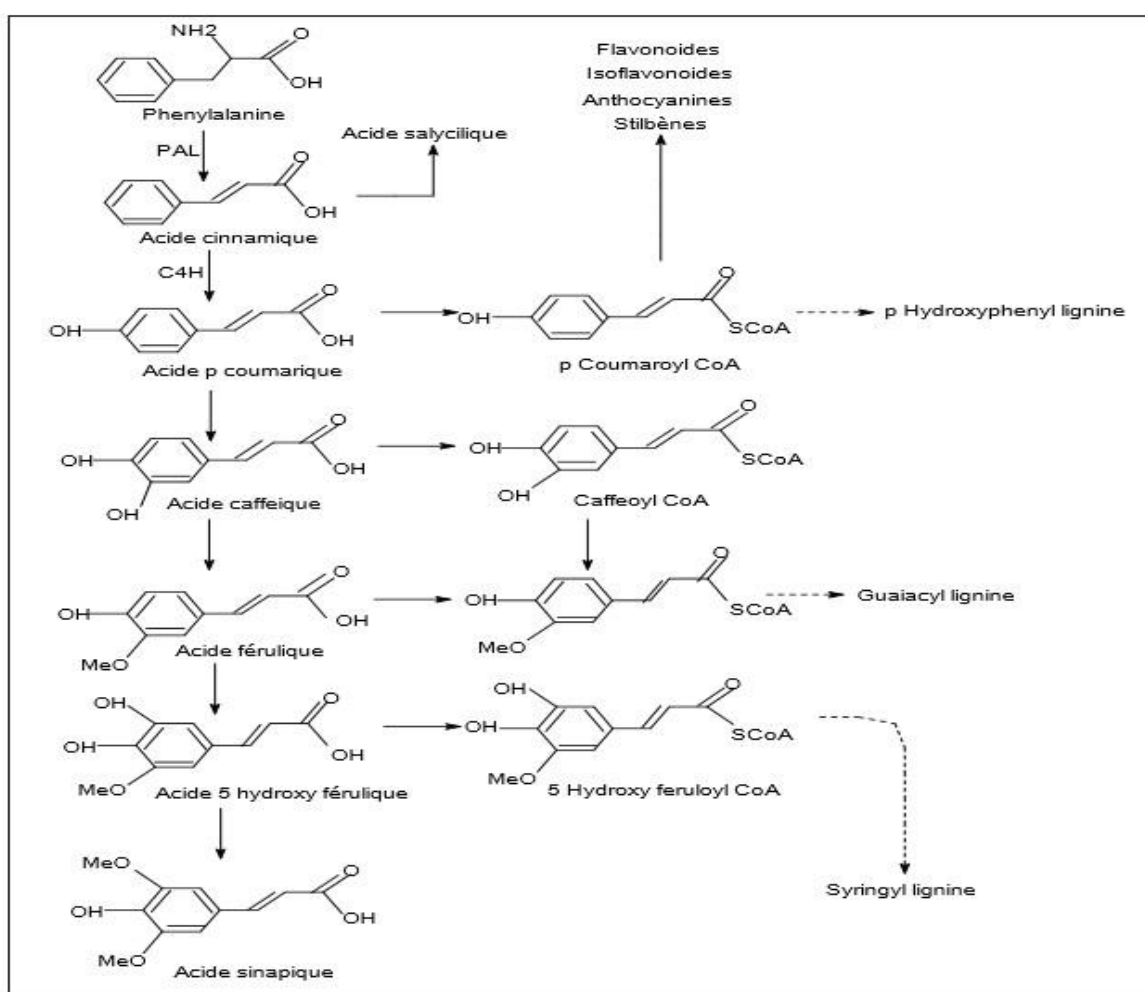
### I.6.1. Voie des Terpénoïdes

Le matériau de base est l'IPP (isopentyl pyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi-alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl CoA (carrefour important), lui-même issu du PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés a lieu par la juxtaposition « tête à queue » d'unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones (sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences (Mann, 1987).



### I.6.2. Voie des Phénylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes (Fig. 07) commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoenolpyruvate). Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants: acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont la salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines. Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie (**Spurgeon et Porter, 1981**).



**Figure 07 :** Voie de biosynthèse des huiles essentielles via les phénylpropanoïdes (**Hoffmann et al., 2004**)

### I.7. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes. Elle peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (**Bruneton, 1999; Benini, 2007**).

#### I.7.1. Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (**Bruneton, 1999**). L'influence du stade végétatif (**Stefanini et al., 2006**), l'organe de la plante (**Chowdhury et al., 2009**), les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie (**Aprotosoie et al., 2010**) et le polymorphisme chimique « chimiotypes ou formes physiologiques » (**Belyagoubi, 2006**) sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles.

#### I.7.2. Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (**Bruneton, 1999; Mohammad et al., 2009**).

Il n'y a pas eu mal des travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première (**Barry, 2001; Mohammedi, 2006; Marzoukia et al., 2009**). Les conditions culturelles telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, les techniques de récolte, la méthode d'extraction (**Silano et Delbò, 2008**) et l'état du matériel végétal (**Pinto et al., 2006**) influencent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles (**Benini, 2007**). Il faut aussi signaler que le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles (**Besombes, 2008**).

L'instabilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange

## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, ... (Silou, 2003).

### I.8. Techniques d'extraction

Les huiles essentielles sont extraites de la plante grâce à plusieurs techniques, tels que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid dans le cas des agrumes (Bruneton, 1993) (Tableau 01). Le choix de telle ou telle méthode dépend de la qualité et de la quantité d'essence recherchée et des moyens économiques car il existe des procédés d'obtention à des coûts élevés tel que l'extraction par enfleurage (Richard, 1992).

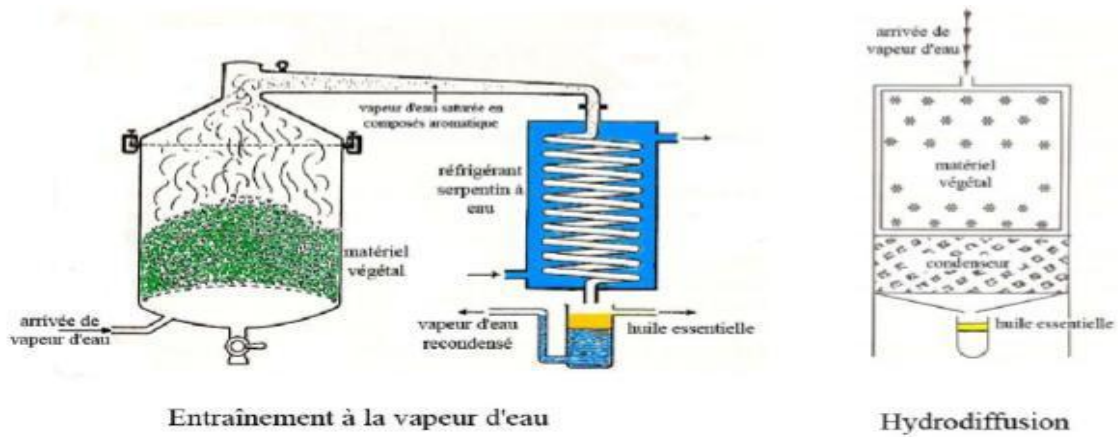
**Tableau 01:** Les techniques d'extraction des huiles essentielles.

Méthodes d'extraction	Principe	Références
<b>Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion</b>	La vapeur d'eau est fournie par une chaudière et traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau + huile essentielle) qui est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé(Fig.08)	<b>Richard (1992)</b> <b>Bruneton (1999)</b> <b>Lucc (2005)</b>
<b>Hydrodistillation</b>	Cette technique consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Fig.09)	<b>Richard (1992)</b> <b>Bruneton (1999)</b>

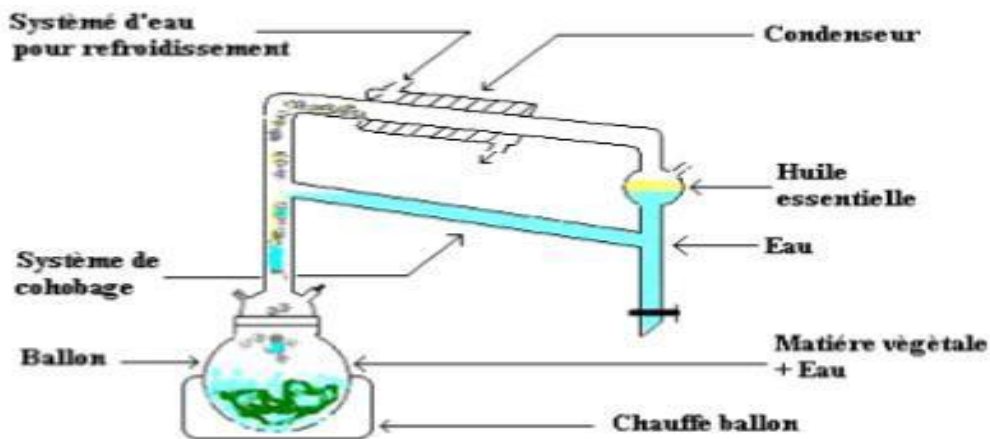
## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles

Méthodes d'extraction	Principe	Références
<b>Expression à froid</b>	<p>Cette méthode s'applique uniquement aux huiles essentielles facilement peroxydables tels que le citron, la mandarine, l'orange douce et amère, qui ne supportent pas une préparation à chaud et qui sont altérables par la vapeur d'eau. Elles sont donc extraites par exemple par scorification mécanique et entraînent de l'huile essentielle par un courant d'eau (Fig.10)</p>	<p><b>Richard (1992)</b> <b>Bruneton (1999)</b></p>
<b>Extraction assistée par micro-onde</b>	<p>Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-onde d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats(Fig.11)</p>	<p><b>Richard (1992)</b> <b>Lucc (2005)</b></p>
<b>Extraction par CO<sub>2</sub> super critique</b>	<p>La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO<sub>2</sub> et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO<sub>2</sub> est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Fig.12)</p>	<p><b>Richard (1992)</b> <b>Lucc (2005)</b></p>

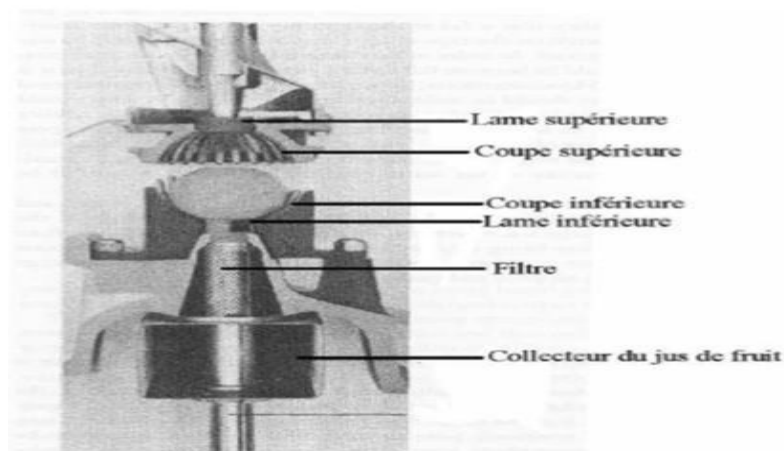
## Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles



**Figure 08 :** Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante (Lucc, 2005)



**Figure 09 :** Montage de Schilcher pour hydrodistillation (Bourrel, 1993)



**Figure 10 :** Appareillage d'expression à froid des huiles essentielles (Lucc, 2005)

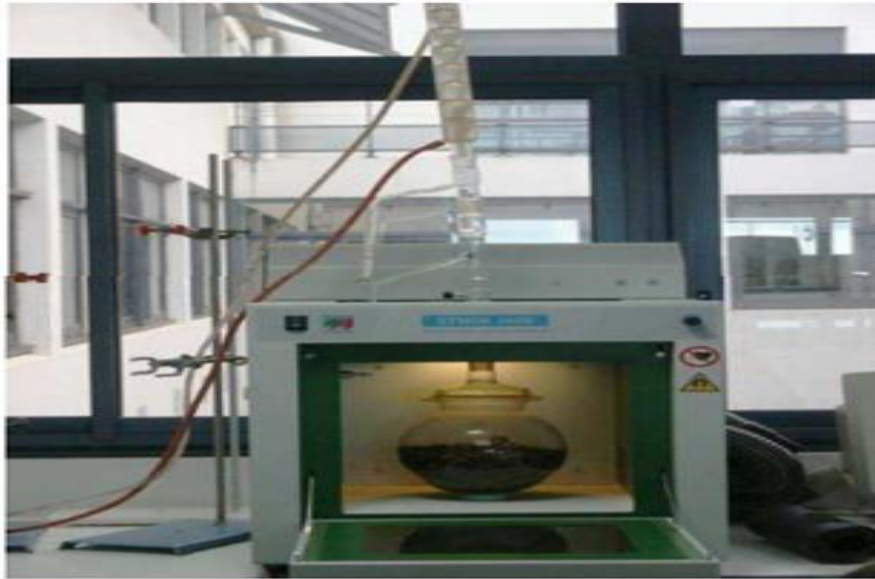


Figure 11 : Extraction assistée par micro-onde (Lucc, 2005)

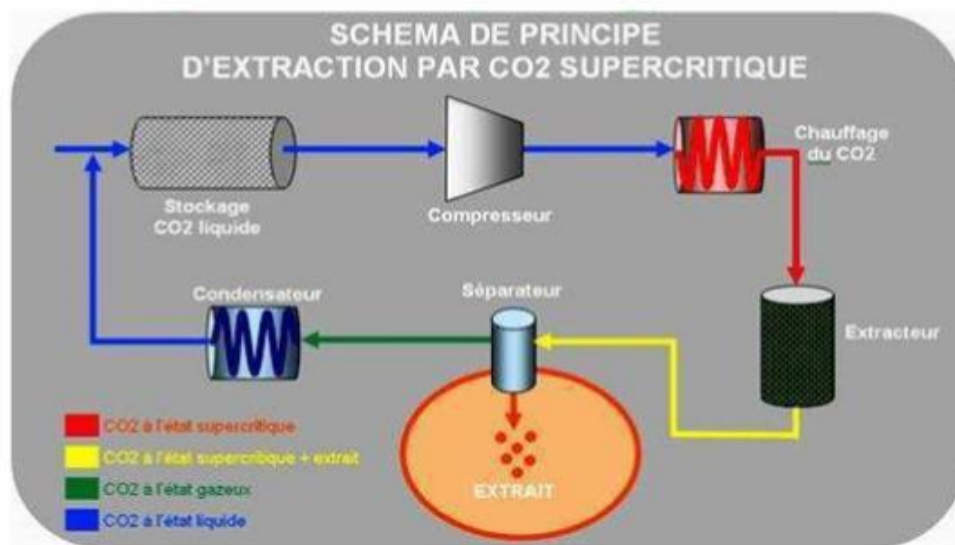


Figure 12 : Principe d'extraction par CO<sub>2</sub> supercritique (Lucc, 2005)

### I.9. Domaines d'utilisation

Le champ d'application des huiles essentielles est vaste, mais quatre principaux secteurs de leur utilisation à une échelle industrielle peuvent être retenus :

### I.9.1. Industrie alimentaire

Dans l'alimentation, les huiles essentielles sont utilisées comme aromates ou épices, c'est le cas des essences de girofle, de gingembre, de vanille, de basilic, .... Aussi, elles sont utilisées dans la confiserie, les sirops et les biscuiteries (**Ouamba, 1988**).

### I.9.2. Industrie des parfums et cosmétiques

L'industrie de la parfumerie et de la cosmétologie est le principal débouché des huiles essentielles totales ou de certains de leurs constituants purs. C'est le cas des essences de rose, d'ylang-ylang, de lavande, de vétiver, de jasmin, de patchouli, ... (**Ouamba, 1988**).

### I.9.3. Industrie pharmaceutique

La médecine et l'industrie pharmaceutique utilisent les huiles essentielles en raison de leurs diverses propriétés : bactériostatiques, bactéricides, vermicides, fongicides, antiseptiques, parasitocides, .... (**Ouamba,1988**).

### I.9.4. Industrie chimique

L'industrie chimique extrait de certaines huiles essentielles des matières premières (isolats) qu'elle transforme en produits chimiques plus élaborés ou directement utilisables pour la synthèse de principes médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, ..., c'est le cas par exemple de l'essence de pin, riche en  $\alpha$ -pinène, qui, en plus de son utilisation comme solvant, entre dans la synthèse du camphre (agent plastifiant) (**Ouamba,1988**).

## I.10. Vertus biologiques

Les vertus des huiles essentielles sont connus et utilisés depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles (**Alais et al., 2003 ;Rozier et al.,1986**).

### I.10.1. Activités antibactériennes

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un



mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, la fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**). Elles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, les protéines et les polysaccharides (**Cox et al., 1991**). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

### I.10.2. Activités antifongiques

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, ... L'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol) sont plus antifongiques). Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique et décroît selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures (**Utree et al., 2002**).

### I.10.3. Activités antivirales

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles. Aujourd'hui, les huiles essentielles constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux car ces virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Farhat, 2010**).

Plusieurs études (**Hammer et al., 2006 ; Koch et al., 2008**) prouvent l'action des huiles essentielles sur les virus, même sur ceux ayant développé une résistance aux antiviraux (**Schnitzler et al., 2007**). Des molécules appartenant à de nombreuses familles chimiques ont



révélé *in vitro* leur activité antivirale : monoterpénols, monoterpénals, ... Les huiles essentielles issues des myrtacées (la coupe cinéole-monoterpénol) sont connues pour le traitement des infections respiratoires.

Les molécules aromatiques sont efficaces contre certaines pathologies virales comme la bronchite, l'angine, le zona, la rhinopharyngite et la grippe. Des études ont démontré que les cellules saines des patients soumis aux traitements aromatiques semblent acquérir une résistance particulière vis-à-vis de la pénétration virale (**Belaiche, 1979 ; Leclerc, 1918**).

### I.10.4. Activités antiparasitaires

Les molécules aromatiques possédant des phénols qui ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires (**Florence, 2012**). Les vers oxyures, ascaris et taenias sont sensibles à certaines huiles essentielles comme celle du thym vulgaire (*Tymus vulgaris*) (**Carilion, 1987 ; Franchomme et Penoel, 1990**).

### I.10.5. Activités insecticides

Les plantes doivent faire face à de nombreux prédateurs, nombre d'entre eux étant des insectes. Mais leur immobilité les empêche de choisir la fuite comme moyen de défense : il leur reste donc l'offensive ou la dissuasion. C'est dans ces deux buts précis que sont produits la majorité des composés d'une huile essentielle. En effet, certains d'entre eux ont une toxicité qui va tuer le nuisible cherchant à se nourrir de la plante et les autres vont avoir une action simplement répulsive (**Murray, 2000**).

## I.11. Activité antioxydant

La lutte contre l'oxydation des lipides représente un enjeu considérable pour les industriels alimentaires. Pour supprimer ou ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables : tenter de réduire les facteurs favorables à cette oxydation et/ou trouver un réactif qui ralentit l'oxydation : c'est le rôle des huiles essentielles (**Jeantet et al., 2006**).

Quelques récentes publications ont rapporté que certaines de ces huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques (**Hussain et al., 2008 ; 2010**).

Leurs effets antioxydants sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Hussain, 2009**).

### I.12. Rôle dans la plante

La fonction biologique des huiles essentielles dans la plante est très mal connue et fait encore l'objet d'une controverse. En tant que produits du métabolisme secondaire de la plante, les huiles essentielles, tout comme les di, tri et tétra terpènes sont considérés, comme des substances n'ayant aucun rôle dans les aspects fondamentaux du développement de la plante. Par contre, le rôle de certains mono et sesquiterpènes a été expérimentalement établi aussi bien dans le domaine des interactions végétal-végétal, que dans celui des interactions végétal-animal (**Yasuji, 1951 ; Hansan et al,1976**).

Dans le domaine des interactions végétal-végétal, par exemple, les propriétés fongicides et herbicides des mono terpènes ont été rapportées par **Evenari (1949)** et **Fischer (1986)** et celles des hydrocarbures sesquiterpéniques par **Spencer et al. (1984)**.

Une mise au point récente de **Croteau (1986)** attribue aux huiles essentielles un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur, au profit de la plante. Les interactions écologiques susmentionnées sont gérées, soit par des terpènes individuels ou par un mélange simple de terpènes, soit par une classe de constituants. C'est ainsi que, par l'intermédiaire de leurs constituants riches en doubles liaisons conjuguées, les huiles essentielles absorbent de la lumière et de la chaleur au cours de leur évaporation, régulant ainsi la transpiration de la plante, en limitant la quantité de chaleur qui atteint les tissus végétaux (**Hansan et al., 1976**).

Dans le domaine des interactions végétal-animal, les travaux de **Stip Anovic et al. (2001)** ont montré que les terpénoïdes jouent un rôle dans la résistance des plantes aux insectes. On leur attribue aussi des propriétés antiappétantes, bien que certains soient des attractifs. Parmi les mono terpènes, les propriétés insecticides et antimicrobiennes de l'α-pinène sont bien connues (**Hansan et al.,1976**).

**Chapitre II :**  
**Présentation des plantes**  
**lamiacées étudiées**

### Chapitre II : Présentation des plantes lamiacées étudiées

#### II.1. Généralités sur la famille des lamiacées

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus répandues dans le règne végétal (Naghibi et al., 2005). Elle comprend près de 6 700 espèces de plantes médicinales regroupées dans environ 250 genres caractérisés par la forme de leur fleurs gamopétales et la présence des huiles essentielles (Kaufmann et al., 1994 ; Miller et al., 2006). Cette famille est d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est utilisée comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Gherman et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006 ; Hilan et al., 2006). Les genres de cette famille les plus cités dans la littérature sont *Mentha* (Choudhury et al., 2006), *Origanum* (Dimitrijevic et al., 2007), *Rosmarinus* (Gachkar et al., 2007), *Thymus* (Moreau, 1960) et *Ocimum* (Lee et al., 2005).

#### II.2. Présentation des plantes étudiées

##### II.2.1. Thym commun (*Thymus vulgaris*)

Le Thym commun (*Thymus vulgaris* L.), Thym cultivé ou Farigoule est un sous-arbrisseau qui a la particularité de présenter une diversité de chémotypes très importante, lui conférant ainsi une grande variété de constituants médicinaux (Berigaud, 2002 ; Botanica, 2008).

Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec « *Thymos* » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001).

##### II.2.1.1. Systématique

La classification botanique de *Thymus vulgaris* est la suivante (Botanica, 2008) :

Règne : Plantes

Sous règne : Plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Dialypétales

Ordre : Labiales

Famille : Labiacées

Genre : *Thymus*

Espèce : *T. vulgaris* L.

