

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

Faculté Des Sciences de la Nature et de
la Vie et des Sciences de la Terre

Département : Sciences Biologiques



جامعة الجيلالي بونعامة – خميس مليانة

Université Djilali Bounaama
Khemis Miliana

قسم: علوم البيولوجيا.

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : **Biotechnologie**

Spécialité : **Biotechnologie microbienne**

THEME

**Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de
Rosmarinus officinalis sur les champignons de blé tendre**

Réalisé par :

KOLLA Khadidja

LEMANI Sara

SADOU Lakhdr

Soutenu le 29/06/2024 devant le jury composé de :

| | | | | |
|---------------|-----------------|---------------------|-----|-------------------|
| Président(e): | M ^{me} | ABDELLI Wafae | MCA | U. Khemis Miliana |
| Promoteur: | M ^{me} | AFKIR Khadidja | MAA | U. Khemis Miliana |
| Examineur: | M ^{me} | GHOMARI Faiza Nawal | MAA | U. Khemis Miliana |

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions **Allah** de nous avoir donné la volonté et la patience nécessaire pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons tout d'abord à manifester toute notre gratitude à notre chère encadreur **Mme AFKIR khadidja** pour sa patience, ses judicieux conseils, ses remarques pertinentes, ses qualités humaines, sa gentillesse et son aide généreuse et surtout pour votre disponibilité tout au long de la rédaction de notre mémoire.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury :

Mme ABDELLI Wafae de nous avoir fait le grand honneur d'accepter de présider le jury de notre mémoire.

Mme GHOMARI Faiza Nawal pour l'intérêt qu'elle a accordé à notre travail en acceptant de l'examiner.

Ainsi nous adressons, nos sincères remerciements à tous les chefs et les techniciennes de laboratoire pédagogique de l'université de Djilali Bounaama.

Nous adressons nos remerciements également envers tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, ainsi que nos collègues pour les témoignages de sympathie et l'aide morale que nous avons pu trouver auprès d'eux.

Enfin, Merci à tous ceux et celles qui nous ont soutenu d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin.

Dédicace

Je dédie ce travail,

-À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur maman. Et qu'Allah tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne santé et une longue vie afin que je puisse te combler à mon amour

-À mon père, pour son encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice et qui aurait voulu que j'atteigne ce stade et réaliser son souhait.

- À mes chères sœurs : Hind, Marwa, Wafa et Ayat pour leurs encouragements et leur soutien moral.

- À mon mari qui m'a apporté un soutien moral pour progresser de plus en plus.

- À tous mes collègues et amis

- A tous ceux que j'aime.

KOLLA KHADIDJA

Dédicace

Je dédie ce travail :

*- A mon chère Papa ABD EL KADER à qui rien au monde ne se compare à l'effort qu'il a
fourni jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être.*

Qu'Allah vous procure bonne santé et longue vie.

- A la mémoire de ma Mère (allah yarhamha). J'espère que vous êtes heureuse de mes succès

*- A ma tante ATTABI HAJER merci pour tes efforts et tes encouragements dans tout le cycle
de mes études*

- Mes chers frères et sœurs pour leur

Encouragements et leur soutien moral.

- A tous mes proches, je ne cite personne pour je n'oublier personne

- A mes amis d'études et surtout mon binôme Khadidja

- A tous ceux que j'aime.

LEMANI SARA

Dédicace

Je tiens à dédier ce mémoire de fin d'étude à Allah, source de toute connaissance et de toute inspiration. Je Le remercie pour Sa guidance et Sa grâce qui m'a permis d'accomplir ce travail.

J'adresse également mes sincères remerciements à ma mère et mon père : pour leur amour, leur soutien inconditionnel et leurs encouragements tout au long de mon parcours académique. Leurs sacrifices et leur dévouement ont été une source d'inspiration pour moi.

Je souhaite exprimer ma gratitude envers :

Mes frères et mes sœurs,

Pour leur soutien constant et leur encouragement. Leur présence a été une source de motivation pour atteindre mes objectifs.

Je tiens également à remercier : tous mes amis et spécialement mon équipe de travail : Qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ce travail. Leur amitié et leur soutien ont été inestimables.

Enfin, je suis reconnaissant envers toutes les personnes qui m'ont aidé à rédiger ce mémoire, que ce soit par leurs conseils, leurs discussions ou leurs Contributions intellectuelles. Leur expertise et leurs idées ont enrichi ce travail et ont contribué à sa qualité.