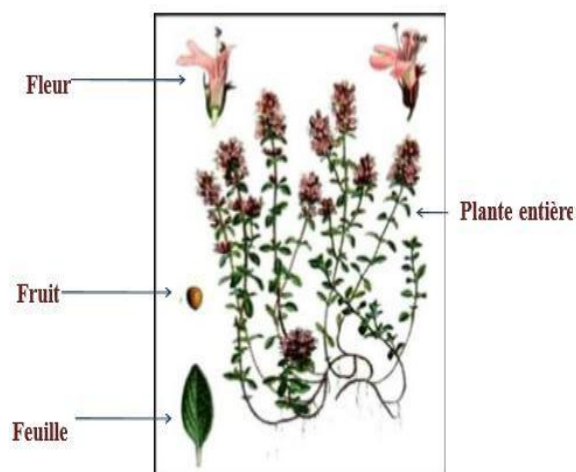
### II.2.1.2. Description botanique

*Thymus vulgaris* (Fig. 13) est un arbuste aromatique à tiges quadrangulaires ramifiées, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Leurs feuilles opposées par deux, sont petites, ovales, pétiolées, recourbées sur les bords, de couleur vert foncé, et recouvertes de poils et de glandes ou trichomes (contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes) (Fig. 14). Leurs petites fleurs sont bisexuées, irrégulières, zygomorphes, regroupées en panicules très denses sur les rameaux ce qui constitue un cas unique chez les lamiacées (Dellile, 2007), leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Bruneton, 1999 ; Morales, 2002) (Fig. 14). Le calice est tubuleux ou en cloche persistant, à corolle à tube très développée et leurs fruits secs se séparent en quatre articles contenant chacun une graine (Fig. 14) (Hilan et al., 2005). Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de trichomes qui libèrent l'essence par simple contact (Soto-Mendivil, 2006).



**Figure 13:** Plante de *Thymus vulgaris*

(Anonyme,2008)



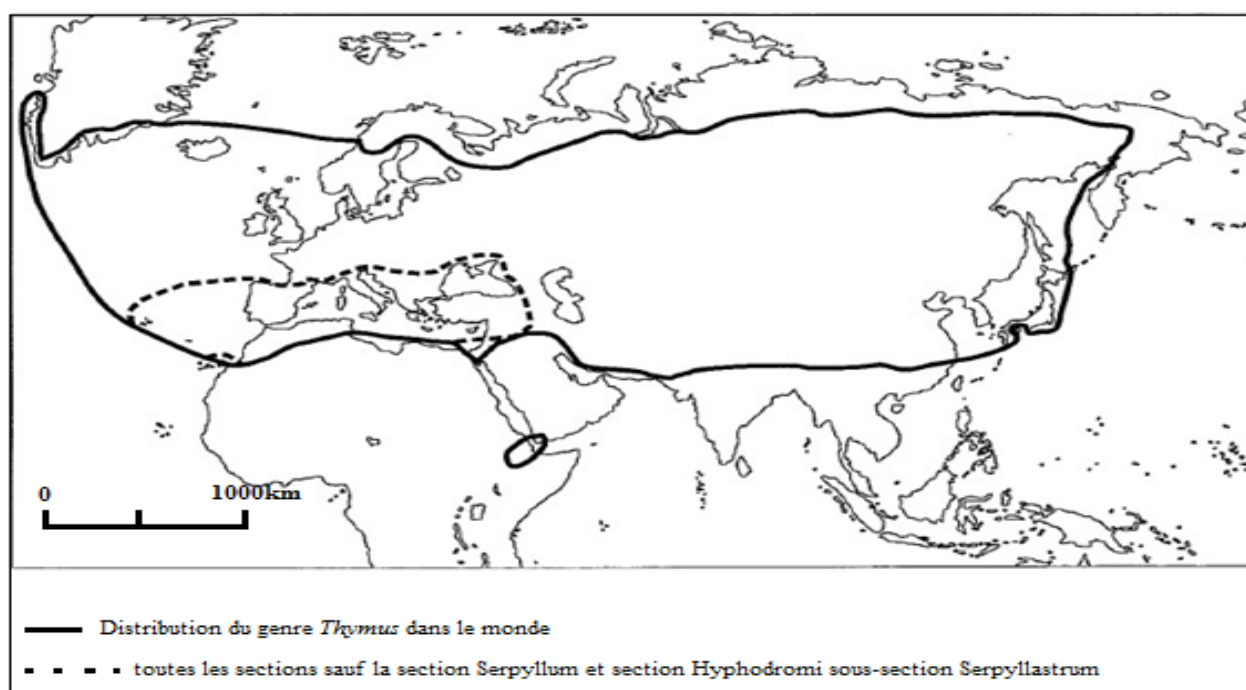
**Figure 14:** Aspects morphologiques de

*Thymus vulgaris* L. (Iserin,2001)

### II.2.1.3. Répartition géographique

- Dans le monde

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (**Ozcan et Chalchat, 2004**). Selon **Dob et al. (2006)**, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée (environ 110 espèces différentes). C'est une plante très répandue dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya (Fig. 15).



**Figure 15:** Distribution du genre *Thymus* dans le monde. La ligne pointillée représente toutes les sections sauf la section *Serpyllum* et section *Hyphodromi* sous-section *Serpyllastrum* (**Stahl-Biskup et al., 2002**)

- En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thym comprend plusieurs espèces botaniques qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement (Tableau 02). Elles sont réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Saidj, 2006**).

## Chapitre II : Présentation des plantes lamiacées étudiées

**Tableau 02** : Localisation des principales espèces du thym en Algérie (Czemerys, 2007)

Espèce	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Région de Tlemcen	Zaâteur
<i>Thymus fontanasii</i>	Commun dans le Tell et endémique de l'est de l'Algérie	Zaâteur
<i>Thymus commutatus</i>	Endémique d'Oran	Zaâteur
<i>Thymus numidicus</i>	Le sous-secteur de l'atlas tellien, la grande et la petite Kabylie, Skikda à la frontière tunisienne et le Tell constantinois	Tizaâtarte
<i>Thymus guyonii</i>	Le sous-secteur des Hauts plateaux algérois- oranais et constantinois	Tizaâtarte
<i>Thymus lancéolatus</i>	Le sous-secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Ben-chicao) et le sous-secteur des Hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois	Zaâteur
<i>Thymus pallidus</i>	Le sous-secteur de l'Atlas Saharien et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya
<i>Thymus vulgaris</i>	Les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne	Zaatar

### II.2.1.4. Exigences pédoclimatiques

Vu la diversité des espèces et des variétés, le thym s'adapte à pratiquement tous les contextes pédoclimatiques. Il préfère cependant les sols argilo-calcaires ensoleillés et aérés par de nombreux cailloux. Il est possible de le cultiver sur des sols sableux, mais il faudra alors prévoir l'irrigation. L'altitude recommandée va de 0 à 1 000 m. Les sols plats ou de coteaux sont à privilégier (pente maximum de 20%), avec ou sans cailloux (Mathonnet, 2012).

Plus précisément, le thym commun préfère un sol légèrement acide, en plein soleil et au sec, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très fortes chaleurs provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et

s'évapore la journée ; c'est par cette action que la chaleur sera consommée (**Takeuchi et al., 2004**).

### II.2.1.5. Huile essentielle et composition chimique

L'huile essentielle du thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (**Naghdi et al., 2004**). Elle est composée par des molécules aromatiques présentant une très grande diversité de structure (**Loziene et al., 2007**). Ainsi, une étude menée par **Dob et al. (2006)** sur les thyms d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), p-cymène (9,1 - 18,5 %),  $\hat{U}$ -terpinène (6,9 - 18,0 %), carvacrol (2,4 - 4,2 %) et linalol (4,0 - 6,2 %). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée en thymol (**Guillén et Manzanos, 1998 ; Ballardín et Headley, 1999**).

### II.2.1.6. Propriétés et utilisation

Il semblerait que, pendant longtemps, le thym ait surtout été employé en médecine et dans les rituels religieux ou magiques, ses usages culinaires se limitent à aromatiser le fromage et les liqueurs. Les Égyptiens s'en servaient pour embaumer leurs morts, les Grecs pour parfumer les temples et l'eau des bains et les Romains pour purifier leurs appartements. Ces derniers ont probablement diffusé le thym en Europe durant leurs invasions, particulièrement dans les pays du Sud. Au Moyen Âge, on s'en est beaucoup servi pour masquer les mauvaises odeurs, notamment celles de la viande ou du poisson avarié (**Rhayour, 2002**).

Le thym est utilisé aussi pour traiter les infections urinaires (cystites), les infections respiratoires (bronchites, sinusites, angines, otites rhino-pharyngites) et les infections gynécologiques (vulvites, vaginites, salpingites) (**Adwan et al., 2006; Mendivil et al., 2006; Verbeke, 2006**). Il est antispasmodique, antimicrobien, anti-cancérogène et anti-inflammatoire, fongicide, insecticide et antioxydant (**Szentandrassy et al., 2003**).



Egalement, il est utilisé pour assaisonner et conserver les aliments et les boissons (**Selmi et Sadok, 2008**).

### II.2.2. Menthe verte « *Mentha spicata* »

Les origines de *Mentha spicata* sont incertaines. Selon certains botanistes, elle serait le résultat d'une hybridation très ancienne entre *Mentha rotundifolia* et *Mentha longifolia* (**Douay, 2008**).

La menthe verte, menthe crépue ou menthe douce, du nom latin « *Mentha* », est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues : les archéologues ont découvert ses feuilles dans des pyramides d'Egypte vieilles de 3 000 ans (**Benayad, 2008**). Ces essences, autant qu'elles sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les lamiacées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (**Benayad, 2008**).

#### II.2.2.1. Systématique

Le genre *Mentha* 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**). La classification botanique établie par **Cronquist (1981)** pour cette espèce est la suivante:

Règne : Plantes

Sous règne : Plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes  
Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Métachlamides

Ordre : Tubiflorales

Famille : Labiacées

## Chapitre II : Présentation des plantes lamiacées étudiées

Sous-famille : Nepetoïdées

Genre : *Mentha*

Espèce : *M. spicata* L.

### II.2.2.2. Description botanique

La menthe verte (Fig. 16) est une plante vivace stolonifère, herbacée, indigène, robuste, de 50 cm à 1 mètre de hauteur, d'un vert sombre et à odeur suave très pénétrante. Leurs feuilles simples et opposées sont d'un vert clair brillant, sessiles, dentées en scie, ovales-lancéolées et acuminées (Fig. 17). L'implantation des feuilles est paripennée et décussées (avec un angle de 90°). Leur tige rameuse est quadrangulaire (carrée) ascendante (orthotrope). Elle est de couleur pourpre. Les fleurs pentamères oligostémones poussent en grappe à l'aisselle de la feuille (Fig. 16). Elles sont zygomorphes et hermaphrodites. Elles sont rosées ou lilas, en épis terminaux peu denses, longs, grêles, linéaires-aigus ; bractées et dents du calice linéaires, glabres ou ciliées ; pédicelles et tube du calice glabres ; corolle glabre en dedans ; carpelles ovoïdes. La fleur présente une bractée qui dépasse les pièces florales et ses pétales sont soudés (gamopétales) (Fig. 17). La racine est pivotante et dure plus de 3 ans. On trouve en dessous de chaque pied, des rhizomes (tiges souterraines) qui servent à la propagation de la plante (Paris et Moysse, 1971).



Figure 16 : Plante de *Mentha spicata*

(Douay, 2008)

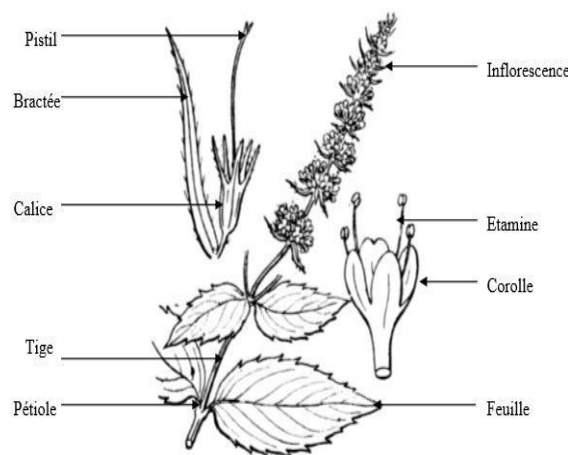


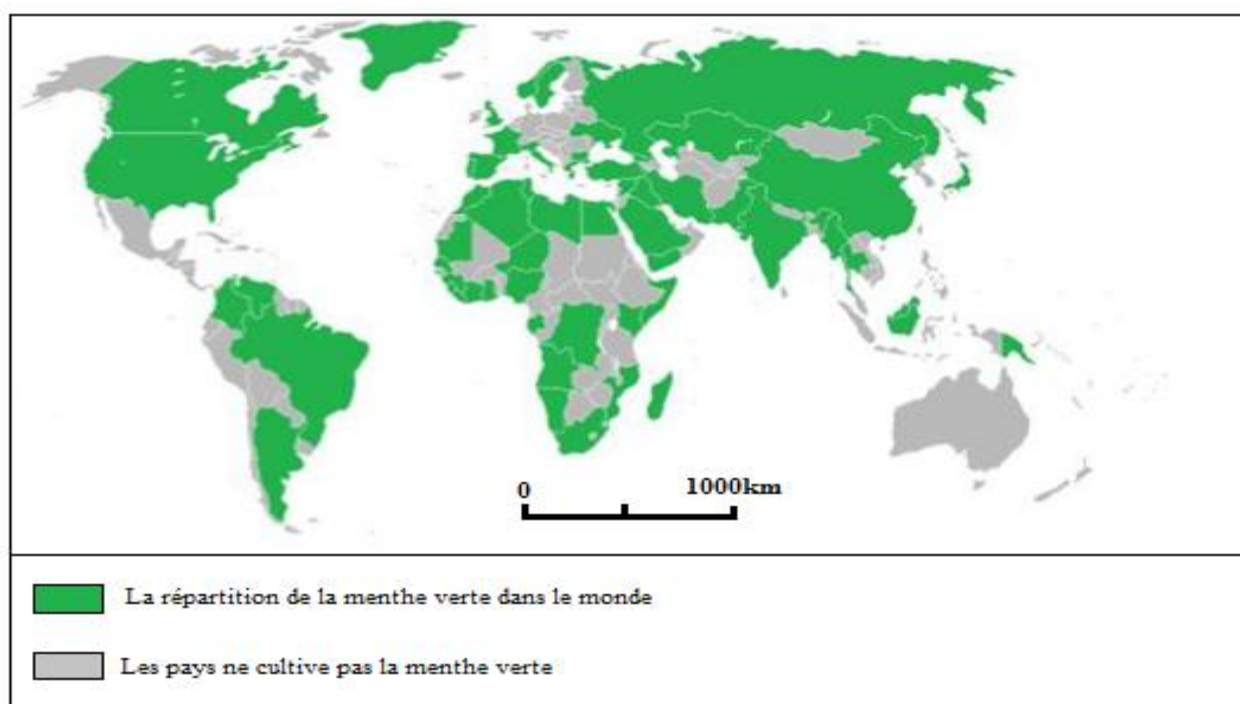
Figure 17 : Aspects morphologiques de *Mentha*

*spicata* (Teuscher et al., 2005)

### II.2.2.3. Répartition géographique

- **Dans le monde**

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (Fig. 18) (Tucker et Naczi, 2007). Elles sont cultivées en Europe (France, Italie, ...), en Asie (Chine, Turquie, Japon, Inde, Pakistan, ...), en Afrique du Nord (Algérie, Maroc, ...) (Perrot, 1928), en Amérique du Nord (États-Unis, Canada), en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Russie (Lachance, 2001).



**Figure 18** : Aire de répartition de la menthe verte dans le monde (Tucker et Naczi, 2007)

- **En Algérie**

On retrouve plusieurs variétés de menthes (environ 20 espèces), cultivées ou spontanées, en Algérie (Tableau 03) ; les plus connues et utilisées sont la menthe verte, la menthe aquatique et la menthe pouliot (Baba Aissa, 1999 ; El Fadl et Chtaina, 2010). Ces différentes espèces sont toutes caractérisées par une tige carrée et des feuilles opposées et dentées, très odoriférantes en raison de l'huile essentielle qu'elles contiennent (Benayad, 2008).

## Chapitre II : Présentation des plantes lamiacées étudiées

**Tableau 03** : Localisation des principales espèces de la menthe en Algérie

Espèce	Localisation	Nom local	Référence
<i>Mentha spicata</i> L.	Milieus humides, ensoleillés à semi-ombragés	Menthe frisée, menthe marocaine, naânaâ	<b>Bruneton (2009)</b> <b>Arvy (2003)</b>
<i>Mentha pulegium</i> L.	Milieus riches en silice, alluvions, endroits humides, champs et prairies, bords des mares, lieux inondés l'hiver	Fliyyo	<b>Larry et French (2002)</b> <b>Victor (2015)</b>
<i>Mentha aquatica</i> L.	Zones humides et lieux frais, près des eaux douces, fossés, mares, ruisseaux rivières	Baume d'eau, Baume de rivière, Bonhomme de rivière, Menthe rouge, Riolet, Menthe à grenouille	<b>Rameau et al. (1989)</b>
<i>Mentha arvensis</i>	Milieus humides	Menthe des champs	<b>André (2010)</b>
<i>Mentha suaveolens</i> Ehr ( <i>Mentha rotundifolia</i> L.)	Ruisseaux, fossés, bords d'eau, prairies humides, bords de chemins, sentiers ombragés	Menthe suave, baume sauvage, menthastre, menthe de cheval, menthe simple ou menthe pomme (en jardinerie), dawmrân	<b>Bellakhdar (1997)</b> <b>Rameau et al. (2008)</b> <b>HYPPA (2015)</b>
<i>Mentha longifolia</i>	Prairies humides et bord des rivières	Tahindest (menthe des lacs, menthe fluviale)	<b>Bellakhdar (1997)</b> <b>Tucker et Naczi (2006)</b>

### II.2.2.4. Exigences pédoclimatiques

La menthe verte peut être cultivée dans tous les sols humides ou, au contraire, secs selon les espèces. Elle nécessite un sol drainé, fertile et frais, pauvres en calcaire et en argile et ensoleillé à semi-ombragés (**Abbas, 2005**). Elle craint les basses températures et entre en repos végétatif pendant l'hiver. Elle se trouve surtout en basse altitude dans les régions tempérées entre 400 et 1 800 mètres (**Douay, 2008**).

### II.2.2.5. Huile essentielle et composition chimique

Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de menthe (**Benayad, 2008**). L'huile essentielle de la menthe verte est riche surtout en L-carvone (entre 40 à 80 %), acétate de dihydrocuminyne (10 à 12%) (Ces deux constituants majeurs étant responsables de l'odeur de la plante), menthone (4 - 30%) et le limonène (5 à 15%) ; ils sont accompagnés de dihydrocarvone, de dihydrocarvéol, d'acétate de carvyle et de caryophyllène. Dans d'autres 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**).

### II.2.2.6. Propriétés et utilisation

Les menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans les utilisations thérapeutiques. Elles fortifient tout le système des nerfs et sont utilisées contre la fièvre, la faiblesse, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, la mélancolie, l'hystérie et les troubles de la vue. Elles présentent aussi des propriétés stimulantes diffusibles et sédatives diffusibles (**El Fadl et Chtaina, 2010**).

On l'utilise aussi contre les parasites ; les tiges et les fleurs sont brûlées pour chasser les puces des matelas et des animaux domestiques. On peut aussi placer les sachets de menthe auprès des sacs de grains et de fromage pour chasser les rongeurs (**Fournier, 1948**).

Dans le domaine alimentaire, on peut citer les besoins d'agrément, les crèmes, les chocolats, les bonbons, les pâtes à mâcher, les desserts, ... (**Quillet, 1964**). Elles peuvent également être trouvées dans quelques shampooings et savons, dentifrices et lotions pour bain de bouche, ou encore dans certaines liqueurs (**Benayad, 2008 ; Douay, 2008**).

# **Chapitre III :**

## **Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis**

### Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis

#### III.1. La culture du fraisier

##### III.1.1. Généralités

Le fruit du fraisier (*Fragaria*) est, botaniquement, un *faux-fruit* puisqu'il s'agit en réalité d'un réceptacle charnu sur lequel sont disposés régulièrement des akènes dans des alvéoles plus ou moins profondes, la fraise étant donc un polyakène (ITCMIA, 2008). L'espèce la plus consommée dans le monde est issue d'une hybridation entre l'espèce *Fragaria* et *ananassa* (FAOSTAT, 2012).

##### III.1.2. Historique

Connus depuis l'Antiquité, les Romains consommaient les fraises et les utilisaient dans leurs produits cosmétiques en raison de leur odeur agréable. En 1714, l'officier du génie maritime Amédée-François Frézier rapporte en fraude du Chili cinq plants de *Blanches du Chili*, des fraisiers à gros fruits blancs cultivés là-bas depuis longtemps par les Amérindiens ; le *Fragaria chiloensis* subsp. *chiloensis* forma *chiloensis* Staudt. Ces fraisiers se révélèrent malheureusement être uniquement des plants mâles et ne donnèrent jamais de fruits. Quelques décennies plus tard, après importation de plants fertiles, la culture de blanches du Chili a été tentée en Grande-Bretagne (en 1824 trois variétés sont décrites) mais elle est peu résistante au froid et sous le climat anglais il est rarement possible de l'amener à fructifier et même alors, il est difficile de la faire murir correctement (Piquemal, 2015).

Vers 1740, le botaniste Antoine Nicolas Duchesne observe que de beaux fruits sont obtenus lorsqu'un fraisier du Chili est cultivé près d'un fraisier de Virginie. Ce croisement spontané, qui se produit notamment en Bretagne, en Angleterre et aux Pays-Bas, est à l'origine d'un nouvel hybride qui associe la saveur de *Fragaria virginiana* et la grosseur du fruit de *Fragaria chiloensis* et qui possède un parfum d'ananas à l'origine de son nom botanique : *Fragaria* × *ananassa* Duch. C'est de ce hybride que provient l'essentiel des variétés de

## Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis

---

fraises à gros « fruits » que l'on cultive désormais. C'est en Angleterre que seront en premier créées plusieurs variétés issues de cette hybridation et qu'en sera développée la culture industrielle (Piquemal, 2015).

### III.1.3. Classification botanique

Le fraisier est classé comme suit (Anonyme, 2010) :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae* Ordre

:*Rosales*

Famille : *Rosaceae*

Genre : *Fragaria*

Espèce : *F. vesca*

### III.1.4. Description botanique

Le fraisier (Fig19) est une plante pérenne herbacée chez laquelle les différents organes sont très proches les uns des autres y compris entre partie aérienne et partie souterraine, contrairement aux arbres. Encore contrairement aux arbres, les bourgeons ne sont jamais écailleux et leur délimitation par rapport aux autres parties de la plante n'est pas vraiment facile. Un bourgeon terminal assure le développement de nouvelles feuilles en période de croissance. Ce bourgeon assure également la reproduction. A la base des pétioles des feuilles, des bourgeons axillaires inhibés assurent, le cas échéant, le développement de stolons ou de cœurs secondaires dont les méristèmes pourront eux-mêmes devenir reproducteurs (Fig.20) (Putti, 2012).