SADOU Lakhdar

المخلص

في الأونة الأخيرة، يتم إيلاء اهتمام كبير للنباتات الطبية بسبب خصائصها العلاجية. الهدف من دراستنا هو تسليط الضوء على ثراء الأنواع *Rosmarinus officinalis.L* بالمكونات النشطة، من خلال دراسة النشاط المضاد للفطريات لزيته الأساسي ضد اثنين من الفطريات الضارة *Alternaria Alternata* و *Septoria Tritici* على القمح اللين *Triticum aestivum*

تم استخراج الزيت الأساسي اكليل الجبل عن طريق التقطير المائي بجهاز من نوع clevenger. يتم اختبار الفطر باستخدام 4 جرعات مع شاهد في ظل الظروف المثلى لنشاط الفطر ؛ أعطت الأوراق متوسط هذا العائد (0,9%). الزيت أصفر فاتح اللون ورائحة عطرة قوية. توضح نتائج النشاط المضاد للفطريات أن الزيت الاساسي من *Rosmarinus officinalis L* يقدم نشاطاً مثبطاً فعالاً في *Alternaria* بجرعة واحدة.50مقارنة في *Septoria* الذي يتم تثبيطه فقط بجرعة100 في الواقع،200 ميكرو لتر كانت كافية تماما لمنع النمو الفطري لهذا القالب. تؤكد كل هذه الخصائص أهمية زيت هذا النوع في الزراعة وصناعة الأغذية والصيدلة.

الكلمات الرئيسية: اكليل الجبل، القمح الطري، *Alternaria alternata*، *Spoteria tritica*، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للفطريات.

Résumé

Dernièrement, un grand intérêt est accordé aux plantes médicinales à cause de leurs propriétés thérapeutiques. L'objectif de notre étude est de mettre en évidence le pouvoir biocide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre deux champignons redoutables *Alternaria alternata* et *Septoria tritici* de blé tendre *Triticum aestivum*.

L'extraction de l'huile essentielle est effectuée par hydro distillation avec un appareil de type cleverger en notant ses caractères organoleptiques. Après la prospection au champ et au laboratoire des champignons à travers des observations macro et microscopiques (couleur, aspect...), le test antifongique est réalisé en utilisant 4 doses d'huile (0.1, 0.2, 0.3, 0.4) avec un témoin dans les conditions optimales de l'activité des champignons. La CMI, la vitesse de croissance et l'indice antifongique sont les trois paramètres pris en considération pour évaluer l'activité de l'huile essentielle contre les champignons.

Le rendement en huile essentielle de romarin est estimé de 0.9g/100g de matière sèche. L'huile est de couleur jaune pâle, visceuse. Les hyphes de *A.alternata* sont septés, les conidies se présentent sous forme ovoïde ou elliptique, avec une extrémité se terminant par un bec. *S.tritici* apparait blanche cotonneuse, avec la présence des asques qui contiennent des ascospores. La CMI enregistrée est de 0.4% pour *A.alternata* et *S.tritici*.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis* L., *Triticum aestivum*, *Alternaria alternata*, *Septoria tritici*, huile essentielle, Activité antifongique.

Abstract

Recently, there has been significant interest in medicinal plants due to their therapeutic properties. The objective of our study is to highlight the biocidal potential of *Rosmarinus officinalis* essential oil against two devastating wheat *Triticum aestivum* fungi *Alternaria alternata* and *Septoria tritici*.

The essential oil extraction is performed by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus, noting its organoleptic characteristics. After field and laboratory prospecting of the fungi through macroscopic and microscopic observations (color, appearance...), the antifungal test is conducted using four doses of oil (0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%) with a control under optimal conditions for fungal activity. Minimum Inhibitory Concentration (MIC), growth rate, and antifungal index are the three parameters considered to evaluate the essential oil's activity against the fungi.

The yield of rosemary essential oil is estimated at 0.9g/100g dry weight. The oil is pale yellow, viscous. The hyphae of *A. alternata* are septate, and the conidia are oval or elliptical with one end terminating in a beak. *S. tritici* appears as white cottony growth with the presence of asci containing ascospores. A MIC of 0.4% was recorded for both *A. alternata* and *S. tritici*.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L., *Triticum aestivum*, *Alternaria alternata*, *Septoria tritici*, essential oil, antifungal activity.

LISTE DES ABREVIATIONS

% : pourcentage

A : *Alternaria*

AFNOR : Association Française de Normalisation

an: année

C : Concentration

C° : Degrés Celsius

cm : Centimètre

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyle

g : gramme

h : Heure

ha : hectare

HE : Huile Essentielle

IC50 : Concentration inhibitrice de 50 %

Kg : Kilogramme

Km: Kilomètre caré

m : Mètre

MH : Milieu Mueller –Hilton

MHE: Masse d'huile essentielle

min : Minute

ml : Millilitre

mm: Millimètre

MS: Matière Végétale Sèche

MV : Matière végétale

PDA : Potatoes Dextrose Agar

R : *Rosmarinus*

RHE : Rendement des huiles essentielles

S : *Septoria*

T : Température

V : Volum

LISTE DES FIGURES

- Figure 01 :** Feuilles de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 02 :** Fleur de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 03 :** Tige de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 04 :** Racine de *Rosmarinus officinalis*.
- Figure 05 :** Schéma représentant la morphologie de la plante du blé tendre
- Figure 06 :** Les différents stades de développement du blé
- Figure 07 :** Symptômes d'*A. triticina* sur les feuilles et les graines de blé
- Figure 08 :** Maladies cryptogamiques chez le blé tendre
- Figure 09 :** Situation géographique du site de récolte
- Figure 10 :** Biomasse aérienne de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 11 :** Séchage des feuilles de *R.officinalis*
- Figure 12 :** Montage hydro distillation de type CLEVANGER
- Figure 13 :** 50 g matière végétale sèche
- Figure 14 :** Photographie montrant la séparation des HEs par décantation
- Figure 15 :** Conservation des HEs
- Figure 16 :** Préparation de milieu PDA
- Figure 17 :** Etapes de préparation isolement de champignon
- Figure 18 :** Les étapes de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle de *Rosmarinus*
- Figure 19 :** Inoculation des disques mycéliens
- Figure 20 :** Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 21 :** Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*
- Figure 22 :** Observation macroscopique des échantillons des feuilles
- Figure 23 :** Aspect macroscopique de l'*Alternaria alternata*

Figure 24 : Observation microscopique d'*Alternaria GX 40*

Figure 25 : Aspect macroscopique de *Septoria tritici*

Figure 26 : Aspect microscopique de *Septoria tritici GX 40*

Figure 27 : Croissance mycélienne d'*Alternaria alternata*(en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *R. officinalis*

Figure 28 : Modification macromorphologique d'*Alternaria alternata* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *R.officinalis*

Figure 29 : Indice antifongique d'*Alternaria alternata*

Figure 30 : Vitesse de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternata*

Figure 31 : Croissance mycélienne de *Septoria tritici* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

Figure 32 : Modification morphologique de *Septoria tritici* en fonction du temps d'incubation et la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

Figure 33 : Indice antifongique

Figure 34 : Vitesse de la croissance mycélienne de *Septoria tritici*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : les principales localisations du *Rosmarinus officinalis* en Algérie

Tableau 02: Classification dans la systématique botanique

Tableau 03 : Composition chimique de *R.Officinalis*

Tableau 04 : Classification botanique de blé tendre

Tableau 05 : Maladies cryptogamiques du blé tendre

Tableau 06 : Principaux insectes ravageurs du blé tendre

Tableau 07 : Les différentes Matériels et produits utilisés

Tableau 08 : Valeurs des dilutions utilisées

Tableau 09 : Caractéristiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Tableau 10 : Croissance mycélienne d'*Alternaria alternata* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

Tableau11: Indice antifongique pour *Alternaria alternata*

Tableau 12 : Croissance mycélienne de *Septoria tritici* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmaarinus officinalis*