Figure 19 : Plant de fraisier (Anonyme, 2008)

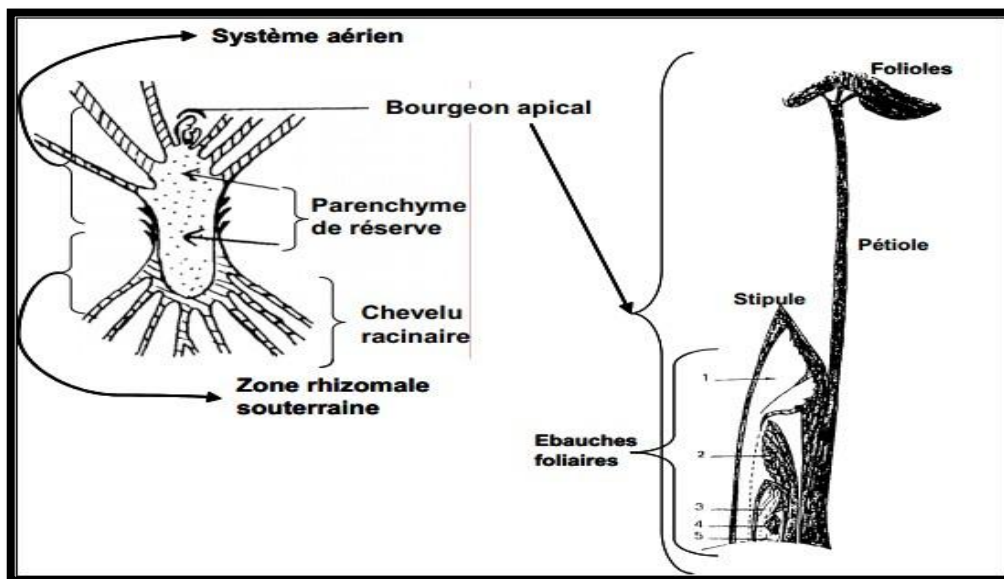


Figure 20 : Différents organes du fraisier (Dovilliers, 1991; Robert, 1996).

### III.1.5. Production et importance économique

- Dans le monde

La culture des fraises est l'une des productions fruitières les plus répandues dans le monde. Les principaux pays producteurs en 2008 étaient : l'Espagne, la Pologne, l'Italie, l'Allemagne (Fig. 21) l'Egypte, le Japon, les Etats-Unis, la Turquie, le Mexique et la Corée. Les deux principaux pays producteurs en 2009 étaient les Etats-Unis et la Turquie avec des productions respectives de 1 270 694 tonnes et 291 996 tonnes de fraises (Annexe 01) (FAOSTAT, 2011).

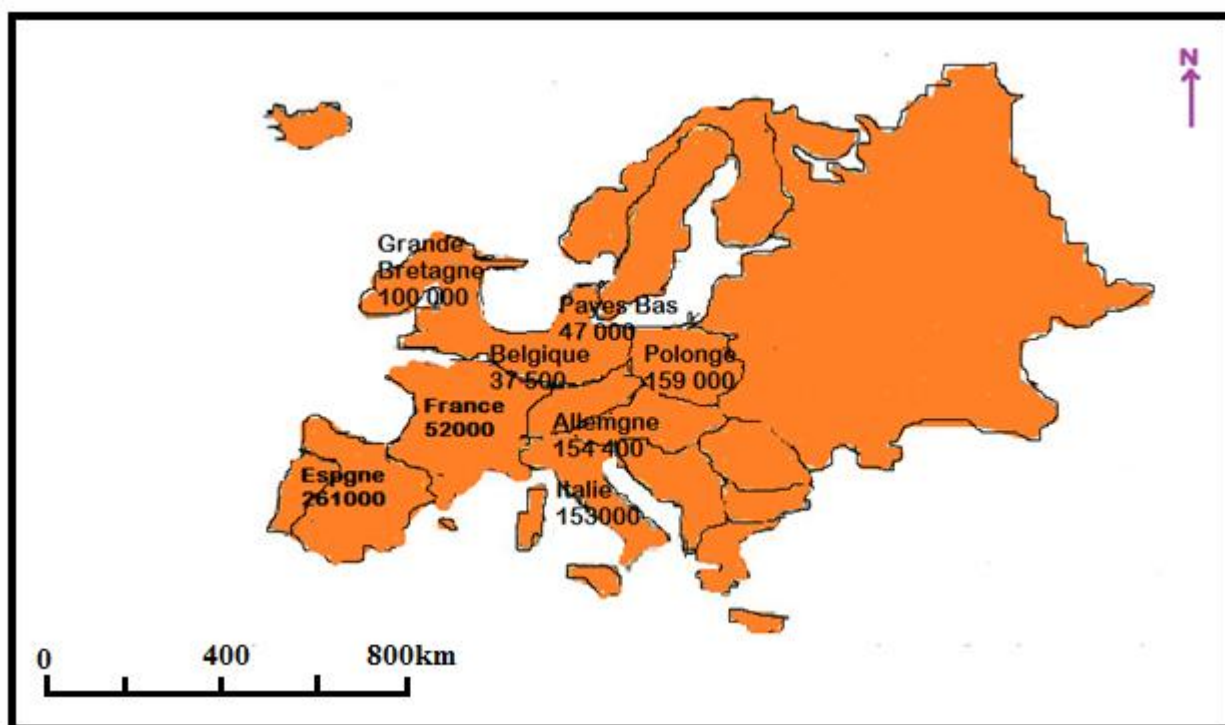


Figure 21 : Répartition de la production des fraises en Europe par tonnes (Agreste, 2012)

- En Algérie

Selon la chambre de commerce (2015), 14 variétés du fraisier (*Tioga*, *Douglas*, *Chandler*, *Camarosa*, *Selva*, *Tudla*, *Russicada*, *Condonga*) sont actuellement cultivées dans les plaines de 09 communes côtières où les conditions climatiques favorisent cette culture (ITCMIA, 2008). Après un coup d'essai de quelques agriculteurs qui se sont lancés dans sa

## **Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis**

---

culture au début des années 2000, le fruit a rapidement conquis d'autres surfaces pour devenir le principal produit cultivé dans le lancement de la campagne de la culture durant l'année passée. Selon des producteurs, le rendement de la saison en cours s'annonce sous de meilleurs auspices **(El Ayam-2,2016)**.

La wilaya de Jijel occupe désormais la première place à l'échelle nationale en termes de production. Cette dernière s'est établie pour la campagne 2012-2013 à 52 450 quintaux. Une production qui a connu une augmentation vertigineuse en l'espace d'une décennie, puisque la quantité écoulée durant l'année 2001 n'était que de 1 200 quintaux **(El Ayam-2, 2016)**.

Il convient de rappeler que cette culture est passée de 216 ha en 2001/2002 à 323 ha en 2014/2015 **(El Ayam-2, 2016)**.

### **III.1.6. Cycle de production**

Le cycle de production de la fraise est caractérisé par son caractère annuel. Au printemps, des bourgeons apparaissent à l'aisselle des feuilles nouvellement formés. Quelques-uns de ces bourgeons restent dormants pendant l'été, alors que les autres se développent soit en couronnes soit en bourgeon floraux. Sous l'action de jours courts, d'une durée critique de 11 à 13 heures, les apex végétatifs de la plupart des variétés se transforment en bourgeons floraux (Fig. 22) **(Darrow, 1966)**.

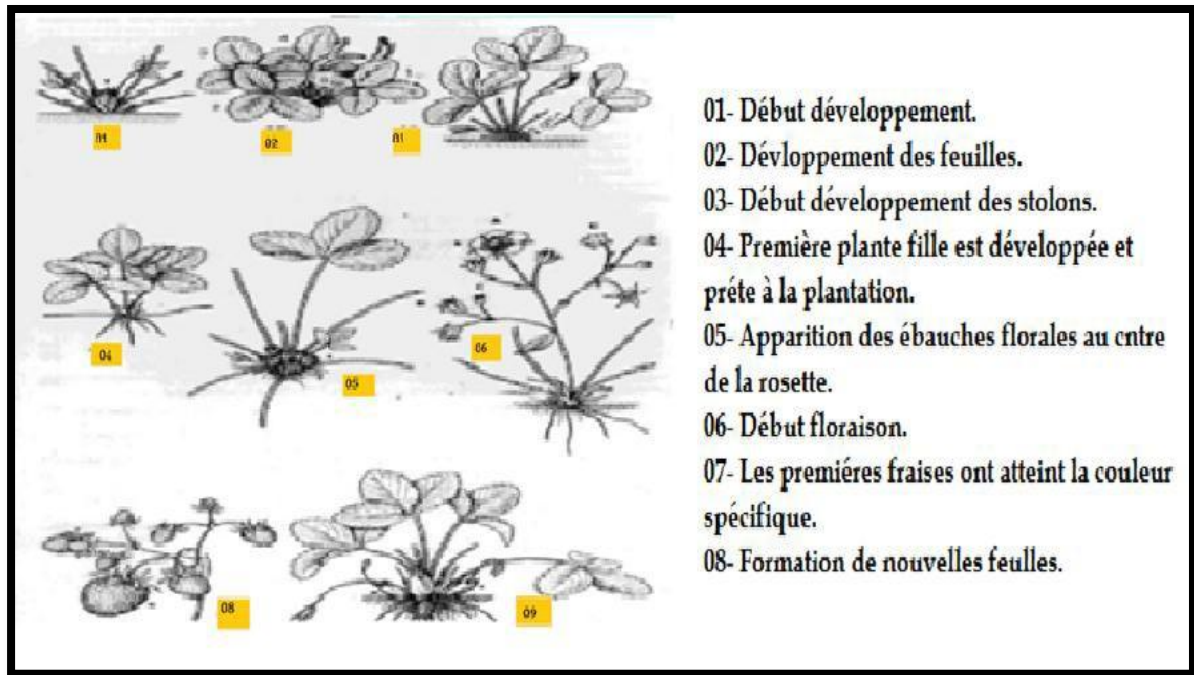


Figure 22 : Stades phénologiques du fraisier (ITCMI, 2008)

### III.1.7. Maladies et ennemis

#### • Maladies

La culture de la fraise en plein champ fait face à des problèmes récurrents de maladies telluriques et aériennes qui limitent les rendements. Parmi ces maladies, on peut citer (Guérineau, 2003):

- Anthracnose (*Colletotrichum acutatum*)
- Pourriture grise des fraises (*Botrytis cinerea*)
- Oïdium du fraisier (*Podosphaera aphanis*)
- Cœur rouge des racines du fraisier (*Phytophthora fragariae*)
- Verticilliose (*Verticillium sp.*)

#### • Parasites et prédateurs

Les parasites et les prédateurs les plus redoutables sur le fraisier sont (Anonyme, 2006):

## Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis

---

- Charançon de la racine du fraisier (*Otiorhynchus sp.*)
- Pucerons vert (*Aphis forbesi*) et jaune (*Chaetosiphon fragaefolii*)
- Anthonome du fraisier (*Anthonomus singatus*)
- Ver blanc ou larve de hanneton (*Phyllophaga anxia*).
- Noctuelles, anguillule du fraisier, guêpes et frelons
- Autres : Limaces, taupes, thrips, vers blancs, punaises ternes, cicadelle de la pomme de terre, nématodes,...

### III.2. Le Botrytis ou pourriture grise

#### III.2.1. Importance économique

Le botrytis ou pourriture grise est une maladie fongique causée par *Botrytis cinerea*. Ce genre a été découvert pour la première fois en 1729 par Pier Antonio Micheli et il a été répertorié dans son livre « *Nova Plantarum Genera* » (Micheli, 2001). Cet agent pathogène peut entraîner la destruction partielle ou totale de la plante hôte, et dans certains cas de la récolte. Sur le plan économique, ce champignon est par exemple considéré comme un problème phytosanitaire majeur en viticulture dans le monde (Martínez et al., 2003). Il peut s'attaquer à différents stades de développement du fraisier et l'infection par les conidies peut se produire durant toute la saison de croissance : début d'inflorescence, floraison, stade végétatif, ... (Kreschmer et al., 2007). On estime les pertes mondiales dues à *B. cinerea* sur vigne à 2 milliards \$ par an (Elmer and Michailides, 2004). Il peut provoquer une altération des qualités organoleptiques du fruit telle que, par exemple, la couleur, l'aspect, le goût, ... (Bocquet et al., 1995 ; Boquet et al., 1996 ; Cilindre et al., 2007).

#### III.2.2. Symptômes et dégâts

De nombreuses espèces de *Botrytis* existent et s'attaquent à une grande variété de plantes (Fig. 23) Les dégâts apparaissent aussi bien sur champs que lors de la conservation. Elles contaminent le plus souvent les affaiblies, ou abimées (par grêle, puceron, taille). Un feutrage grisâtre et plus ou moins foncé se forme sur les parties touchées qui pourrissent puis meurent rapidement. Sur les plantes à bulbes, de petites tâches blanches apparaissent



### Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis

sur les feuilles tandis que le bulbe est infecté par une moisissure grise (**Dik et Ellad, 1999**). Il favorise chez le fraisier une pourriture grise qui attaque les parties aériennes : pédicelles, fleurs et fruits immatures (**Mass, 1984**). Toutefois, seuls les dégâts situés sur le fruit sont considérés comme graves (**Roudeillac, 1987**). Les principales sources d'inoculum de la maladie chez le fraisier sont les feuilles mortes, les fruits malades et les mauvaises herbes voisines (**Sutton, 1995**).

Le Botrytis se développe surtout par temps chaud, à l'automne. Pendant l'hiver, les spores restent sous terre en attendant les beaux jours (**Anonyme, 2009**). La température optimale pour le développement de l'infection tant sur les fleurs que sur les fruits est d'environ 20°C et le taux d'humidité relative est de 93% ou plus (**Bulge et al., 1987**).

Les nutriments sont nécessaires à la germination des spores, au développement du mycélium, et à la formation des appressoria (**Li et al., 2004**). D'après **Blakman (1975)**, la présence à la fois de carbone et d'azote est nécessaire à la germination des spores du champignon. La germination de conidies de différents isolat de *B. cinerea* est significativement plus faible dans l'eau que dans une solution nutritive (**Clark and Lorbeer, 1977**).



**Figure 23** : Symptômes causés par *Botrytis cinerea* sur différentes plantes hôtes  
(**Sekor, 2009**)

### III.2.3. Gamme d'hôte

*Botrytis cinerea* est un champignon pathogène, saprophytes et polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes (Jarvis, 1980) et préfère les plantes riches en pectines (Ten have, 2000). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple : le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le Kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen (Coley-Smith, 1980 ; Jarvis, 1977 ; Gullino, 1992).

### III.2.4. Présentation du champignon *Botrytis cinerea*

#### III.2.4.1. Position taxonomique

Le nom *Botrytis cinerea* a été donné par Persoon en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autre connait une double classification (Hennbdrt, 1973)

- Une forme imparfaite (anamorphe) : *Botrytis cinerea* Pers : un Deutéromycète de la classe des *Hyphomycètes*, de l'ordre des *Léotiales* et de la famille des *Moniliaceae*.
- Une forme parfaite (téléomorphe) : *Botryotinia Fuckeliana* (de Barry) Wetzel : un Ascomycète de la classe des *Discomycètes*, de l'ordre des *Léotiales* et de la famille des *Sclerotinaceae*.

Le genre *Botrytis* est actuellement classé parmi les discomycètes inoperculés, de l'ordre des *Helotiales* et de la famille des *Sclerotiniaceae* (Gindro, 2000) :

**Règne :** *Fungi*

**Division :** *Ascomycota*

**Classe :** *Leotiomycetes*

**Ordre :** *Helotiales*

**Famille :** *Sclerotiniaceae*

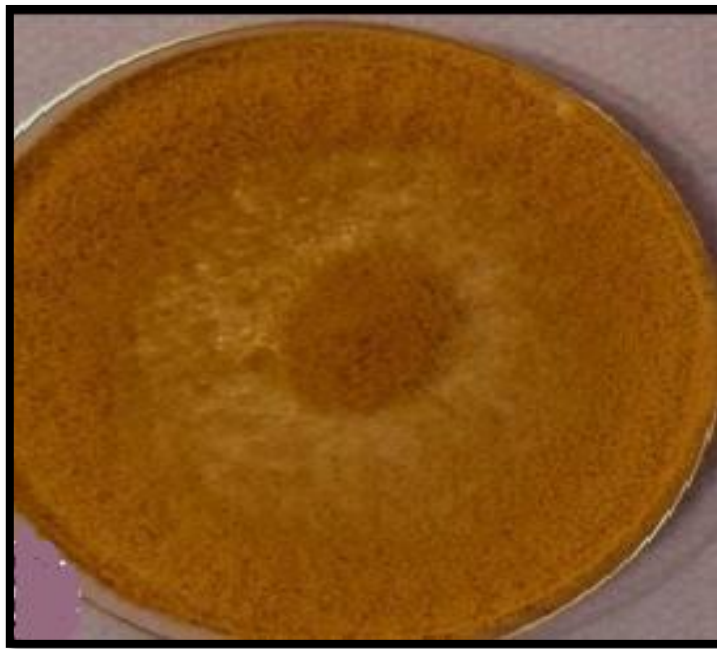
Genre : *Botrytis*

Espèce : *B. cinerea* (*Botryotinia fuckeliana* (de Bary)

### III.2.4.2. Description morphologique

- **Caractéristiques macroscopiques.**

*Botrytis cinerea* est connu pour avoir une grande diversité morphologique touchant aussi bien la couleur et l'allure du mycélium, ou la production de spores, que l'allure des sclérotés (agrégats de mycélium). Ce champignon produit des conidies sur de très nombreux substrats (Fig. 24) Le développement des conidies se manifeste par la production de condiophores dressés en touffes souvent étendues, constituant un feutrage intense grise, les conidies prennent une part importante dans la dissémination du champignon (Holz et al., 2004).

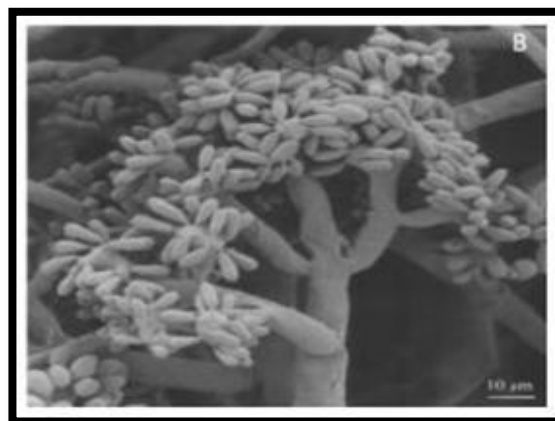
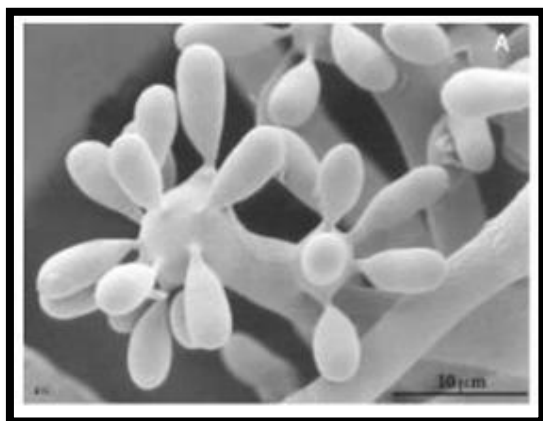


**Figure 24** : Conidies de *Botrytis cinerea* produites sur milieu PDA en boîte de Pétri (culture de 14 jours à 21 C°) (Ajouz, 2009)



- **Caractéristiques microscopiques**

Le *Botrytis cinerea* se manifeste dans la nature sous plusieurs formes différentes. Il est constitué de mycélium, conidies (macro et micro conidies) (Fig. 25), sclérotés et apothécies (forme ascospores) (Gindo, 2000). Le mycélium comprend des filaments articulés, grisâtres ou olivâtres, cylindriques, quelquefois vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie considérablement suivant les conditions de développement des hyphes (Holz et al., 2004). Quand le mycélium devient fructifère (au bout d'un certain temps d'incubation (> 7j) sur milieu nutritif, il développe des touffes de conidiophores dressés grisâtres et présentant des ramifications à leur sommet (Fig. 26). L'émission de conidies débute sur la partie terminale puis sur les rameaux latéraux du conidiophore. Les macroconidies sont ovoïdes et les microconidies se présentent sous forme sphérique et sont de plus petite taille (2 à 4 µl) (Ghaleb, 1990).



**Figure 25 :** Conidies sur un conidiophore

(Gindo,2000)

**Figure 26 :** Conidiophore ramifié avec

conidies à un stade de développement homogène

(Gindo, 2000)

### III.2.4.3. Cycle biologique

Au cours de son cycle biologique (Fig. 27) *B. cinerea* peut produire du mycélium, des spores asexuées ou conidies, des spores sexuées ainsi que des sclérotés. Lorsque le mycélium est au stade de multiplication, il peut disparaître et laisser place à une prolifération mycélienne.

### Chapitre III : Aperçu sur la culture du fraisier et le botrytis

blanche qui correspond à l'élongation des hyphes grêles, hyalins qui se répandent sous forme de « toile » (Bourgin, 1965). Le mycélium peut se conserver dans les débris de plantes de la culture précédente. Lorsque les conditions deviennent favorables, *B. cinerea* fructifie pour donner des conidies. Ce champignon produit des conidies sur de très nombreux substrats. Le développement des conidies se manifeste par la production de conidiophores dressés en touffes souvent étendues, constituant un feutrage intense gris. Les conidies prennent une part importante dans la dissémination du champignon. Elles sont produites dès le printemps dans le cas de culture en plein champ. En revanche, elles peuvent être produites en continue, selon les conditions climatiques, dans le cas de culture sous abris. Leur libération est favorisée par climat humide, puis elles sont transportées par le vent, la pluie et les insectes (Holz et al., 2004).

Lorsque les conditions deviennent défavorables au développement de mycélium et de conidies, des sclérotes se forment. Ils sont constitués par du mycélium agrégé blanchâtre. En vieillissant, ils durcissent et deviennent noirâtres. Ils sont composés d'un cortex de cellules épaisses formant une mince barrière de cellules pseudo-parenchymateuses et d'une large médulla centrale composée d'hyphes filamenteux (Coley-Smith, 1980). Au printemps. Les sclérotes peuvent germer et produire du mycélium ou conidies. Ils peuvent également être à l'origine de la formation des apothécies (Coley-smith and Cooke, 1971).

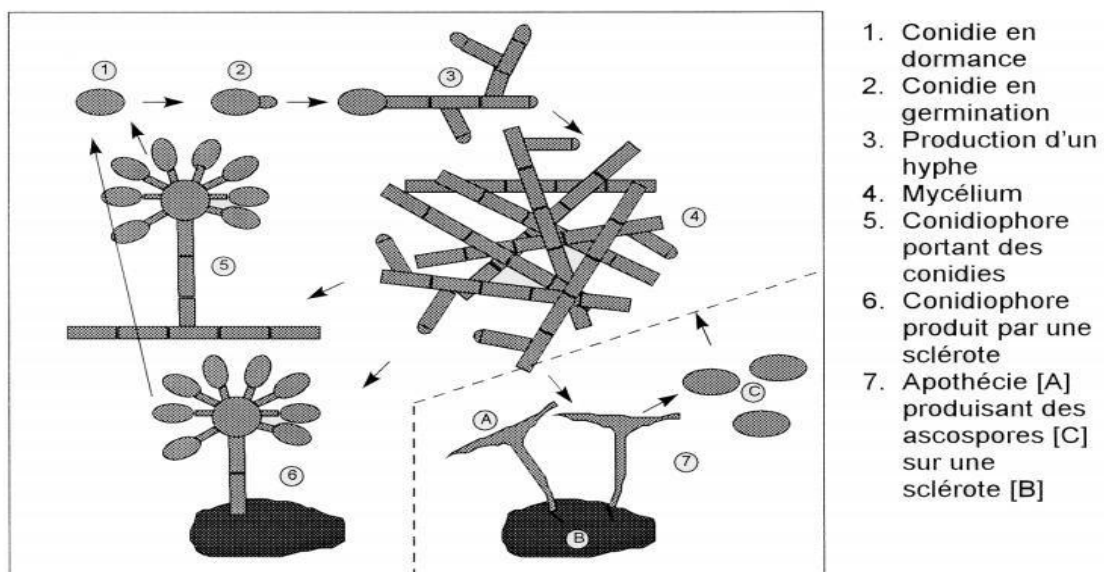


Figure 27 : Cycle biologique de *Botrytis cinerea* (Perret, 2001)

# **Chapitre IV :**

## **Matériel et méthodes**

### Chapitre IV : Matériel et méthodes

L'objectif de notre travail consiste à vérifier le potentiel antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* sur l'espèce phytopathogène *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise du fraisier.

#### IV.1. Matériel

##### IV.1.1. Matériel végétal

Les deux plantes aromatiques et médicinales utilisées dans notre étude comme sources des huiles essentielles étaient *Thymus vulgaris* (Fig. 28) et *Mentha spicata* (Fig. 29), deux plantes spontanées de la famille des *Lamiaceae*. Ces plantes ont été prélevées de la région de Bathia (pour le thym) et Djamaa Ouled chikhe (pour la menthe) de la wilaya de Ain Defla. L'identification de ces deux espèces végétales était faite au niveau le Département des Sciences Agronomiques de l'université de Khemis Miliana.



**Figure 28:** *Thymus vulgaris* L.

(Originale, 2016)



**Figure 29:** *Mentha spicata* L.

(Originale, 2016)

### IV.1.2. Matériel fongique

Le matériel fongique, objet d'étude, était présenté par des souches du champignon responsable de la pourriture grise à savoir *Botrytis cinerea*. Ces souches ont été isolées des fraises de la variété *NABILA* (origine italique) présentant des symptômes de botrytis qui sont des feutrages et des pourritures grises (Fig. 30). Ces fraises infectées ont été collectées à partir d'une culture sous-serre située dans la région de Mouzaia (wilaya de Blida).



**Figure 30:**Fraises infectées par *Botrytis cinerea* (Originale, 2016)



**Figure 31 :** Fraise saine (Originale, 2016)

### IV.1.3. Matériel du laboratoire

Plusieurs outils et appareils ont été utilisés dans notre expérimentation (Fig. 32).





**Figure 32:** Outils et appareils utilisés dans notre étude (Originale, 2016)

1 : Four Pasteur ; 2 : Micropipette de 10µl ; 3 : Boîtes de Pétri ; 4 : Bain marie ; 5 : Etuve ; 6 : Bécher ; 7 : Flacons ; 8 : Balance de précision ; 9 : Bec bunsen ; 10 : Microscope optique ; 11 : Plaque chauffante ; 12 : Pince ; 13 : Ependorffs ; 14 : Seringue

## IV.2. Méthodes d'étude

### IV.2.1. Présentation des sites prospectés

La région de Bathia est située à 72 km au sud-ouest de Ain Defla, à une altitude de 1 031 m, une latitude de 35° 54' 58" nord et une longitude de 1° 50' 21" est. Alors que celle de Djamaa Ouled Chikhe est localisée à 51 km au sud-ouest de la wilaya de Ain Defla, à une latitude de 36° 4' 40" nord, une longitude de 2° 0' 18" est et une altitude de 522 m (Fig. 33). Ces deux sites sont caractérisés par un climat méditerranéen avec été chaud.

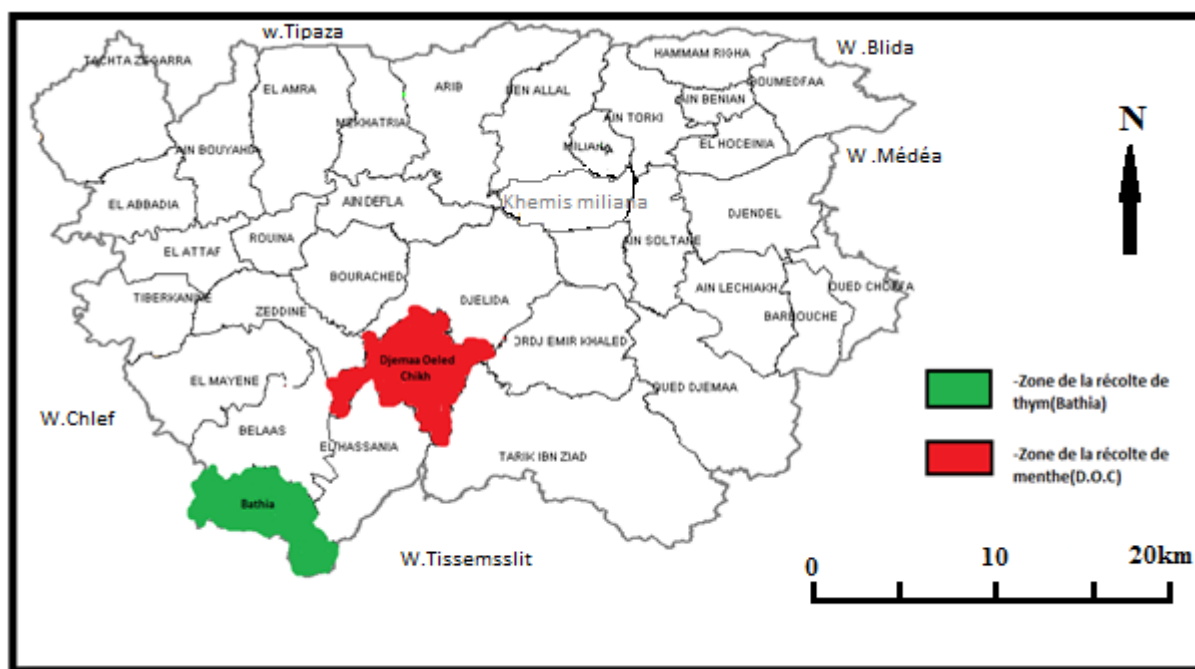


Figure 33 : Localisation des régions de la récolte des lamiacées étudiées (ANDI, 2013)

### IV.2.2. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

#### IV.2.2.1. Récoltes des plantes

La récolte de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* a été faite au stade début de floraison d'une manière aléatoire au mois d'octobre 2015. Les échantillons prélevés ont été par la suite, mis dans des sachets en plastique et portés directement au laboratoire pour être desséchés.

### IV.2.2.2. Séchage et conservation

Les échantillons ou les branches de thym collectés ont été regroupés et mis dans un endroit chaud, sec, ombragé et aéré, à 5cm du sol (la partie supérieure en bas) (Fig. 34) (Anonyme, 1998). Devenus secs (Fig. 35), ils ont été récupérés dans des sacs en papier pour servir ultérieurement à l'extraction des huiles essentielles.



**Figure 34** : Séchage des plantes de thym (Originale, 2016)



**Figure 35** : Echantillons de thym secs (Originale, 2016)



Pour la menthe, les feuilles, fraîchement récoltées, ont été séchées à l'ombre, dans un endroit sec et aéré pendant environ 15 jours (Fig. 36). Devenues sèches elles ont été récupérées dans des sacs en papier jusqu'à utilisation.



**Figure 36:** Echantillons de la menthe secs (Originale, 2016)

### IV.2.2.3. Extraction des huiles essentielles

D'après **Guenther (1949)**, les huiles essentielles sont obtenues le plus souvent par distillation. Une masse de 50 g des feuilles sèches de thym et de la menthe a été mise dans un ballon à fond rond, additionnée de 500 ml de l'eau distillée. L'ensemble a été porté à ébullition pendant environ une heure et demi. L'huile essentielle a été entraînée par la vapeur d'eau, puis condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli présente une couche d'huile mince à la surface. Cette dernière a été récupérée dans des épendorffs (Fig.37).



**Figure 37:** Hydrodistillateur de type Clevenger (Originale, 2016)

#### IV.2.2.4. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues après extraction des feuilles de *Thymus vulgaris* L. et de *Mentha spicata* L. ont été conservées dans des épendorffs bien fermés au réfrigérateur (4°C). Ces derniers ont été couverts par un papier aluminium pour préserver les huiles essentielles de l'air et de la lumière (Fig. 38).



**Figure 38 :** Ependorffs couverts par un papier aluminium (Originale, 2016)

a : *Thymus vulgaris* ; b : *Mentha spicata*

### IV.2.3. Isolement, repiquage et identification

#### IV.2.3.1. Isolement et repiquage

Dans un premier temps, une identification du champignon isolé des fraises de la variété « Nabila » atteintes de la pourriture grise a été réalisée en se basant sur des critères microscopiques (thalle, spores, ...) et en s'aidant d'une clé d'identification proposée par **Botton (1990)** afin de réaliser un premier screening permettant de classer les différentes souches isolées selon leur genre. Pour se faire, dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une anse stérile, un échantillon mince du feutrage mycélien présents sur les fraises infectées a été prélevé et mis dans une goutte de l'eau distillée stérile entre lame et lamelle puis observé sous microscope optique aux différents grossissements.

Les isolats identifiés de *Botrytis cinerea* ont été cultivés sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) déjà préparé (Annexe 02) et incubés durant 7 à 10 jours à 25°C à l'obscurité. Puis, ils ont subis des repiquages successifs.

#### IV.2.3.2. Identification

- **Macroscopique**

L'observation macroscopique est une technique utilisée en microbiologie pour qualifier une souche fongique. Les caractères morfo-cultureux pris en considération sur milieu de culture solide, pour identifier le champignon isolé, sont la couleur, le contour, le relief, la consistance, l'aspect, la surface et la taille, ainsi que la croissance (rapide, moyenne, ...) (**Botton et al., 1990**).

- **Microscopique**

L'observation microscopique des champignons à étudier la morphologie d'une colonie au niveau de laquelle les pycnide, asque, zygosporés, sclérotés, chlamydosporés et basides et sont identifiés. Les spores, ainsi que leurs dispositions (solitaire, chaîne, bouquet) sont observées.

L'observation au microscope optique a été effectuée aux différents grossissements (GX 4, GX10, GX 40) et par immersion à (GX 100). Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium (absence ou présence de cloisons,

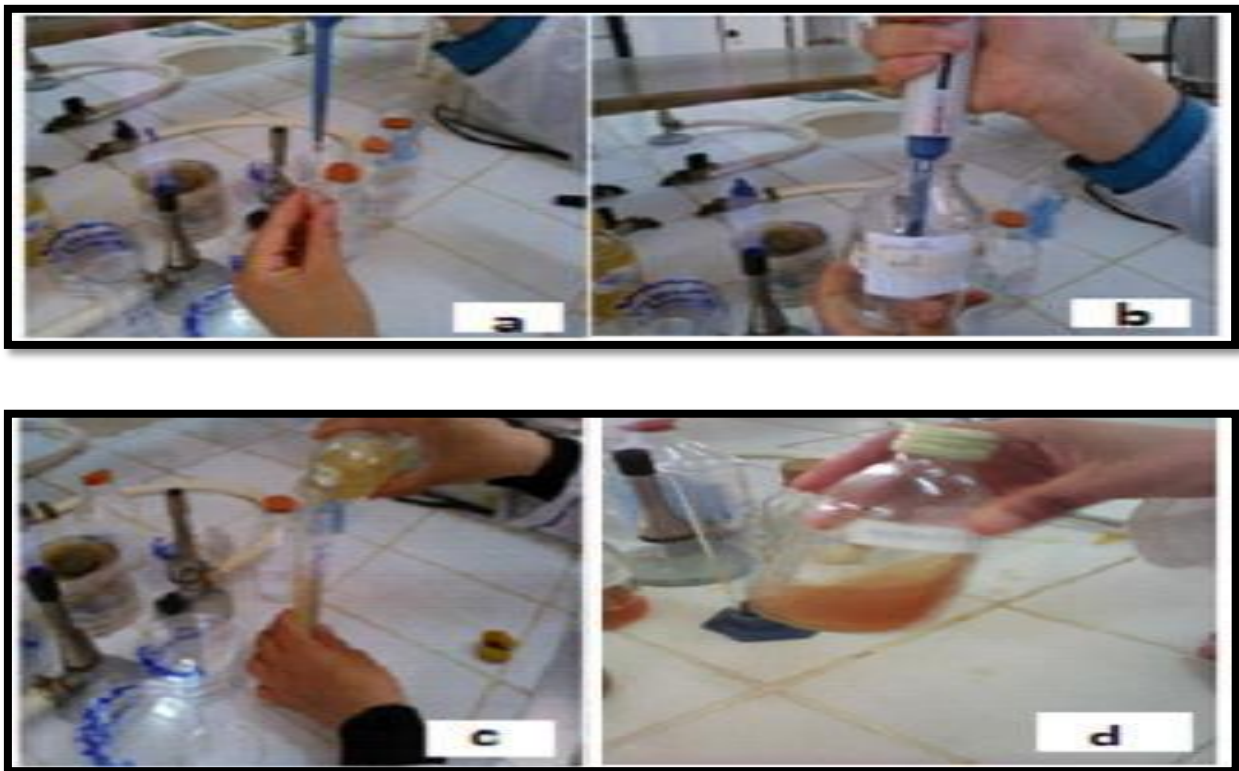
couleur, différenciation,...) et des spores (forme, couleur, texture des parois) (Guiraud, 1998).

### IV.2.4. Mise en évidence du potentiel antifongique des huiles essentielles

Pour la réalisation du test antifongique, nous avons adopté la méthode de contact direct décrite par Mishra et Dubey(1994).

#### IV.2.4.1. Préparation des différentes concentrations

Pour préparer les différentes concentrations utilisées dans le test fongicide, des quantités de 01  $\mu$ l, 03  $\mu$ l et 05  $\mu$ l des huiles essentielles de *M. spicata* et *Thymus vulgaris* ont été mises dans des flacons et ajustées à 50 ml par le milieu PDA. Par la suite, le contenu a été agité durant 5 minutes pour être homogénéiser(Fig.39).

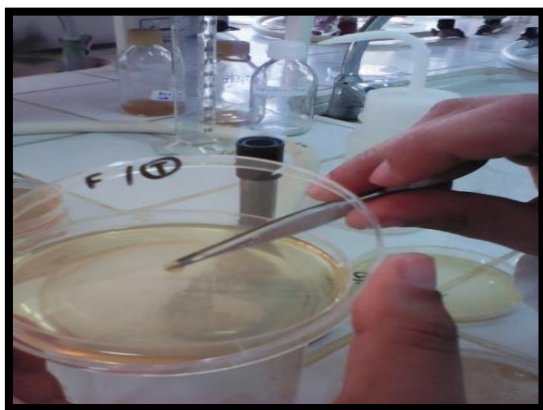


**Figure 39** : Préparation des différentes concentrations pour le test fongicide  
(Originale, 2016)

a : Prélèvement de l'huile essentielle ; b : Dépôt de l'huile essentielle dans un flacon ; c :  
Ajouter du milieu PDA ; d : Agitation du contenu (huile+PDA)

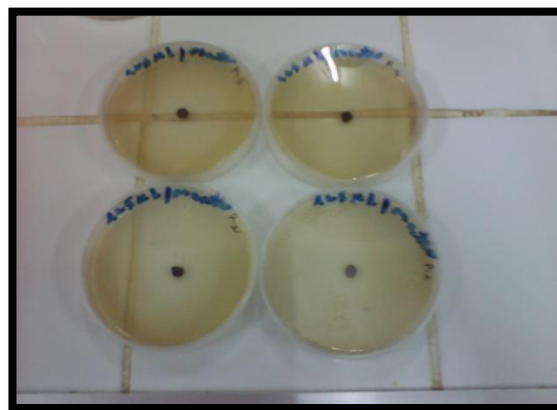
### IV.2.4.2. Application des disques mycéliens

Un volume de 15 ml de mélange (PDA + HE) a été coulé dans des boîtes de Pétri. Après refroidissement et solidification, des disques mycéliens de 05 mm de diamètre issus de la marge d'une culture de *Botrytis cinerea* âgée de 07 jours ont été prélevés avec un emporte pièce et inclus au centre de chaque boîte (1 disque par boîte) (Fig. 40). Chaque concentration a été répétée 03 fois (Fig. 41). Les boîtes ont été ensuite incubées dans d'obscurité à une température de 28°C. Une boîte témoin a été réalisée dans les mêmes conditions sans aucune huile essentielle. Les mesures ont été faites après 72 h d'incubation.



**Figure 40** : Dépôt des disques mycéliens

(Originale, 2016)



**Figure 41** : Répétitions avec témoin

(Originale, 2016)

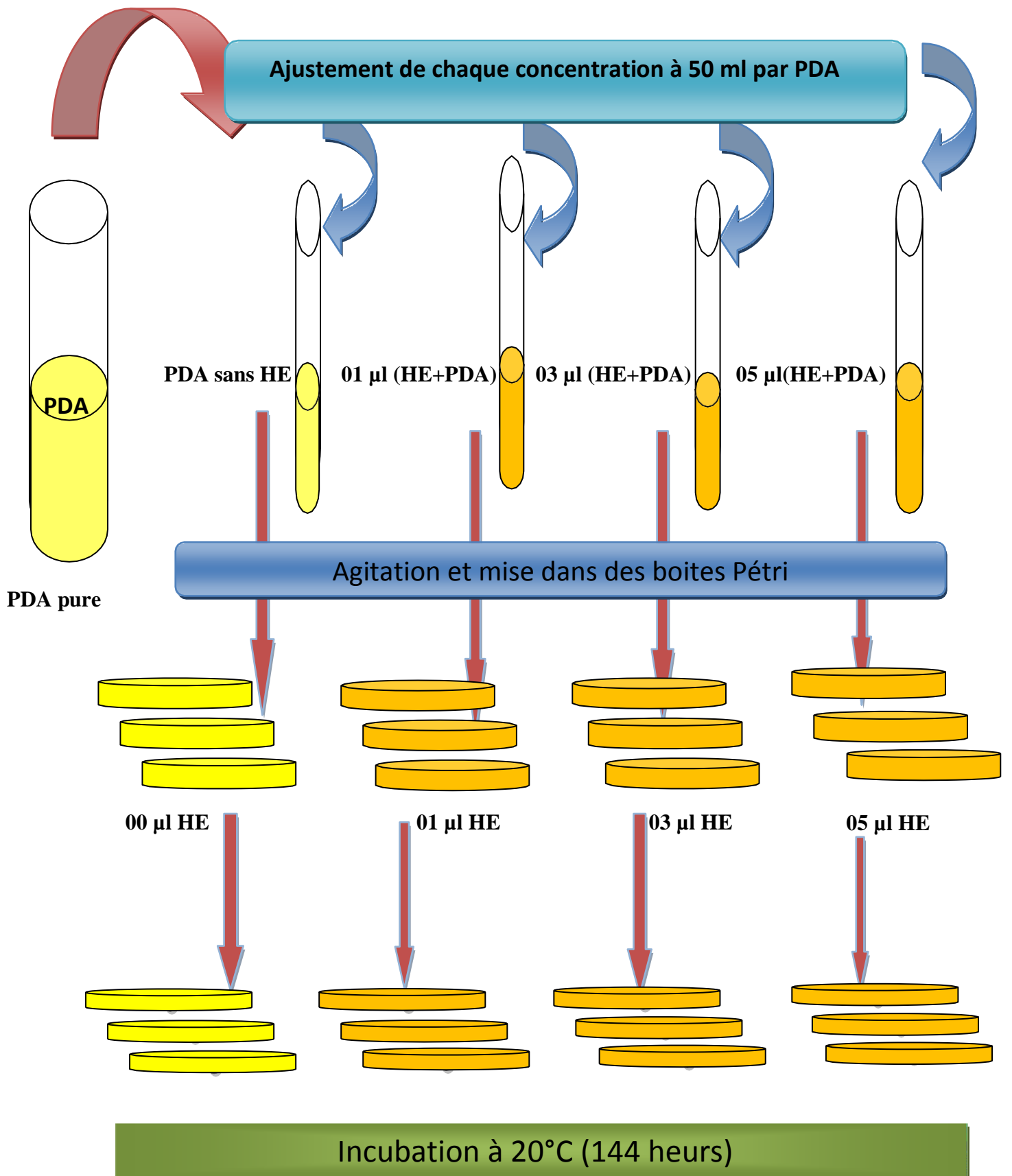


Figure 42: Protocole expérimentale de l'essai antifongique



#### IV.2.4.3. Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse le diamètre des colonies mycéliennes (diamètre de disque incluse) suivant deux droites perpendiculaires au disque passant par le milieu (Fig. 43). Cette lecture a été toujours (durant 7 jours) réalisée en comparaison avec les cultures témoins. Toute pousse même légère de champignon sera considérée comme action négative, c'est à dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique.

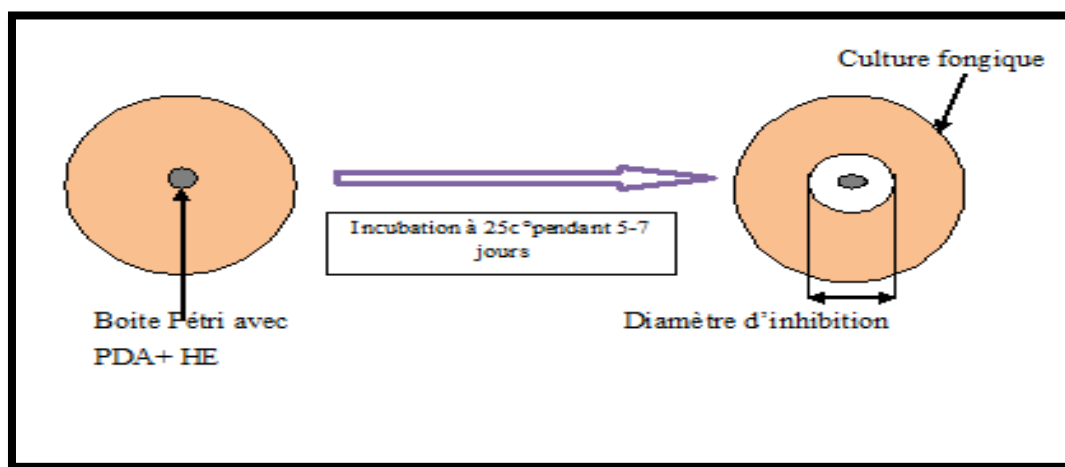





Figure 43 : Principe de la méthode de la diffusion par puits

Les résultats obtenus peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité de la souche fongique vis-à-vis des huiles essentielles (Ponce *et al.*, 2003) :

Non sensible ou résistante(-)		D < 8mm
Sensible(+)		9 mm > D > 14mm
Très sensible(++)		15 mm > D > 19mm
Extrêmement sensible(+++)		D > 20mm

### IV.2.4.4. Calcul de l'indice antifongique

Après incubation, en tenant compte de la croissance dans la boîte du témoin, l'indice antifongique (concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne) a été calculé par la formule suivante (Chang *et al.*, 1999) :

$$IA = (1 - Da/Db) \times 100$$

**IA** : Indice antifongique

**Da**: Diamètre de la zone de croissance de l'essai

**Db**: Diamètre de la zone de croissance du témoin

### IV.2.4.5. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne(VC)

La vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration était déterminée par la formule ci dessous :

$$VC = [D_1/Te_1] + [(D_2 - D_1)/Te_2] + [(D_3 - D_2)/Te_3] + \dots + [(D_u - D_{u-1})/Te_u]$$

**D** : Diamètres de la zone de croissance de chaque jour

**Te** : Temps d'incubation

### IV.2.5. Analyse statistique

Pour la détermination de la signification des résultats, une analyse statistique des données a été réalisée par le logiciel Statistix 9.0. L'analyse de la variance (ANOVA) au seuil de 5% a été effectuée avec deux facteurs à savoir : Facteur 1 (plante à deux niveaux *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata*), facteur 2 (dose à quatre niveaux D0, D1, D2 et D3). La comparaison des moyennes des différentes huiles essentielles a été faite par le test Newman et Keuls au seuil P = 5% (Mouellef, 2010):

- Différence non significative : p >0.05
- Différence significative : p <0.05
- Différence hautement significative : p <0.01
- Différence très hautement significative : p <0.001



# **Chapitre V:**

## **Résultats et discussions**

### Chapitre V: Résultats et discussions

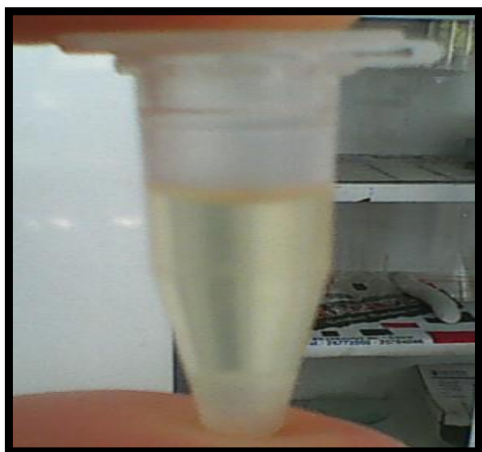
#### V.1. Caractéristique organoleptiques des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata*

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles (HE) obtenus à partir des lamiacées *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* sont récapitulées dans le tableau 04 .

**Tableau 04** : Propriétés organoleptiques des HE de *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata*

<b>Caractéristiques organoleptiques</b>	<b>HE de <i>Thymus vulgaris</i></b>	<b>HE de <i>Mentha spicata</i></b>
Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile
Couleur	Brun clair	Jaune ambré à jaune verdâtre
Odeur	Aromatique, légèrement épicée	Rosée plus ou moins menthée

Les résultats obtenus durant notre expérimentation montrent que les HE extraits à partir de la partie aérienne des deux plantes lamiacées ont un aspect liquide mobile, d'une odeur aromatique, légèrement épicée pour la thym et rosée plus ou moins menthée pour la menthe verte. La couleur de ces HE était brun clair (thym) et jaune ambré à jaune verdâtre (menthe verte) (Fig. 44 et 45).



**Figure 44:** Huile essentielle du thym

(Originale, 2016)



**Figure 45:** Huile essentielle de la menthe verte

(Originale, 2016)

Nos résultats sont presque en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR (2000)** (Tableau 05). Les quelques différences observés dans la couleur et l'odeur de la menthe verte peuvent être dues aux régions et aux conditions climatiques différentes des lieux de prélèvement des plantes lamiacées (**AFNOR ,2000**).

**Tableau 05 :** Propriétés organoleptiques des HE de *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* selon les normes AFNOR

<b>Caractéristiques organoleptiques</b>	<b>HE du Thym AFNOR (2000)</b>	<b>HE de la menthe verte AFNOR (2000)</b>
Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile
Couleur	Couleur allant du brun au brun-rouge	Brun clair
Odeur	Odeur caractéristique aromatique, phénolique(thymol) avec un fond légèrement épicée	Caractéristique, aromatique, légèrement épicée

### V.2. Identification de la souche fongique testée

#### V.2.1. Symptomatologie

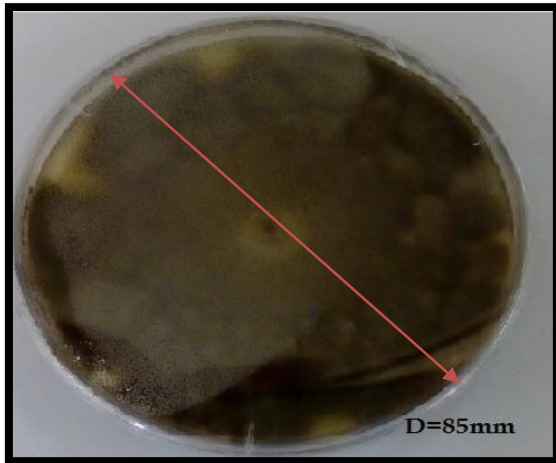
Les symptômes observés sous serre sur toutes les parties de la plante (tiges, feuilles, fleurs et fruits) du fraisier étaient des symptômes typiques de la pourriture grise provoquée par *Botrytis cinerea*. Ils ont été présentés par des taches grisâtres à noirâtres, un feutrage et une pourriture grise selon le stade de développement (Fig. 46).



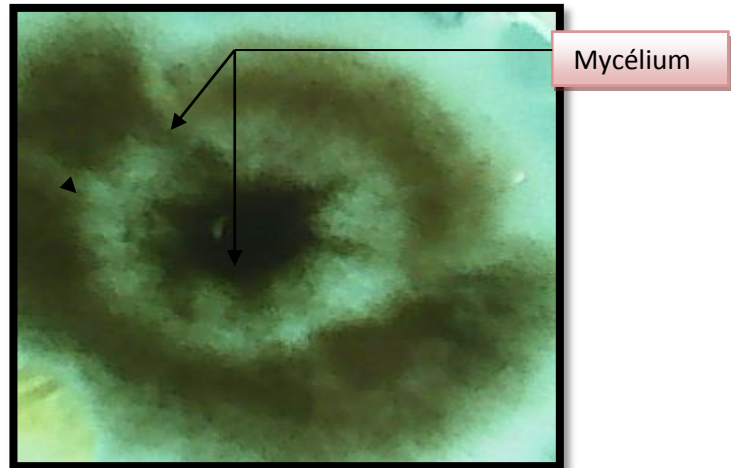
**Figure 46:** Symptômes de pourriture grise sur feuilles et fruits du fraisier (Originale., 2016).

#### V.2.2. Caractéristiques macroscopiques

Après incubation de 7 jours à 25°C à l'obscurité, un feutrage mycélien a été développé dans les boîtes de Pétri sur le milieu PDA (Fig. 47). Ce feutrage était d'une couleur grise noirâtre et d'un diamètre de 85 mm ce qui explique une croissance rapide (16 mm après 24 heures). Il était caractérisé par un aspect poudreux et gonflé et un contour irrégulier (Fig. 48). Ces propriétés rappellent ceux de *Botrytis cinerea*.



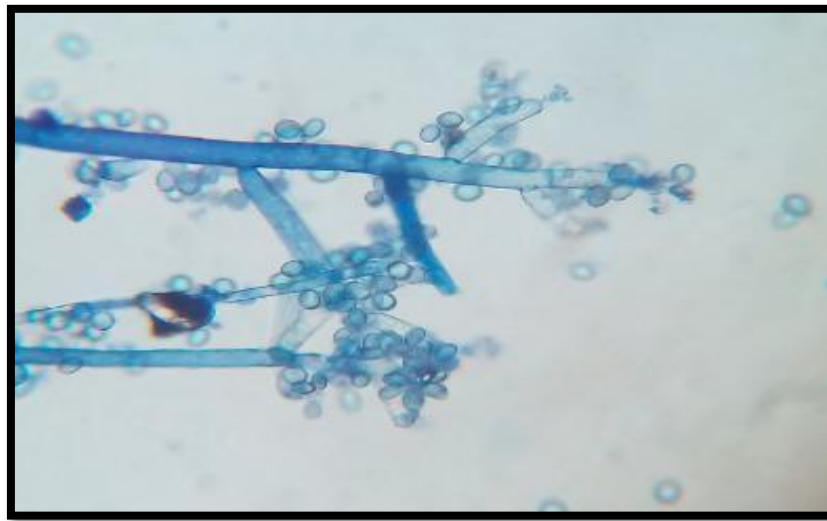
**Figure 47 :** Croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* sur milieu PDA  
(Originale, 2016)



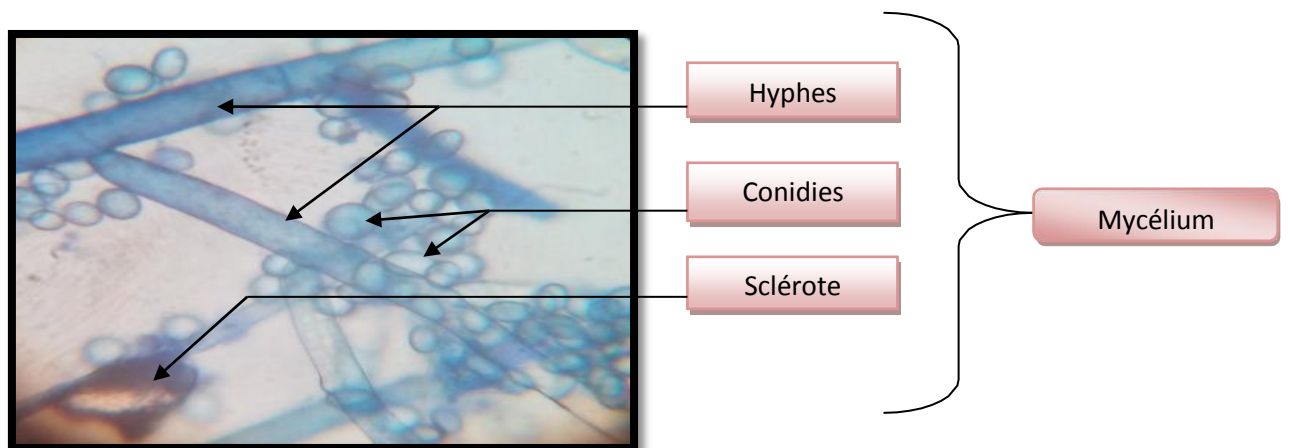
**Figure 48 :** Mycélium de *Botrytis cinerea*  
(Originale, 2016)

### V.2.3. Caractéristiques microscopiques

L'observation microscopique a permis de voir un mycélium qui se présente sous forme d'une toile blanchâtre et grisâtre comprenant des filaments articulés dont le diamètre varie en fonction des conditions de développement des hyphes (Fig. 49). Ce mycélium développe des touffes de conidiophores dressés grisâtres (grise brunâtre ou grise cendré) et présentant des ramifications à leur sommet. L'émission de conidies débute sur la partie terminale puis sur les rameaux latéraux du conidiophore. Les macroconidies sont ovoïdes contrairement aux microconidies (encore appelées spermaties) qui, elles, se présentent sous forme sphérique et de plus petite taille (2 à 4  $\mu\text{m}$ ). Des sclérotes ont été aussi observés. (Fig. 50). En se basant sur la clé de détermination de **Botton (1990)**, ces caractéristiques confirment que le champignon testé et prélevé à partir des fraises infectées est bien *Botrytis cinerea*.



**Figure 49** : Observation microscopique de *Botrytis cinerea* (G10 x 40) (Originale, 2016)



**Figure 50** : Différentes parties de *Botrytis cinerea* observé sous microscope optique (G x 100) (Originale, 2016)

### V.3. Pouvoir antifongique

#### V.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne

##### V.3.1.1. Calcul des diamètres des colonies mycéliennes

La méthode de contact direct décrite par **Mishra et Dubey (1994)** a permis d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* sur la

## Chapitre V : Résultats et discussions

souche fongique *Botrytis cinerea*. Cette activité a été caractérisée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Ainsi, les diamètres des colonies mycéliennes ont été mesurés et sont présentés dans les tableaux 06 et 07.

**Tableau 06 :** Croissance mycélienne (en mm) de *Botrytis cinerea* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Thymus vulgaris* L.

	<b>72 h</b>	<b>96 h</b>	<b>120h</b>	<b>144h</b>
<b>Témoin (0%)</b>	62,3	65	66	73,3
<b>0,01%</b>	48	49,6	54,6	58,3
<b>0,03%</b>	34,3	35,6	37,6	39,3
<b>0,05%</b>	23	24,6	26,3	27,6

**Tableau 07:** Croissance mycélienne (en mm) de *Botrytis cinerea* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle de *Mentha spicata* L.

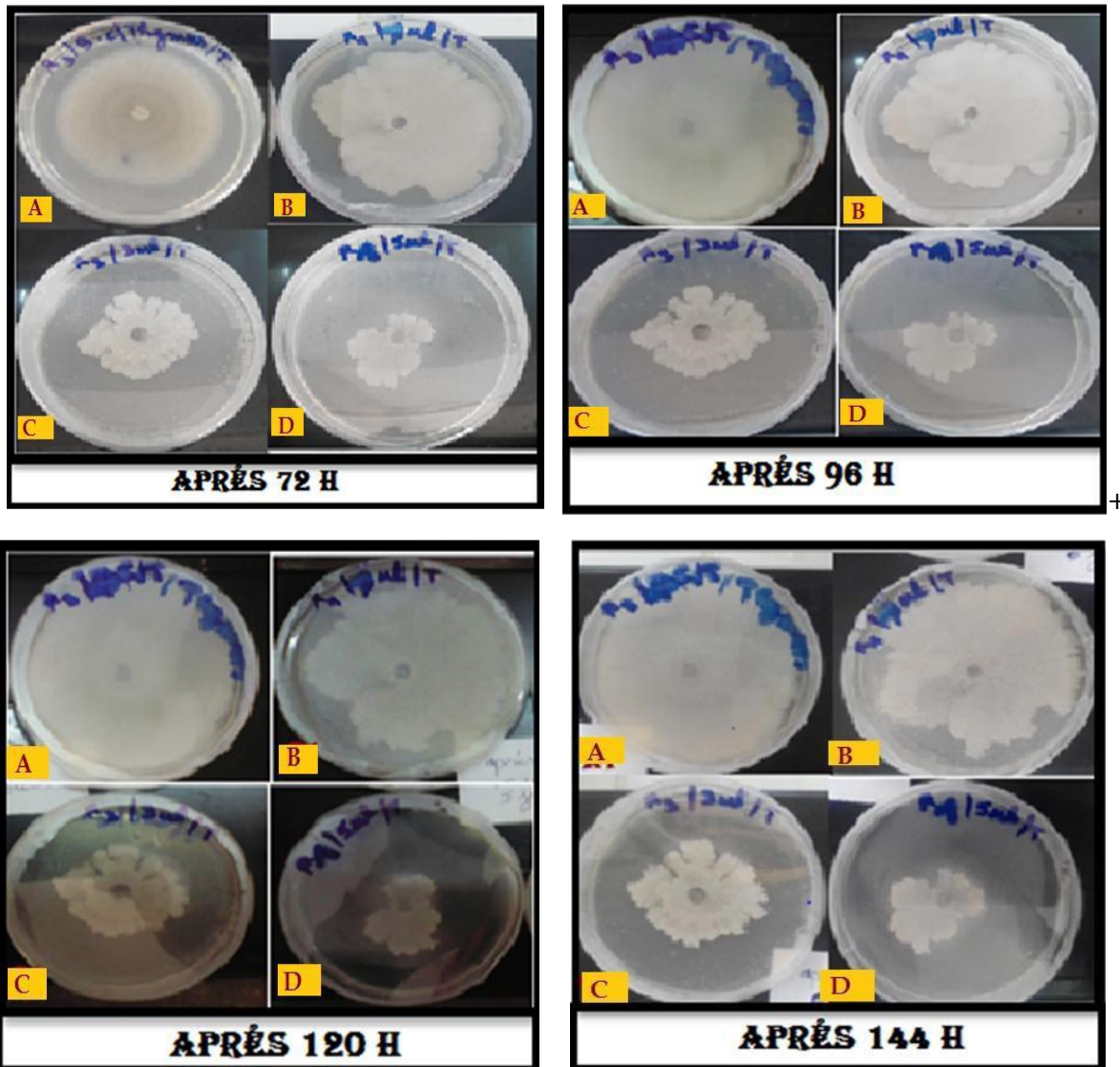
	<b>72 h</b>	<b>96 h</b>	<b>120h</b>	<b>144h</b>
<b>Témoin (0%)</b>	58	59,3	61,6	64,3
<b>0,01%</b>	28	31	35,6	38,3
<b>0,03%</b>	24,3	25,6	27	28,3
<b>0,05%</b>	15,6	17	18,3	19,3

Selon les tableaux ci-dessus les diamètres mesurés des colonies mycéliennes ont été différents, en fonction du temps d'incubation, d'une dose à une autre ainsi d'une huile essentielle à une autre. Pour le thym, ces diamètres variaient de 23 mm avec la dose 0,05% après 72 heures d'incubation à 73,3 mm avec la dose 0% (témoin) après 144 heures d'incubation. Cependant et pour la menthe verte, ils étaient de 15,6 et 64,3 mm avec les doses 0,05% et 0% et après des durées d'incubation de 72 et 144 heures, respectivement.



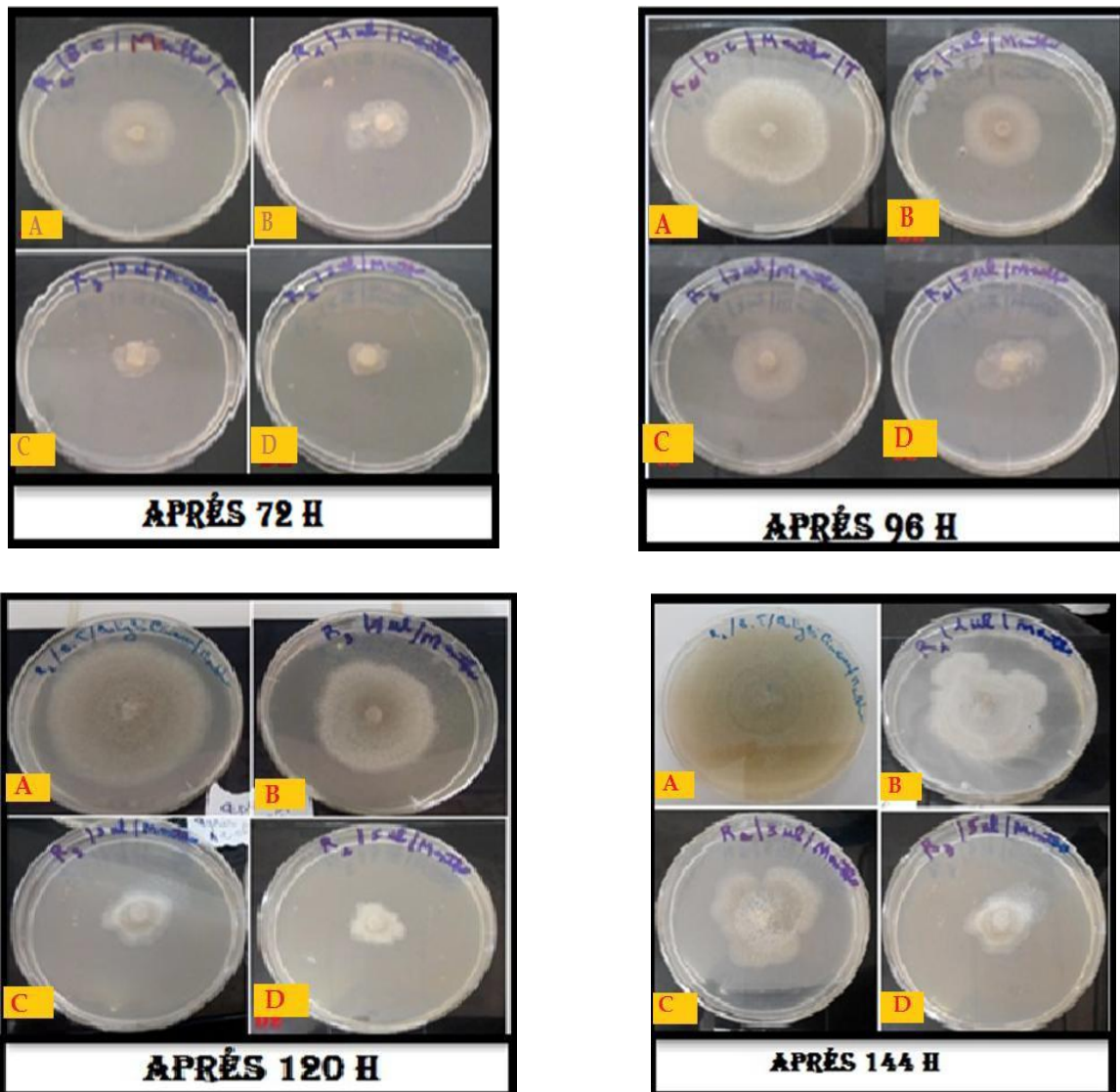
## Chapitre V : Résultats et discussions

Avec les différentes concentrations des huiles essentielles extraites, on a remarqué que la croissance mycélienne était remarquable après 144 heures d'incubation. Cette croissance a augmenté progressivement avec le temps d'incubation et avec la diminution des doses (Fig. 51 et 52).



**Figure 51 :** Croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* après 72h, 96h, 120h et 144 h d'application des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. (Originale, 2016)  
A: 0% d'HE (témoin); B: 0,01% d'HE; C: 0,03% d'HE; D: 0,05% d'HE





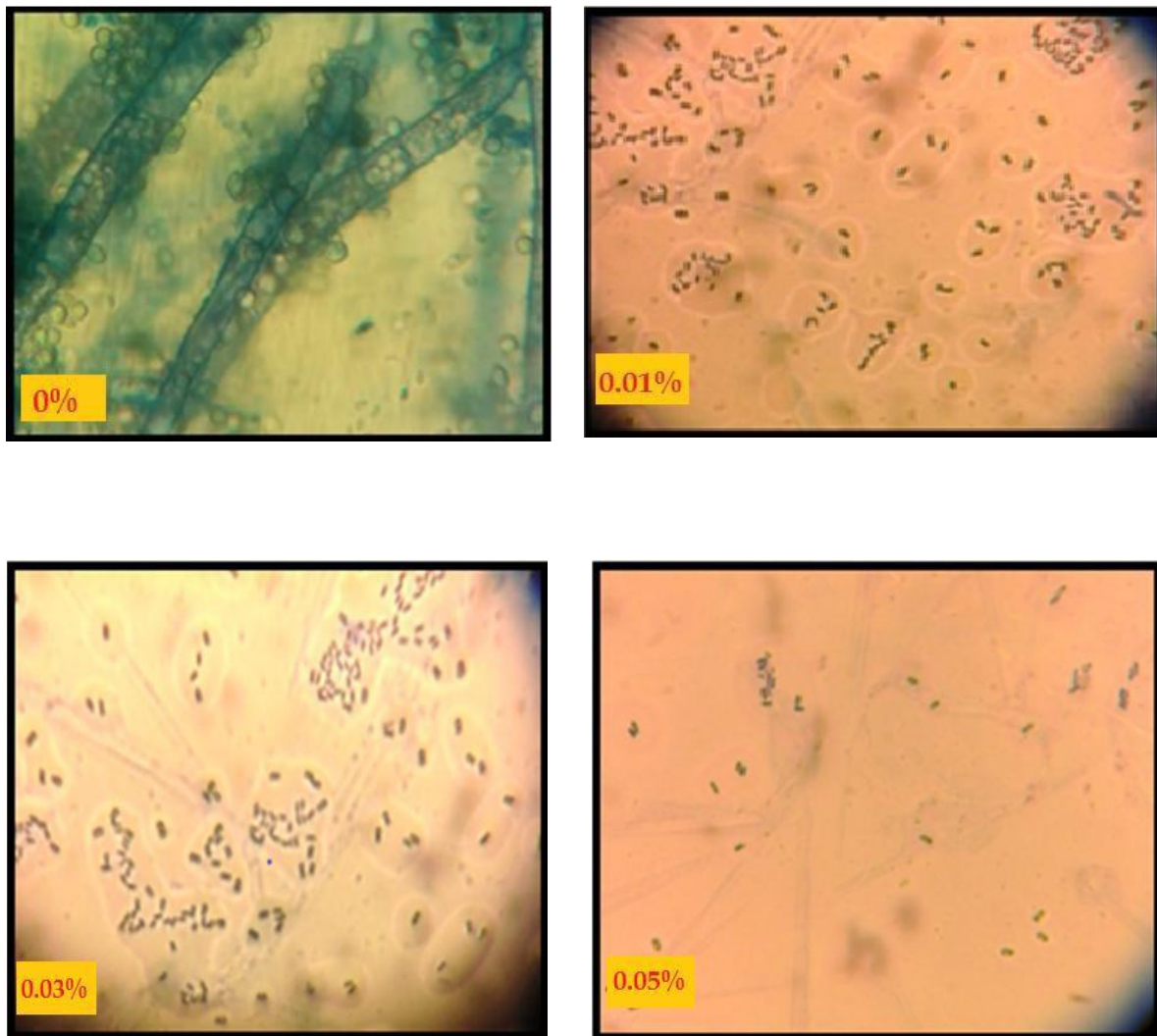
**Figure 52 :** Croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* après 72h, 96h, 120h et 144h d'application des huiles essentielles de *Mentha Spicata* L. (Originale, 2016)

A: 0% d'HE (témoin); B: 0,01% d'HE; C: 0,03% d'HE; D: 0,05% d'HE

D'après les figures, on peut noter qu'il ya un changement morphologique et de la couleur des mycéliums qu'ils variaient du blanc, au jaune, brun et gris. Le témoin (0% d'HE), a présentait une couleur de base des colonies blanc tourné par gris cendré après 96 h avec 01µl d'HE en fonction de l'augmentation de la taille du mycélium. Ce changement de couleur peut être dû à la qualité et à la concentration des huiles essentielles ou bien aussi à la durée d'incubation et au type de champignon testé (Billerbeck et al.,2002).

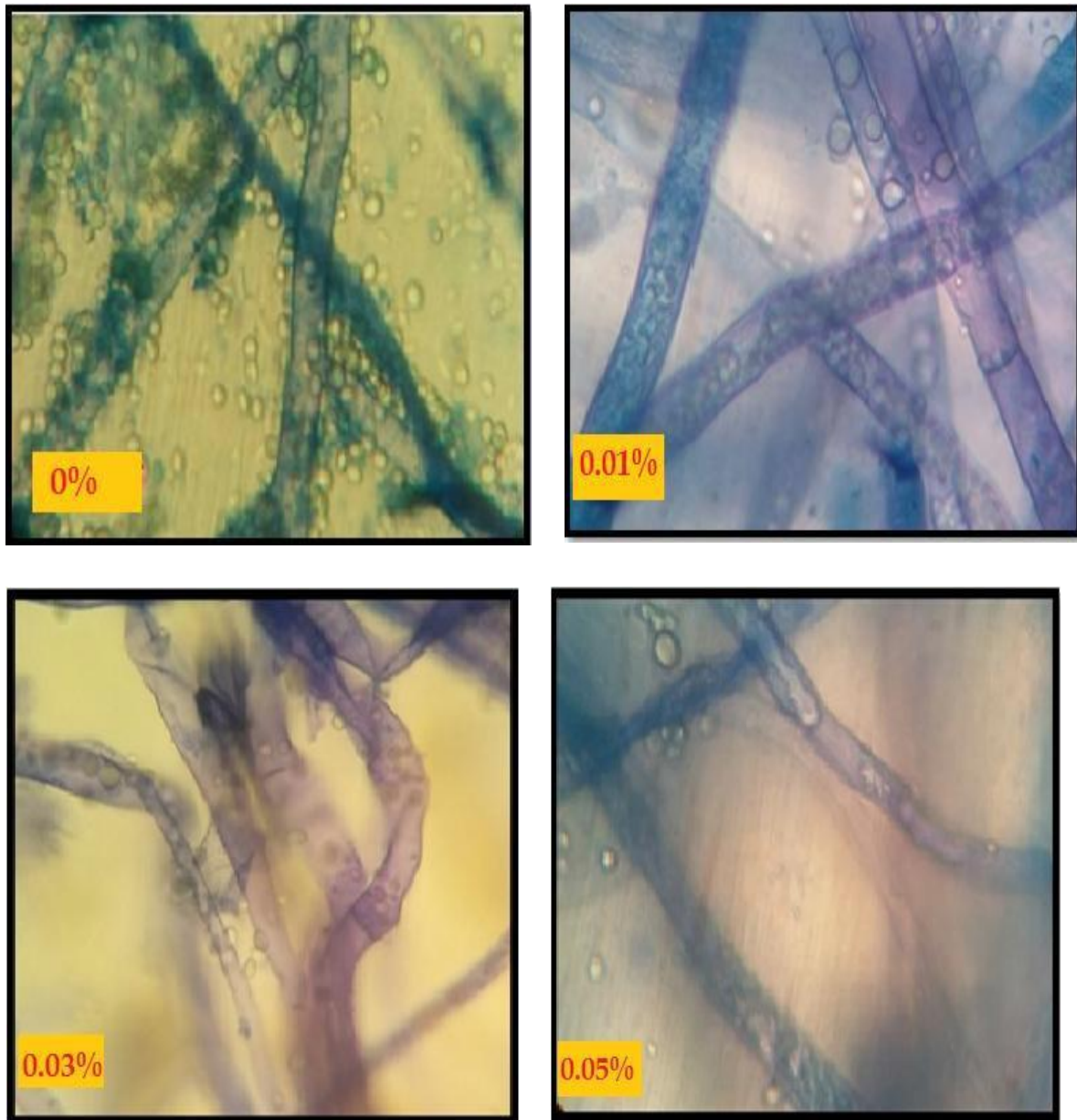
### V.3.1.2. Observation microscopique des colonies mycéliennes

L'observation microscopique des colonies mycéliennes développées après application des huiles essentielles de *T. vulgaris* et *M. spicata* et par comparaison avec le témoin a montré une diminution dans les diamètres et le nombre des hyphes, la taille et le nombre des conidies et des spores ainsi que la couleur à chaque fois que la dose des huiles essentielles augmente (Fig. 53 et 54).



**Figure 53 :** Aspect microscopique de *Botrytis cinerea* avant (0%) et après le traitement par les doses 0,01%, 0,03% et 0,05% de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* L.

(Originale, 2016)



**Figure 54 :** Aspect microscopique de *Botrytis cinerea* avant (témoin) et après le traitement par les doses 0,01%, 0,03% et 0,05% de l'huile essentielle de *Mentha spicata* L.

(Originale, 2016)

Le témoin (0%) a présenté des mycéliums ayant une apparence d'aiguille, des structures transparentes avec des endroits gris et des conidies de grande taille, arrondies et de couleur jaune foncé. Les autres concentrations (0.01%, 0.03% et 0.05%) ont donné des

## Chapitre V : Résultats et discussions

structures transparentes petites (hyphes) et de très petites conidies de couleur brun foncé particulièrement avec les huiles essentielles de thym. Ce résultat est comparable à celui de **Uribe et al., (1985)**.

### V.3.1.3. Degré de sensibilité de *Botrytis cinerea* aux différentes huiles essentielles appliquées

Les résultats obtenus peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité de la souche fongique vis-à-vis des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* (Tableau 08). Les valeurs indiquées sont les moyennes des quatre diamètres mesurés après 72 h (temps nécessaire au développement du champignon dans toutes les concentrations).

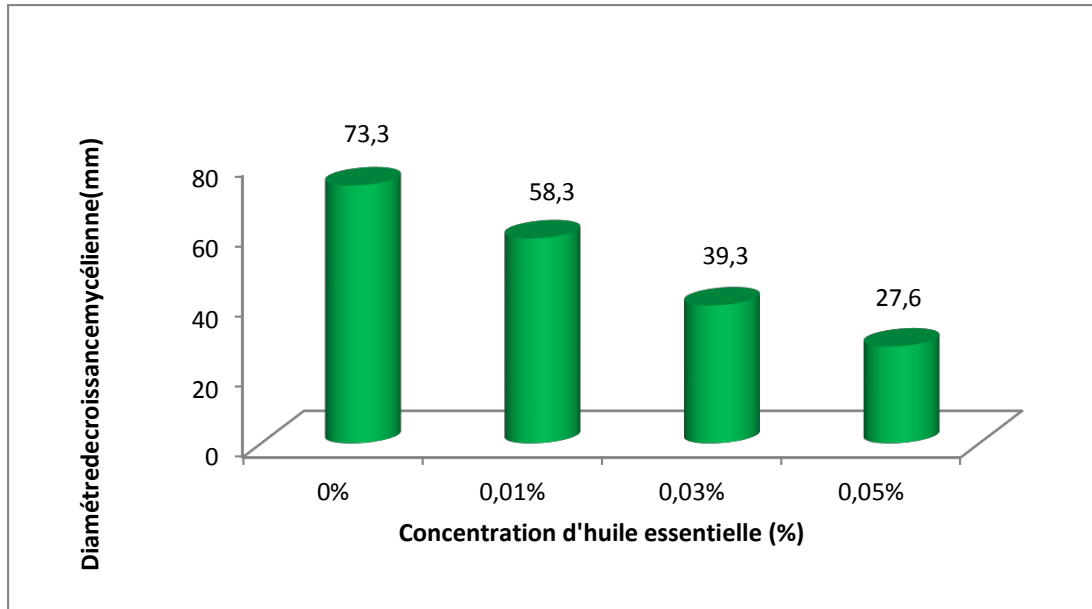
**Tableau 08** : Degré de sensibilité de *B. cinerea* vis-à-vis des huiles essentielles de *T. vulgaris* et de *M. spicata*

Doses	Diamètres de la zone d'inhibition (en mm)	Sensibilité à l'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i>	Diamètres de la zone d'inhibition (en mm)	Sensibilité à l'huile essentielle de <i>M. spicata</i>
<b>Témoin (0%)</b>	62,3	Extrêmement sensible (+++)	58	Extrêmement sensible (+++)
<b>0,01%</b>	48	Extrêmement sensible (+++)	28	Extrêmement sensible (+++)
<b>0,03%</b>	34,3	Extrêmement sensible (+++)	24,3	Extrêmement sensible (+++)
<b>0,05%</b>	23	Extrêmement sensible (+++)	15,6	Très sensible (++)

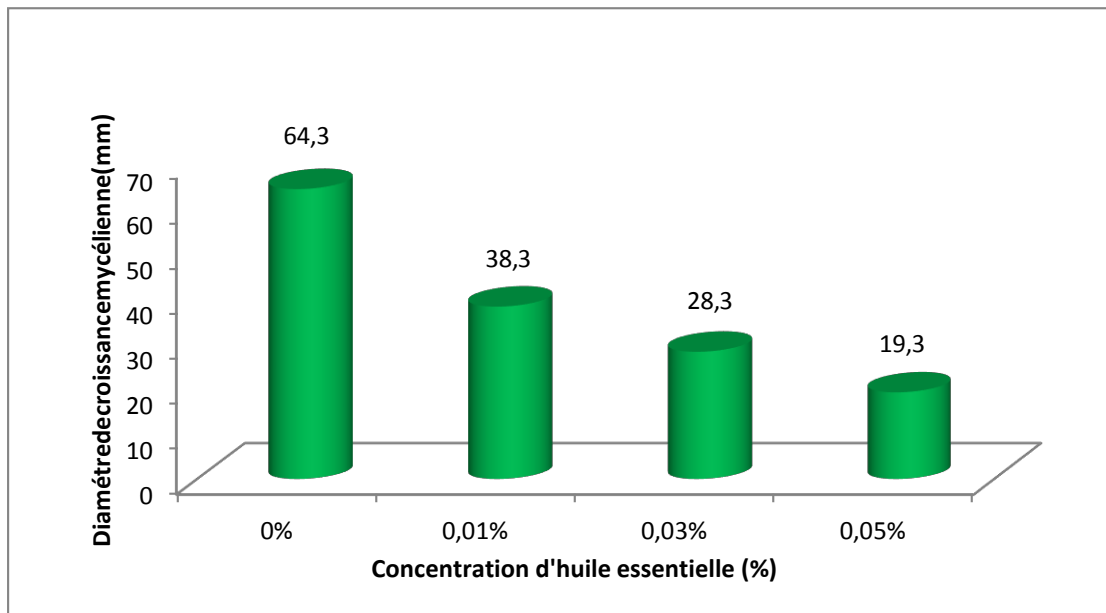
D'après ces résultats, on peut dire que l'huile essentielle de *M. spicata* est fortement inhibitrice de la croissance mycélienne de *B. cinerea* que celle de *T. vulgaris*. Donc, cette souche fongique est très sensible aux huiles essentielles de *M. spicata* que celles de *T. vulgaris*. Ce résultat a été confirmé par de nombreuses expériences telle que celle de **Amaral et al. (1998)** qui ont montré que les champignons présentent généralement une sensibilité importante vis à vis des huiles essentielles.

### V.3.1.4. Inhibition de la croissance mycélienne

L'effet inhibiteur des différentes concentrations des huiles essentielles des deux plantes lamiacées étudiées sur la croissance mycélienne de la souche fongique *B. cinerea* après 7 jours d'incubation est illustré par les figures 55 et 56.



**Figure 55:** Effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur *B. cinerea* après 7 jours d'incubation.



**Figure 56:** Effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur *B. cinerea* après 7 jours d'incubation.



## Chapitre V : Résultats et discussions

Les figures 55 et 56 montrent qu'après 7 jours d'incubation, la croissance mycélienne de *B. cinerea* décroît en parallèle avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles pour les deux plantes utilisées. La plus grande croissance mycélienne a été enregistrée à la concentration 0% (témoin : absence d'huile essentielle) alors que celle la plus faible a été notée avec la concentration 0.05%.

De ces figures, il apparaît clairement que les huiles essentielles de la menthe verte sont plus efficaces par rapport à celles du thym

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Chebli (2003)** qui a montré que le thymol et le carvacrol ont une importante activité antifongique in vitro. Ces derniers ont affiché une inhibition complète de la croissance du mycélium de *Botrytis cinerea*, de *Phytophthora citrophthora*, de *Penicillium digitatum* et de *Geotrichum citri-aurantii* (**Jukié et Milos, 2005**).

### V.3.2. Indice antifongiques (IA)

L'indice antifongique (la concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne), en tenant compte de la croissance dans la boîte du témoin, a été calculé et cela après la réalisation de l'analyse statistique (Tableau 09). Les valeurs de cet indice sont récapitulées dans les tableaux 10 et 11 puis déterminées graphiquement (Fig. 57 et 58).

**Tableau 09** : Indice antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* sur la souche fongique étudiée (*Botrytis cinerea*) à travers l'analyse de la variance

Source de variance	DDL	SCE	CM	F	P	CV
<b>Répétitions</b>	2	80.38	40.19			
<b>Facteur 1 (plante)</b>	1	657.71	657.71	10.82	0.0813	15.88
<b>Facteur 2 (Dose)</b>	2	3611.97	1805.99	52.49	0.0000	
<b>Facteur 1 et 2 (Plante /Dose)</b>	2	113.21	56.61	1.65	0.2521	
<b>Totale</b>	17					

## Chapitre V : Résultats et discussions

---

D'après le tableau 09, l'indice antifongique est très hautement significatif ( $P \leq 0.001$ ) pour les différentes concentrations des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata*.

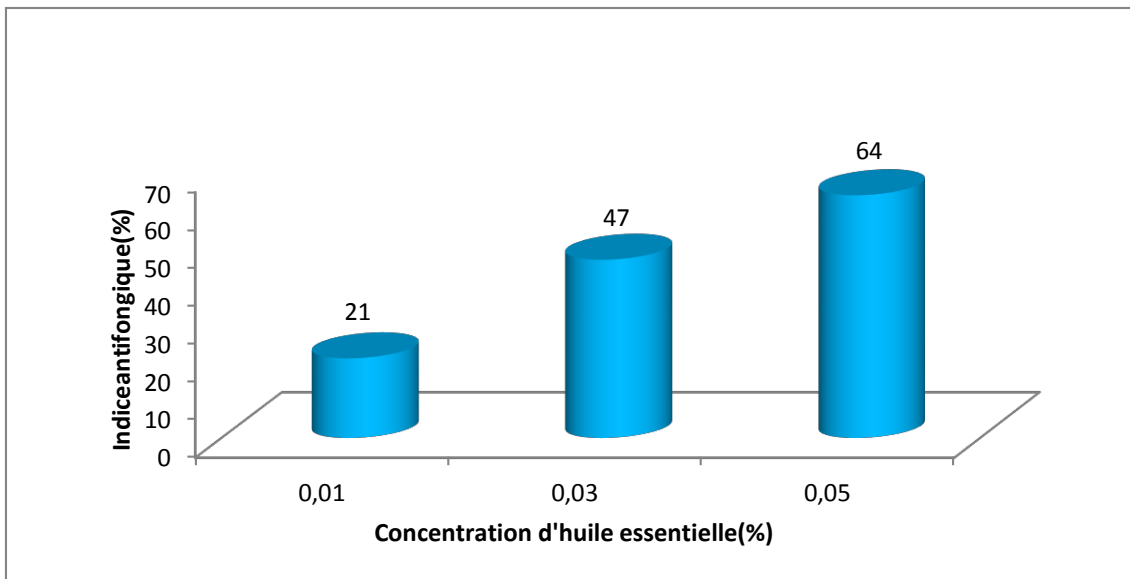
**Tableau 10** : Indice antifongique des huiles essentielles de *T. vulgaris*

<b>IA (%)</b>	<b>72h</b>	<b>96h</b>	<b>120h</b>	<b>144h</b>
<b>0,01</b>	23	24	18	21
<b>0,03</b>	45	46	44	47
<b>0,05</b>	64	63	61	64

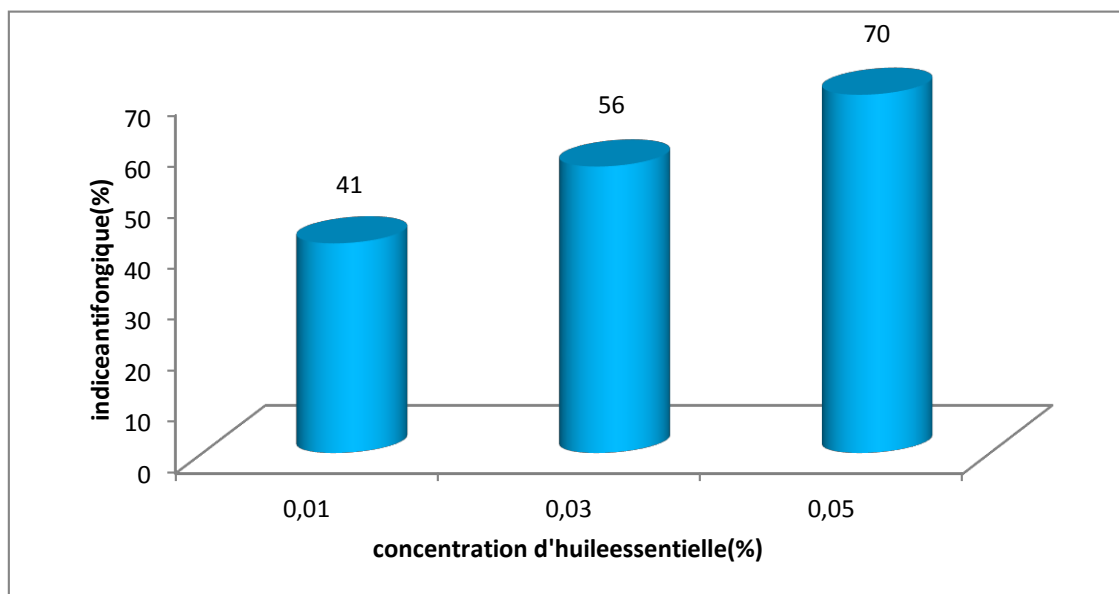
**Tableau 11** : Indice antifongique des huiles essentielles de *M. spicata*

<b>IA (%)</b>	<b>72h</b>	<b>96h</b>	<b>120h</b>	<b>144h</b>
<b>0,01</b>	52	48	43	41
<b>0,03</b>	59	57	57	56
<b>0,05</b>	74	72	71	70

Les indices antifongiques des huiles essentielles des deux plantes testées étaient différents d'une dose à une autre et d'une huile essentielle à une autre en fonction de la durée d'incubation.



**Figure 57:** Indice antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* après incubation de 7 jours



**Figure 58:** Indice antifongique des huiles essentielles de *Mentha spicata* après incubation de 7 jours

Les indices antifongiques ont augmenté avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles du thym et de la menthe verte. Ils ont dépassé 40% avec toutes les concentrations de l'huile essentielle de la menthe et ont varié de 21% avec la dose 0,01% à 64% après application de la dose 0,05% pour les huiles essentielles du thym. Donc, on peut



## Chapitre V : Résultats et discussions

constater que les concentrations 0.03% et 0,05% des huiles essentielles du thym et 0.01% et 0.03% de la menthe ont empêché, partiellement la croissance de la souche fongique testée.

A partir des tableaux 10 et 11 et les figures 57 et 58, on déduit que l'indice antifongique (la concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne) et de 0.031% pour *Thymus vulgaris* et de 0.026 pour *Mentha spicata*..

Un des facteurs intervenant sur l'intensité de l'action antifongique de l'HE est la dose appliquée : ceci a été généralement observé in vitro (**Do Amaral et al., 1998; Evans et Martin, 2000; Castillejos et al., 2006**). En effet, nous avons remarqué que le taux de réduction des croissances mycéliennes a été augmenté avec l'augmentation des concentrations en huile essentielle de *Thymus vulgaris* L et *Mentha spicata* L par rapport au témoin négatif.

### V.3.3. Vitesse de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*

Les résultats de la vitesse de croissance mycélienne de chaque concentration a été déterminée puis vérifiés par le test statistique (Tableau 12).

**Tableau 12 :** Vitesse de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* vis-à-vis des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* à travers l'analyse de la variance.

Source de variance	DDL	SCE	CM	F	P	CV
Répétitions	2	0.00100	0.00050			
Facteur 1 (plante)	1	0.15641	0.15641	127.37	0.0078	6.20
Facteur 2 (Dose)	3	1.19739	0.39913	142.86	0.0000	9.35
Facteur 1 et 2 Plante /Dose	3	0.03630	0.01210	5.52	0.0368	8.28
Totale	23					

## Chapitre V : Résultats et discussions

L'analyse de la variance de la vitesse de croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* a révélé une inhibition hautement significative ( $P < 0.01$ ) pour la plante, très hautement significative ( $P < 0.001$ ) pour la dose et significative ( $p < 0.05$ ) pour l'interaction plante-dose.

Les tableaux suivants résument les résultats de la vitesse de croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* vis-à-vis des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata*. Ces résultats sont illustrés ensuite par la figure 59.

**Tableau 13** : Vitesse de croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* traité par les huiles essentielles de *T. vulgaris*.

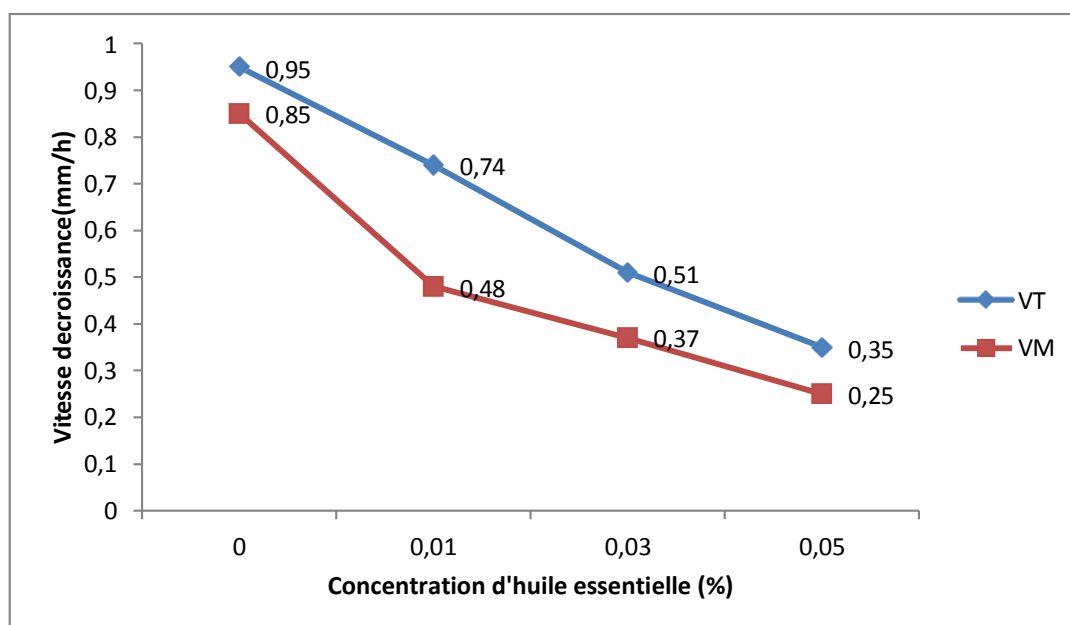
Concentration d'huile essentielle (%)	Vitesse de croissance (mm/h)
0	0,95
0,01	0,74
0,03	0,51
0,05	0,35

**Tableau 14** : Vitesse de croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* traité par les huiles essentielles de *M. spicata*

Concentration d'huile essentielle (%)	Vitesse de croissance (mm/h)
0	0,85
0,01	0,48
0,03	0,37
0,05	0,25

## Chapitre V : Résultats et discussions

La plus haute vitesse de croissance mycélienne de *B. cinerea* traité par les huiles essentielles des deux plantes lamiacées a été notée avec la dose 0% en absence des huiles essentielles pour les deux plantes testées avec des valeurs de 0,95 mm/h et 0,85 mm/h pour le thym et la menthe, respectivement. Tandis que la plus faible vitesse de croissance mycélienne a été observée avec la dose 0,05% (0,35 mm/h pour le thym et 0,25 mm/h pour la menthe verte).



**Figure 59 :** Vitesse de la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* sous l'effet des différentes concentrations des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* (VT) et de *Mentha spicata* (VM).

La figure 59 montre que la vitesse de la croissance mycélienne décroît avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles du thym et de la menthe.

Selon ces résultats, on peut conclure que la vitesse de croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* traité par les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* est plus élevée par rapport à celle de *Mentha spicata* avec toutes les concentrations appliquées.

### V.4. Etude statistique

#### V.4.1. Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse de la variance à deux facteurs (plante et dose), en utilisant le logiciel statistix 9.0, sont récapitulés dans le tableau 15.

## Chapitre V : Résultats et discussions

**Tableau 15** : Efficacité des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* sur la souche fongique étudiée (*Botrytis cinerea*) à travers l'analyse de la variance

Source de variance	DDL	SCE	CM	F	P	CV
Répétitions	2	9.75	4.87			
Facteur 1 (plante)	1	876.04	876.04	108.94	0.0091	6.50
Facteur 2 (Dose)	3	6951.13	2317.04	149.89	0.0000	
Facteur 1 et 2 Plante / Dose	3	131.12	43.71	2.83	0.0835	9.01
Totale	23					

L'analyse de la variance des traitements par extraits de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* sur un seul type de champignon phytopathogène (*Botrytis cinerea*) nous a montré que la probabilité était inférieure à 0.01 ( $p \leq 0.01$ ) ce qui traduit une différence hautement significative pour le premier facteur étudié (plantes), inférieure à 0.001 ce qui explique une différence très hautement significative pour le deuxième facteur étudié (doses) et supérieure à 0,05 ce qui interprète une différence non significative pour l'interaction entre les deux facteurs. Donc, le diamètre des colonies mycéliennes varie d'une manière hautement significative d'une plante à une autre, très hautement significative en fonction des doses et non significative avec l'interaction plant/dose. Ce qui implique que le facteur plante et le facteur dose ont une grande influence sur l'inhibition de la croissance mycélienne de *B. cinerea*.

### V.4.2. Groupes homogènes selon le test de NEWMAN-KEULS-seuil5%

Le test Newman-Keuls au seuil 5% permet de constituer des groupes homogènes de traitement, ainsi les moyennes appartenant au même groupe sont considérées comme non différentes.

## Chapitre V : Résultats et discussions

Les tableaux 16 et 17 présentent les classements des moyennes pour le traitement à travers le test de NEWMAN-KEULS avec une intervalle de confiance de 95%.

**Tableau 16 :** Groupes homogènes du Facteur 1(Plante)

Plantes	Moyennes	Groupes homogènes
<i>Thymus vulgaris</i>	49.667	A
<i>Mentha spicata</i>	37.583	B

La plus petite différence significative : PPDS = 4.9812

Le tableau 16 révèle pour le facteur 1 (plante) la présence de deux groupes homogènes A et B. Le groupe A représente une grande croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* traité par les huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, alors que le groupe B montre une faible croissance mycélienne de ce même champignon suite au traitement par les extraits de *Mentha spicata*.

**Tableau 17 :** Groupes homogènes du Facteur 2 (Dose)

Doses	Moyennes	Groupes homogènes
<b>D0 (0%)</b>	68.833	A
<b>D1 (0,01%)</b>	48.333	B
<b>D2 (0,03%)</b>	33.833	C
<b>D3 (0,05%)</b>	23.500	D

La plus petite différence significative : PPDS = 4.9458

## Chapitre V : Résultats et discussions

Pour le facteur 2 (Dose), le test divulgue quatre groupes homogènes et indépendants : A, B, C et D dont le groupe A représente une grande croissance mycélienne de 68.833 % pour le témoin. Le groupe B montre une croissance mycélienne moyenne de 48.333 % avec l'application de la D1 et après le groupe C avec une croissance mycélienne moyenne de 33.833 % avec l'application de la D2. Enfin, le groupe D évoque la croissance mycélienne minimale avec le traitement par la D3.

**Tableau 18 :** Groupes homogènes de l'interaction entre les deux facteurs 1 et 2

<b>Plantes-Doses</b>	<b>Moyennes</b>	<b>Groupes homogènes</b>
<b>TV-D0</b>	73.333	A
<b>MS-D0</b>	64.333	B
<b>TV-D1</b>	58.333	B
<b>TV-D2</b>	39.333	C
<b>MS-D1</b>	38.333	C
<b>MS-D2</b>	28.333	D
<b>TV-D3</b>	27.667	D
<b>MS-D3</b>	19.333	E

La plus petite différence significative : PPDS = 6.9943

Le test NEWMAN-KEULS-seuil = 5% effectué pour les différentes interactions entre les trois facteurs a révélé qu'il existe un effet non significatif entre les facteurs 1 et 2 (plante et dose).

Pour l'interaction entre les deux facteurs (1 et 2) le tableau 18 révèle qu'il existe cinq groupes homogènes A, B, C, D et E. Le groupe A représente une grande croissance mycélienne de 73.333% pour le Thym avec la D0. Le groupe B montrent une croissance

## Chapitre V : Résultats et discussions

---

mycélienne moyenne de 64.333 % pour la menthe avec la D0 et de 58.333% pour le thym avec la D1. Le groupe C montrent une croissance mycélienne moyenne de 39.333 % pour le thym avec la D2 et de 38.333 % pour la menthe avec la D1. Le groupe D montrent une croissance mycélienne moyenne de 28.333 % pour la menthe avec la D2 et de 27.667% pour le thym avec la D3. Le groupe E évoque la croissance mycélienne minimale de (19.333 %) pour la menthe (D3).

# **Conclusion**



## Conclusion et perspectives

L'objectif de notre travail consiste à vérifier le potentiel antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la famille des lamiacées *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* sur l'espèce phytopathogène *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise du fraisier.

L'extraction de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* et de *Mentha spicata* a donné des huiles essentielles à aspect liquide mobile, d'une odeur aromatique, légèrement épicée pour la thym et rosée plus ou moins menthée pour la menthe verte. La couleur de ces huiles essentielles était brun clair pour le thym et jaune ambré à jaune verdâtre pour la menthe verte. Ces propriétés organoleptiques sont très appréciées en parfumerie et seront très convoitées en aromathérapie et en lutte biologique.

Les caractéristiques symptomatologiques, macroscopiques et microscopiques du champignon isolé à partir des fraises infectées ont confirmé qu'il s'agissait bien de l'espèce *Botrytis cinerea*.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* vis-à-vis de la souche *Botrytis cinerea*. Cette méthode a révélé que les deux types d'huile essentielle possèdent une activité inhibitrice sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* et que cette activité est différente en fonction de la dure d'incubation, d'une dose à une autre et d'une plante à une autre. Pour le thym, les diamètres de la croissance mycélienne ont varié de 23 mm avec la dose 0,05% après 72 heures d'incubation à 73,3 mm avec la dose 0% (témoin) après 144 heures d'incubation et pour la menthe verte, ils étaient de 15,6 et 64,3 mm avec les doses 0,05% et 0% et après des durées d'incubation de 72 et 144 heures, respectivement.

Le test de sensibilité de la souche fongique vis-à-vis des huiles essentielles testée a montré que *Botrytis cinerea* est très sensible aux huiles essentielles de *Mentha spicata* qu'à celles de *Thymus vulgaris*.

L'indice antifongique était de 0,026% pour *Mentha Spicata* et de 0,031% pour *Thymus vulgaris*.

La plus haute vitesse de croissance mycélienne de *B. cinerea* a été notée avec la dose 0% en absence des huiles essentielles pour les deux plantes testées avec des valeurs de 1,95 mm/h pour le thym et 0,85 mm/h pour la menthe verte. Celle la plus faible a été enregistrée avec la concentration 0.05% pour les deux plantes étudiées.

L'analyse de la variance à deux facteurs (plante et dose) nous a révélé que le diamètre des colonies mycéliennes varie d'une manière hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) d'une plante à une autre, très hautement significative en fonction des doses ( $p \leq 0.001$ ) et non significative ( $P > 0,05$ ) avec l'interaction plante/dose. De ce fait, l'huile essentielle de *Mentha Spicata* a manifesté un bon effet antifongique par rapport à celle de *Thymus vulgaris*

Nos résultats indiquent que les huiles essentielles du *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* sont avérées des agents antifongiques efficaces contre le *Botrytis cinerea*. Il ressort, alors que *Thymus vulgaris* et *Mentha spicata* pourraient être valorisées d'avantage particulièrement dans la lutte contre de nombreuses espèces fongiques responsables des différentes pathologies végétales.

Cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et thérapeutiques. Par la même occasion, elle confirme leur utilisation comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire.

L'ensemble de ces résultats préliminaires obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement actives. Elle peut être complétée par d'autres études plus approfondies (tests antioxydant, rendement, détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches fongiques, mode d'application, cout, essai sur d'autres souches fongiques, ....) afin d'exploiter les propriétés antifongiques ainsi que le teste d'activité fongistatique/fongicide et tout cela pour trouver des alternatives à la lutte chimique, qui présente beaucoup d'inconvénients et des dommages sur plusieurs domaines : agricole, sanitaire, environnemental, ... .

## • Références bibliographique

- Abbas. A, 2005 « Variation in the amount of yield and in the Extract Composition Between Conventionally Produced and Micropropagated peppermint and Spearmint » dans Journal of Essential Oil Research, vol.17,n01,January/February,p .66-70.
- El Fadl Abdellatif & Chtaina Nouredine, ‘ Etude De Base Sur La Culture De La Menthe Au Maroc,2010.
- ACTA - Guide pratique de défense des cultures. Paris : Assoc. Coord. Techn. Agric., 1990, 557 p.
- Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-Shanab F - Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on Pseudomonas aeruginosa-Turk J Biol; Vol30; pp 239-242.2006.
- AFNOR, 2000. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6ième édition.
- AFNOR, Paris. (janvier 2010) Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d’une norme fondamentale.<http://www.afnor.org/liste-des-actualités>
- Agreste, 2012, Boulevard des saveurs – Cré@Vallée Nord COULOUNIEX CHAMIERS, [www.dordogne.cambargri.fr](http://www.dordogne.cambargri.fr) .adresse postal : cs1025024060-perigeux cedex 9. Contact : 0553358892.
- Alais C., Linden G. et Miclo L., 2003. Biochimie alimentaire, DUNOD. 5ème édition de l’abrégé.59p.
- Al-Bayati F.A.2008. Synergistic antibacterial activity between Thymus vulgaris and Pimpinella anisum essential oils and methanol extracts. Journal of ethnopharmacology., 166 (3) :403-406.
- AMARAL J-A, Ekins A. RICHARD S.R, KNOWLES R. 1998. Effete of hane oxidation, denitrification and Aerobic Metabolism by bacteria in pure culture applied and environmental Microbiology, 46:pp520-525.
- ANDI, 2013. Source Agence nationale de Développement de l’Investissement (ANDI)-2013 .Wilaya de ain defla p06.
- André Jacques,2010.*Les noms des plantes dans la Rome antique*, Les Belles Lettres,336 p.
- Anonyme, 1998. « saveure de monde/ thym historique»
- Anonyme, 2006. Conseiller technique en culture du fraisier et lute biologique en horticulture [robbe.fraise@gmail.com](mailto:robbe.fraise@gmail.com) .
- Anonyme, 2006.: [ag.info.omafra@ontario.ca](mailto:ag.info.omafra@ontario.ca) et [lesit.robbe.fraise@gmail.com](mailto:lesit.robbe.fraise@gmail.com)
- Anonyme, 2008. Aquarelle d’un plant de fraises de 1890 par Deborah Griscom Passmore.

- Anonyme, 2010. Dossier Special Fraise Biologique :Varietes et Fournisseurs De Plants Biologiques , Chambre d'Agriculture06 , mai2010.
- Anonyme. 2008.L'encyclopédie libre(enligne):<http://www.wikipédia.com>
- Anton R. and Lobstein A., 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc., Paris,522p.
- Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. and Stanescu U., 2010. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). FARMACIA, Vol. 58 (1); pp.46-54.
- Barry N., 2001. Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi même, pp. 125-128. In Belaagoune S. et Himed L. (2007). Etude de l'activité antioxydant d'une huile essentielle de *Schinus molle*. Mémoire d'Ingéniorat. INATAA, Université Constantine.57p.
- Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America.994p.
- Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., and Karadogan T., 2004. Antibacterial activityand composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control 15:pp.169-172.
- BazyloA.et Strzelecka H.2007. A HPTLC densitom etric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. Fitoterapia., 78 :391-395.
- Belaiche P., 1979.L'aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. M.S.A. Editeur, Paris.Tome 1, p :204
- Belaiche, 1979 ;Traitement du Zona in Annales de médecines deterrain.
- Belkou H, Beyoud F.et Taleb Bahmed Z,Approchede la composition biochimique de la menthe vert (menthe spicata L) dans la région de Ouargla, Mémoire DES,univ Ouargla.2005.pp2,61.
- Belkou H, Beyoud F.et Taleb Bahmed Z,Approchede la composition biochimique de la menthe vert (menthe spicata L) dans la région de Ouargla,Mémoire DES,univ Ouargla.2005.pp2,61.
- Belkou., Beyoud E, et Talebbah Medz, 2005. Approche de la composition biochimique de la menthe vert (mentha spicata Z) dans la région de Ouargla. Univ, Ouargla.pp7-8.
- Bellakhdar ,1997. Pharmacopée marocaine traditionnelle.Lamiacées
- Belyagoubi L., 2006. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid,110p.
- Benayad N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63p.
- Benini C., 2007. Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingéniorat. Université Gembloux,109p.
- BENKADA, isolation des huiles essentielles de la menthes uaveolens, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes

chromatographique mise en évidence du composé majoritaire «la pulégone»,  
Thèse Magister. Unive. Tlemcen, 1990, pp 42,76.

- Bernadet M., 2000. Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed.
- Bernard T., Periau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information chimie Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F., 2002. Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, p:264-269.
- Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p
- Bocquet, F., Moncomble, D., and Valad, M. 1996. Raisins : adapter le fractionnement des jus lors du pressurage. *Le Vigneron Champenois* 9 :15-24.
- Bocquet, F., Moncomble, D., and Valade, M. 1995. Etat sanitaire de la vendange et qualité des vins. *Le vigneron Champenois* 7/8 :15-23.
- Botton B, 1990; Breton A; Févre M. Gauthier S; Guy Ph; Larpent J-P; Reymond P; Sanglier J-J; Vayssier Y. and Veau R. Moisissures Utiles Et Nuisibles : Importance Industrielle. Edition Masson, Paris. S.
- Botton B., Breton A Féver M., Gauthier S., Guy P., Larpent J. P. ? Reymond P., Sanglier J.J. , Vayssir Y., Veau P. (1999). Moisissures utiles et nuisibles et importance industriel. *Ed. Mason, Paris*.
- Bouamer A. Bellaghit M. et Mollay Amara. Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région de Ouargla; Mémoire DES. Unive. Ouargla, 2004 p 2-5; 10; 19; 21-22
- Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006) Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimie, Agadir*. 324-327.
- Bourrel C., 1993. Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de 3ème cycle, INP Toulouse.
- Bruneton J., 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.
- Bruneton J., 1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.
- Bruneton J., 2009, *Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>e</sup> éd., revue et augmentée.*, Paris, Tec & Doc-Éditions médicales internationales, 1288p.
- Bulger, M.A., M.A. Ellis et L.V. Madden. 1987. Influence of temperature and wetness duration on infection of straw berry flowers by *Botrytis cinerea* and disease incidence of fruit originating from infected flowers. *Phytopathology*, 77:1225-1230.
- Burt S. A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review *International J. Food Microbiol*, 94:pp223-253.

- Carilion A, 1987 ,pour un bon usage des plantes, phytothérapie, aromathérapie. comprendre et agir : des médecines familiales efficaces au service de votre santé. Edition Vie et Santé, Dammarie les Lys.
- Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F., 2002. Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78,p:264-269.
- Chang,1999. S.T., Wang, S.Y., WU, C.L., SU, Y.C, KUO, Y.H. 1999. Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. *Holzforschung* ,pp:53-487-490.
- Chebli, B., 2003. Etude chimique et antifongique de plantes médicinales marocaines et valorisation des plantes endémiques de la région du Souss. Thèse de Doctorat National de l'Université Med V-Soussi, Faculté de médecine et de pharmacie. 187p.
- CHoudhury et al, 2006 : Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour- *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*; Vol. 41; pp825–832.
- Chowdhury J.U., Mobarok H. Bhuiyan N.I. and Nandi N.C., 2009. Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. Cultivated in bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 38(2):pp.181-183.
- Clark, C.A., and Lorbeer, J. W. 1977. Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* germination of conidia and conidia and pathogenicity on onion leaves *phytopathology* 67:212-218.
- Coley-Smithe, J. R. 1980. Sclerotia and other structures in survival, p.85-114, in: *The biology of Botrytis* .J.R. Coley-Smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London,UK.
- Coley-Smithe, J.R., and Cooke, R.C. 1971. Survival and germination of sclerotia. *Annual Review of phytopathology* 9:65-92.
- Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.,1991. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology* .88,p:170-175.
- Cronquist A. , 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ.Press.Newyork.1262P.
- Croteau, R. (1986). "Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpènes of the essential oils. Herbs, spices and medicinal plants", *Recent avances in Botany, Horticulture and Phamacology*, Vol. 1, Craker, Simon, Oryx press, phoenix..
- Czemerys. R., “Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs.”, *Food Chemistry*, V. 105, (2007),940–949.
- Darrow GM (1936) Interrelation of temperature and photoperiodism in production of fruitbuds and runners in the strawberry. *Proceedings of the American Society Horticultural Science* 34: 360-363.-ACTA. 2008. Index phytosanitaire 44 ed. ACTA, Paris, P.844.
- Darrow GM ,1966. strawberry: history, breeding and physiology. In <http://www.nal.gov/pgdie/Strawberry/drapus.htm> pagconsultéele3 mars2011.

- Davet JN , et Rouxel, (1967), Effect of nitrogen, phosphorus, potassium, magnesium and liming on composition of tomato fruit. *Journal of the food Agriculture*18:459.
- Davidson P.M., 1997. Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*.43,p:148-155.
- De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. & Marquier P., 2002. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène*. Vol. X - N°3, pp. 248-254.
- Degryse A.C., Delpla I. & Voinier M.A., 2008. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*,87p.
- Desmares C., Laurent A. & Delerme C., 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France,18p.
- Dik A.J et Elad Y. 1999. Comparison of antagonists of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown cucumber and tomato under different climatic conditions. *Eur. J. Plant Pathol.*, 105,123-127.
- Dimitrijevic et al, 2007 : A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L.,*Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L-*Food Chemistry*; Vol. 104; pp 774–782.
- Dob et al. (2006): Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus algériensis* Boiss et Reuter- *The International Journal of Aromatherapy*.
- Dorman H. J. D. et Deans S. G. , 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. 88,p:308-316.
- Douay Sébastien , 2008. L3SVB, Faculté libre des sciences et technologies ,Systématique des Angiospermes.
- Dovilliers, S., (1991). Etude de la dormance du fraisier "*Fragaria x ananassa* Duch. " Mémoire de DEA, Université Blaise Pascal, Clermont Ferrand (FRA),30p.
- Ebrahimi S.N, Mirjalili J.H, Sonboli A, Yousefzadi M- Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages- *Journal Food Chemis*; Vol. 10; pp 1016.2008.
- Eccles, R. 1994. Menthol and related cooling compounds. *J. Pharm. Pharmacol.*, 46 : 618-630.
- El Ayam-2«Lafraise algerienne».04/12/2016,P.05-15. <http://nniarubloge.unblog.fr-et-legumes-dalgerie-fraise-algerienne/>.
- El Kalamounni Chaker , Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 13 Décembre 2010,22-38.
- El Kalamounni Chaker , Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 13 Décembre 2010,22-38.
- Elmer, P.A.G., and Michailides, T.J. 2004. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishres, Dordrecht, TheNetherlands.
- Evenari, M. (1949). Germination inhibitors, *Bot. Rev.*, 15,153.

- FAO, 2003. The marketing potential of date plam in the Eropean market, FAO commodity and Trad policy Research Working Paper No. 6, Pascal Liu (Ed.), Raw Material, Topicaland
- FAOSTAT, 2012. Crop production 2012, Statistics Division, Food and Agriculture commodities Production Organisation of the United Nations.  
<http://faostat.fao.org/sit/339/default.aspx>.FAO.page consultée le1mars
- FAOSTAT,(2011) Food and agricultural commodities Production. IN <http://faostat.fao.org/sit/339/default.aspx>. FAO. page consultéele1mars2011.
- Farhat Asma , Thèse sur : Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application, l'université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et L'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès Marseille, 5 Novembre 2010,18-32.
- Fischer, N. L. (1986). The fonction of mono and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators. In Putman, A. and Tang, C.S. (Eds), the Science of allelopathy, John Wiley and Sons, Inc., New York,203-218.
- Florence Mayer, 2012, T h e s e « Utilisations therapeutiques des huiles essentielles : etude de cas en maison de retraite », le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie . p25-27.
- Franchomme P et Penoel D., 1990 , L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Ed jollois, L'imoges.
- Franchomme, P.,Penoel, D .et jollois, R. (2003). L'aromathérapie exactement. Editionsjollois.
- G.Risser,1997. J.C.Navatel, La fraise : plants et variétés, édition CTIFL.
- Gacem Ma., 2011. Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de citrullus colocynthis sur la croissance d e quelque moisissure d'altération de blé stoké. Magister, Université Kasdi MerbahOuargla,p147.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007. Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food Chem., 102:pp.898-904.
- Garnero j., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France, pp.2-20.
- Ghaleb, IA., 1990. Le cycle sexué in vitrode Botryotinia fukeliana (De bary) forme parfaite de Botrytis cinerea(pers). Thèse de doctorat l'université Lille 1, Lille. 228p.
- Gherman et al., 2000; Bouhdid et al, 2006; Hilan et al., 2006: comparative analysis of someactive
- Gindo, K. Etudes de la sporulation de Botrytis Cinerea Pers. : Fr. : purification, caractérisation et role d'une cutinase constitutive des conidies germées.2000. Thésede la faculté des sciences de l'université delausanne.
- Gindro, K., 2000. Etudes de la sporulation de Botrytis cinerea Pers. Fr.: purification,



- Golmakani M.T. et Rezaei K. 2008. Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109 :925-930.
- Gudelj I., Fitt B. D. L. et van den Bosch F. 2004. Evolution of sibling fungal plant pathogens in relation to host specialization, *Phytopathol.*, 94,789-795.
- GUENTHER E., 1949 : The essential oils. D. Van Nostrand Co., New York, N.Y
- Guérineau, C, 2003. La culture du fraisier sur substrat. Ed CTIFL, Paris, 165p.
- Guillén M. D., Manzano M. J. (1998) Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. *Food chemistry*. 63 (3) :373-383.
- Guiraud J.P.(1998). Microbiologie alimentaire. (Ed). Dunod. Paris :310-321.
- Gullino, M.L.1992. Chemical control of *Botrytis cinerea* spp, p. 217-222, in: Recent advances in *Botrytis cinerea*. K. Verhoeff, N. E. Malathrakakis and B. Williamson, eds. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- HAMMER K. A., CARSON C. F., RILEY T. V. : *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev*, 2006, vol. 19, n°1, pp.50-62.
- HANSAN, S.W.; CRAWFORD, D.M.; KOKER, M.E.S. and MENEZES, F.A. (1976). *Phytochemistry*, 15,1074.
- Hennebert, G, L. 1973. *Botrytis* and *Botrytis* -like genera. *Persoonia* 7:183-204.
- Hilan et al ; 2005 : Comparaison entre l'effet acaricide de 3 doses d'huiles essentielles de thym sur le VARROA JACOBSONI D'APIS MELLIFERA INTERMISSA AU Cours d'un période hivernale dans la wilaya Ain Defla ; « mémoire d'Ingénieur d'Etat En Agronomie-Blida»
- Hilan, 2006: huiles essentielles de certaines plantes medicinales libanaises de la famille de lamiaceae-Libanaise *Science Journal*; Vol.7;N°2.
- Hmouni A., 2000. Recherches sur *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate : résistance aux fongicides et alternatives de la lutte biologique. Thèse de Doctorat. Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc, 112pages.
- Hmouni A., Massoui M. et Douira A., 1999. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. A l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia* 99 :75-92.
- Hoffmann L., Besseau S., Geoffroy P., Ritzenthaler C., Meyer D., Lapierre C., Pollet B. et Legrand M. 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*, 16 (6) :1446-1465.
- Holz et al., 2004) -Holz, G., Coertze, S., and Williamson, B. 2004. The ecology on plant surfaces, P. 9-27, on: *Botrytis : biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P.9-27, in: *Botrytis : biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Hubert J., Stejskal V., Munzbergova Z., Kubatova A., Vanova M. et Zdarkova E. 2005. Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic, *J. Econ. Entomol.*, 97, 2144-2153.

- Hudaib M., Speroni E., Pietra A. M. D., Carvin V. (2002) GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29:691-700.
- Hussain A.I., Anwar F., T.H.S. Sherazi and Przybylski R., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. 108:pp.986-995.
- Hyppa... J.P., 2015, Unité de Malherbologie & Agronomie INRA-Dijon, « *Mentha suaveolens Ehrhart* ».
- Ipek E, Zeytinoglu H, Okay S, Tuylu B.A, Kurkcuoglu M, Can Baser K.H- Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test- *Food Chemistry*; Vol. 93; pp 551–556.2005.
- Iranian journal of pharmaceutical Research; Vol. 2; pp63-79.2005
- Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. 2001. Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.
- -ITCMIA, 2008. -Route de Mortti BP 50 STAOUELI- ALGER , té :021-39-36-90 fax :021-39-36-92M essageries : Inter itcmi2008@yahoo.fr .
- J.R Coley-smithe, K. Verhoeff and W.R.Jarvis, *The Biology of Botrytis*, Academic Press, London(1980).
- Jarvis W. R., 1980. Epidemiology. Pages: 219-250 In: Coley-Smith J.R et al. (eds). *The biology of Botrytis*, Academic Press, NewYork.
- Jarvis W.R. , *Botrytis species: taxonomy physiology and pathogenicity*, Agriculture Canada,(1977).
- Jarvis, 1980), Jarvis, W.R. 1980. Epidememiology, P. 219- 50, in : *The biology Botrytis* . J. R. Coley- Smith, K. Verhoeff and W . R Jarvis, eds. Academic Press, London,UK.
- Lichou jean, 2001. *Protection intégrée des fruits à noyau*. Editions CTIFL.
- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., 2006. *Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique*, volume 1. Ed. Tec. & Doc., Lavoisier, pp. 95–151.
- Jessica, huiles essentielles et Aromathérapie: Un aperçu historique article Publié dans *Histoire des huiles essentielles* sur le 4 janvier 2010.
- Jukié, M., Milos, M., 2005. Catalytic oxidation and antioxidant properties of Thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croatica Chemica Acta*. 78 (1),105-110.
- Keller M., Viret O. et Cole F. M. 2003. Botrytis cinerea infection in grape flowers: Defence reaction, latency, and disease expression. *Phytopathol.* 93,316-322.
- Kingham, J.G.C. 1995. Peppermint oil and colon spasm. *Lancet*, 346:986.
- Koch c., reichling j., schneele j., et al : Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytomedicine*, 2008, vol. 15, n°1-2, pp.71-78.
- Kreschmer, M., Kassemeyer, H.H., and Hahn, M. 2007. Age-dependent grey mould susceptibility and tissue- specific defence gene activation of grapevine berry skins after infection by Botrytis cinerea. *Journal of phytopathology* 155:258-263.

- Kulšić T., Dragovic-Uzelac V., Miloš M. (2006) Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. Food Technol. Biotechnol. 44 (4) :485-492.
- Larry G. French, 2002. « Isolation of (R)-(+)-Pulegone from the European Pennyroyal Mint, *Mentha Pulegium* », The Chemical Educator, vol. 7, n5,, p. 270– 277°
- Leclerc, 1918. L'Ail pré ervatif de la grippe. Médical, Paris.
- Lee SJ et al, 2005: identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties.
- Li, G.Q., Huang, H.C., Achary, S.N., and Erickson, R.S. 2004. Biological control of blossom Blight of alfalfa caused by *Botrytis cinerea* under environmentally controlled and field condition. Plant Disease 88:1246-1251.
- Lis-Balchin M. et Deans S.G., 2002. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Microbiol., 82, p:759–62.
- Maas ( J.L) - Compendium of strawberry diseases . St. Paul, MN? USA/:THE American Phytological Society, 1984, 138p.
- Maleckey Mostafa, Thèse sur: Métabolisme des trapézoïdes chez les caprins, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParis Tech), 27 Mai 2006, 10-22.
- Mann J. (1987), Secondary metabolism. Second edition, Clarendon press, Oxford, p.374
- Marie Elisabeth Lucc, thèse sur : Extraction sans solvant assistée par Micro- ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université de la reunion, 13 juillet 2005, 59-71.
- Marie-Pierre Arvy, François Gallouin, *Épices, aromates et condiments.*, Belin, 2003
- Martinez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, Dubos, B., Fermaud, M. 2003. Phenotypic differences between vacuina and transposa subpopulation of *Botrytis cinerea*. European journal of plant pathology 109:479-488.
- Martini M.C., Seiller M., Actifs et additifs en cosmétologie, Editions Tec & Doc Paris, 1999, 214-219.
- Marzoukia H., Elaissib A., Khaldic A., Bouzidd S., Falconerie D., Marongiu B., Pirasa A. and Porcedda S., 2009. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. The Open Natural Products Journal, Vol. 2; pp. 86-91.
- Micheli P.A., Nova plantarum Genera : juxta turnefortii methodum disposita, Firenze (2001).
- Miller, et al, 2006: Cacogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-Phytochemistry; Vol. 67; pp43–51.
- Mohammad S., Abu-Darwish and Abu-Dieyeh Z.H.M., 2009. Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. Int. J. Agric. Biol., Vol. 11, N° 1, pp.59-63.

- Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 155p.
- Morales, R. (2002) The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp.1-43.
- Moreau F., Botanique : Procaryotes (cyanophytes et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs) La plante dans ses rapports avec le milieu, Ed.Paris, Gallimard.1960,102.
- Mouellef A., 2010. Caractère physiologique et biochimique du blé dur au stress hydrique, magistère Université Mentouri Constantine ,p93.
- Murray B. I. : Plant essential oils for pest and disease management, Crop Protection, 2000, vol. 19, pp.603-608.
- Naghibi et al, 2005: Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to pharmacology–
- Nolen, H. W. & Friend, D. R. 1999. Menthol-  $\beta$ - D- glucuronide: a potential prodrug for treatment of the irritable bowel syndrome. *Pharm. Res.*, 11 : 1707-1711.
- Ouamba, J. M. (1988). Valorisation Chimique des Plantes Aromatiques du Congo: Extraction et analyse des huiles essentielles, Oximation des aldéhydes naturels, Thèse de Doctorat d'État, Université de Montpellier II, 340p.
- Pauli A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International journal of Aromatherapy*, 11: pp126-133.
- 24TPaul-Victor Fournier (compilateur : Clotilde Boisvert), 3 T24 T30 *plantes utiles Herbes, arbres, plantes alimentaires : leur histoire, leurs vertus* 3T24T, Omnibus, 2015 24 T27 T 13T27 T Erreur de référence : Balise <ref> non valide ; le nom « fournier » est défini plusieurs fois avec des contenus différents
- Perret, 2001. Thèse 01 : Analyse de tanins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *B. cinerea* p:21, 2001
- Pibiri M.C, 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyend'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p :177.
- Pierre-yves mathonnet, 2012, « thym bio produire du thym en Ab » Agriculture biologique, Fiches technico-économiques, outils d'Accomp Agnement des projets d'installation et de conversion, référent technique régional en PPAM bio Chambre d'Agriculture de la Drôme, Tél. 04 75 26 27 51 ou 06 20 88 81 06 pymathonnet@drome.chambagri.fr p : 1\_4.
- Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M.J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A. and Martinez-de-Oliveira J., 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 55, pp.1367–1373.
- Piquemal Marie 2015, « Sans ramener sa fraise », *Libération*, 6 juillet 2015, p. 30
- Ponce a.g., fritz r., de lvalle c. Et roura S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.- Wiss.u.- Technol*, 36 :pp679-684.

- Putti G.P ,2012HAL Capacite de croissance de la partie aerienne du fraisier(Fragaria X ananassa Duch.) sous conditions naturelles et traitement au froid en automne, et sous longue conservation au froid : evaluation de la repiration et dela chaleur metabolique comme marqueurs de capacite de croissance. Id: tel-00666213 <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00666213> Submitted on 3 Feb2012
- Rameau .J.C ,Mansion D, DuméG.,1989. *Flore forestière française,guide écologique illustré,1 plaines et collines.*,Institutpour le développement forestier,1989, 1786 p.
- Rameau. J-C , Mansion.D, Dumé.G , Gauberville.C ,2008 ., *Flore Forestière Française, guide écologique illustré, 3 région méditerranéenne.*, Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2426p.
- Rhayour K - Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum; Thèse de Doctorat National. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences DharMehraz -Fès-.2002.
- Rhayour K., 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- Richard, H. 1992. Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. 339p.
- Robert, F. (1996). Recherche de marqueurs morphologiques et biochimiques de la dormance du fraisier(Fragaria x ananassa Duch.).Université Blaise Pascal,ClermontFerrand, Tése, Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé, 172p.
- Rosslenbroich H. J. et Stuebler D. 2000. Botrytis cinerea – history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Prot., 19,557-561.
- Roudeillac (P) – La fraise: technique de production. Document CTIFL, 1987, 384 p.
- Rož man T. and Jeršek B., 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (Rosmarinus officinalis L.) against different species of Listeria. Acta agriculturae Slovenica, Vol. 93 ; N° 1,pp.51-58.
- Rozier J., Carlier V. et Bolnot F., 1986. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. É d. SAPALC. Paris. pp.130-143.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. and Bruni R., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry 91: pp.621-632.













- Schnitzler p., Koch C., Reichling J. : Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, vol. 51, n°5, pp.1859-1862.
- Sekor, 2009). These02 : Estimation du potentiel de résistance de *B. cinerea* à des biofongicides. p :6et8;2009.
- Selmi S. et Sadok S. 2008. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) :36-45.
- Silano V. and Delbò M., 2008. Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London ;23p.
- Silou T., 2003. Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles d'*E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Université Marien Ngouabi. Faculté des sciences, pp.1-6.
- Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*- E-Gnosis [online]; Vol. 4; N° 16. 2006.
- Soylu E.M., Yigitba H., Tok F.M., Soylu S., Kurt S., Baysal Ö. and Kaya A.D., 2005. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112(32):pp229-239.
- Spencer, G.F. ; Wolf, R.B. and Weisler, D. (1984).1. *Nat. Pro.*, 47,730-732.
- Speranza A et Calzoni GL, 2004. Atlas de la structure des plantes, guide de l'anatomie microscopique des plantes vasculaires en 285 photos. Edition BELIN ,2004,p.118-119.
- Spurgeon et Porter (1981), Biosynthesis of isoprenoid compound,1-46.
- Stahl-Biskup .E. , Sáez . F. “ Thyme : The genus *Thymus*. “, Taylor & Francis, USA and Canada, (2002), 330p.
- Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Meireles M.A.A., Moura L.S. and Marchese, J. A., 2006a. Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, Vol.8,pp.86-90
- Sutton( J.C) – Evaluation of microorganisms for biocontrol : *Botrytis cinerea* and strawberry, a case study . – *Adv. Plant Pathol.*, 1995, 11,173-190.
- Szentandrassy N, Szentesi P, Magyar J, Nánási P.P and Csernoch L - Effect of thymol on kinetic properties of Ca and K currents in rat skeletal muscle- *BMC Pharmacology*; Vol. 3; pp 9.2003.
- Takeuchi H., Lu Z.G. et Fujita T. 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) :1113-1134.
- Tela Botanica ,2008 . Tela Botanica Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock BDNFF v4.02 <http://www.tela-botanica.org>

- Ten have, 2000 -Ten Have (A.) – The Botrytis cinerea endopolygalacturonase gene family. Thisis, Wageningen Univ., The Netherlands, 2000, 119p.  
<http://edepot.wur.nl/121240>
- Tucker A.O.NacziR (2006), « Chap. I : Mentha: An OverviewofIts Classificationand Relationship » ,dans BrianM.Lawrence (ed.), Mint: ThegenusMentha., CRC Press,2006
- Tucker, AO Et RFC Naczi. 2007. Mentha : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre Mentha .16-17.
- Utree A., Slump R.A, Steging G. et Smid E.J., 2002. Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of foodprotection*.63,p:620-624.
- Uribes., Ramirez T., Pena A. 1985. Effects of B. pinene on yeast membrane functions. *Journal of Bacteriology*,pp1195-1200.
- Verbeke Nathalie, 2006. Préparatrice en pharmacie « L'aromatherapie commealternative credible a l'antibiotherapie » p16.
- Waiker A.S. (2013): Diversité et adaptation aux fongicides des populations de Boutrytis cinérea, agent de la pouriture grise, Thèse, Université Pans-Sud. P122.
- Yahyaoui N. Extraction,analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de Menthe Spicata L sur Rhyzoperlhu dominicu (F.)(Coleoptera, Bostrychidae) et Triboiumconfusm (Duv.) (Coleoptera,Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach,2005.
- Yasuji, f.k. (1951). Aromatics, 23,27.

## Annexes

### Annexe 01

**Tableau 01 : Production mondiale annuelle des fraises (en tonnes par pays) (FAOSTAT, 2012)**

Pays	2010	
 États-Unis	1 294 180	28 %
 Turquie	300 940	7 %
 Espagne	275 300	6 %
 Égypte	238 432	5 %
 Corée duSud	231 803	5 %
 Mexique	226 657	5 %
 Japon	177 500	4 %
 Pologne	176 748	4 %
 Russie	165 000	4 %
 Allemagne	156 911	4 %
 Italie	153 875	4 %
 Maroc	140 600	3 %
<b>Autres pays</b>	<b>819 888</b>	<b>19 %</b>
<b>Total</b>	<b>4 356 834</b>	<b>100 %</b>



## Annexe 02

### - Composition du milieu PDA (*Potato-Dextrose-Agar*) (Davet et Rouxel,1997)

- 200 g de pomme de terre
- 20 g de glucose
- 20 g d'agar-agar
- 1 000 ml de l'eau distillée



**Figure01:**Agar-agar



**Figure02:**Glucose



**Figure 03 :** Pomme de terre

### -Étapes de la préparation du milieu PDA

Les tubercules de pommes de terre ont été pelés, lavés et coupés en tranches minces. Ensuite, ils ont été cuits dans 200 ml de l'eau pendant 15 à 20mn (Fig. 04). Le mélange obtenu a été filtré, puis le filtrat était versé dans un Erlenmeyer d'un litre placé sur un agitateur chauffant. Le glucose et l'agar-agar ont été ajoutés au filtrat et le volume à été ajusté à 1 000ml.

L'Erlenmeyer a été retiré de la plaque lorsque le milieu devenait homogène et clair. Ce dernier a été versé dans des flacons pour être stérilisé à l'autoclave à une température de 120°C pendant 20 minutes (Fig. 04). Toutes ces manipulations ont été faites entre deux becs bunsens sous une hotte.



**Figure 04:** Préparation du milieu PDA

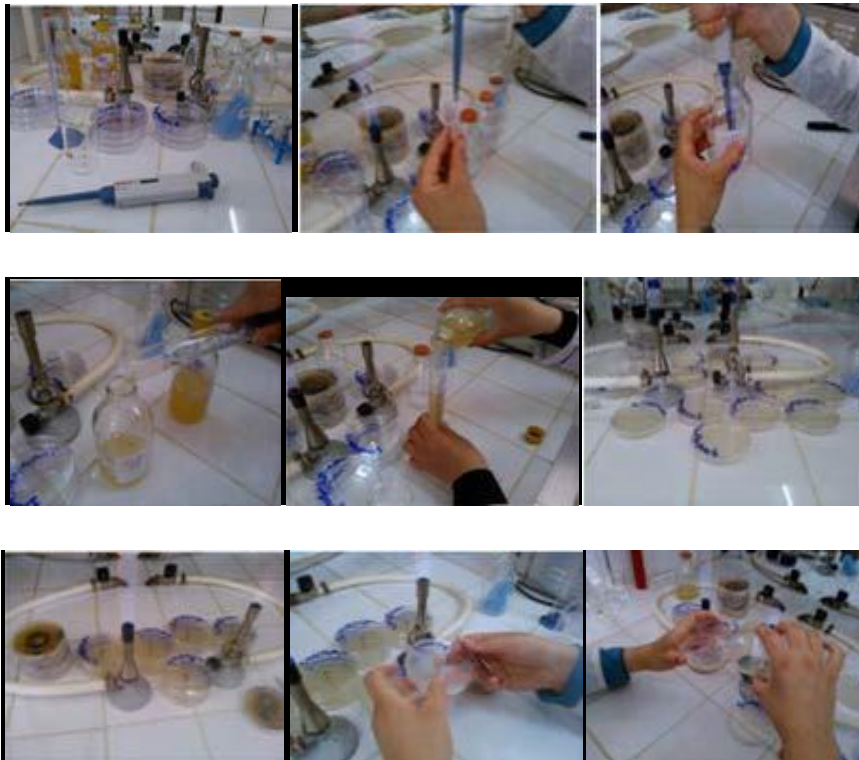
(Originale, 2016)



**Figure 05:** Milieu PDA conservé dans des flacons (**Originale, 2016**)

### Annexe 03

#### - Préparation des différentes concentrations en huiles essentielles



**Figure 06 :** Différentes étapes de la préparation des concentrations des huiles essentielles

## Annexe 04

### - Récolte des échantillons infectés



**Figure07 :** Culture de fraise sous serre