Tableau 13 : Indice antifongique de *S.Tritici*

Table des matières

I. REMERCIEMENTS

II. DIDICACE

III. RESUME

IV. LISTE DES ABREVIATIONS

V. LISTE DES FIGURES

VI. LISTE DES TABLEAUX

VII. SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre I : Présentation de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> | |
| I.1 Historique | 4 |
| I.2 Etymologie et nom vernaculaires | 4 |
| I.3 Répartition géographique | 4 |
| I.4 Classification botanique | 5 |
| I.5 Description botanique de l'espèce <i>R.officinalis</i> | 6 |
| a) Feuilles | 6 |
| b) Fleurs | 6 |
| c) Tige | 6 |
| d) Racines | 7 |
| I.6 Habitat et culture | 7 |
| I.7 Composition chimique | 7 |
| I.8 Usage et intérêt | 8 |
| I.8.1 En agro-alimentaire | 8 |
| I.8.2 En cosmétique | 8 |
| I.8.3 En agronomie | 8 |
| I.8.4 En médecine | 8 |
| I.9. les huiles essentielles | 9 |
| I.9.1 Définition | 9 |
| I.9.2 Localisation d'une huile essentielle dans la matière végétale | 9 |
| I.9.3 Propriétés physico-chimique des huiles essentielles | 10 |
| I.9.3.1 Propriétés physiques | 10 |
| I.9.3.2 Propriétés chimiques | 10 |
| Chapitre II : Généralités sur blé tendre | |
| II.1 Origine et historique du blé tendre | 11 |
| II.2 Classification botanique | 11 |
| II.3 Description botanique de la plante | 12 |
| II.4 Cycle de développement du blé tendre | 12 |
| II.5 Exigences écologiques du blé | 13 |
| a. Besoins en chaleur | 13 |
| b. Besoins en eau | 14 |
| c. Besoins en lumière | 14 |
| d. Besoins en sols | 14 |
| II.6 Contraintes de la culture du blé tendre | 14 |
| II.6.1 Contraintes naturelles | 14 |
| II.6.2 Contraintes économiques | 14 |
| II.7 Principales maladies du blé tendre | 14 |
| II.7.1 Maladies cryptogamiques | 14 |
| II.7.1.1 Alternariose | 14 |
| II.7.1.2 Septoriose ou la tache septorienne | 15 |
| II.8 Ravageurs de blé tendre | 18 |

| | |
|---|----|
| II.9 Variétés de blé tendre cultivé en Algérie | 19 |
| II.10 Utilisation de blé | 19 |
| II.10.1 Dans l'alimentation humaine | 19 |
| II.10.2 Dans l'alimentation animale | 19 |
| Chapitre III : Matériel et méthodes | |
| III. Objectif de l'étude | 21 |
| III.1 Présentation de la zone d'étude | 21 |
| III.2 Matériel biologique | 22 |
| III.2.1 Matériel végétale | 22 |
| III.2.2 Matériel fongique | 23 |
| III.3 Matériels et produits utilisés | 23 |
| III. 4 Extraction de l'huile essentielle | 24 |
| III.4.1 Principe | 24 |
| III.4.2 Mode opératoire | 24 |
| III.4.4 Détermination du rendement en huiles essentielles | 26 |
| III.4.5 Conservation d'huile essentielle obtenue | 26 |
| III.5 Culture du champignon | 27 |
| III.5.1 Préparation du milieu de culture | 27 |
| III.5.3 Purification et identification du champignon | 28 |
| III.6 Activité antifongique | 29 |
| III.6.1 Préparation des concentrations de l'huile essentielle | 29 |
| III.6.2 Essai d'activité antifongique | 29 |
| III.6.3 Détermination de l'indice antifongique | 31 |
| III.6.4 Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI) | 32 |
| III.6.5 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC) | 32 |
| Chapitre IV: Résultats et discussion | |
| IV.1 Rendement en huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> : | 34 |
| IV.2 Identification du champignon | 35 |
| IV.2.1 Observations macroscopiques | 35 |
| IV.2.1.1 Diagnostic symptomatologique | 35 |
| IV.2.1.2 Diagnostic au laboratoire | 35 |
| IV.2.3 Activité antifongique de l'huile essentielle contre <i>Alternaria alternata</i> | 37 |
| IV.2.3.1 Evaluation de la croissance mycélienne | 37 |
| IV.2.3.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) | 40 |
| IV.2.3.3 Détermination de l'indice antifongique (IA) | 40 |
| IV.2.3.4 Vitesse de la croissance mycélienne | 41 |
| IV.2.4 Activité antifongique de l'huile essentielle contre <i>Septoria tritici</i> | 42 |
| IV.2.4.1 Evaluation de la croissance mycélienne | 42 |
| IV.2.4.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) | 45 |
| IV.2.4.3 Détermination de l'indice antifongique (IA) | 45 |
| IV.2.4.4 Vitesse de la croissance mycélienne | 46 |
| IV.3 Etude comparative de l'activité antifongique de <i>A.alternata</i> et <i>S.tritici</i> | 46 |
| IV.4 Discussion générale | 47 |
| Conclusion | |
| Conclusion | 49 |
| Références Bibliographiques | |
| Annexes | |

Introduction générale

Introduction générale

Les céréales sont les principales sources de la nutrition humaine et animale dans le monde. Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième, après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines (**Bajji, 1999**). Le blé tendre est l'espèce céréalière la plus importante du point de vue économique qui s'est adaptée à des conditions naturelles très variées (**Epstein et al., 1980**).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun, 2009**). A ce jour, les céréales, le blé (dur et tendre) en particulier constituent la principale base du régime alimentaire pour les consommateurs algériens (**Ammar, 2015**). Leur utilisation est très différents principalement en semoulerie et en meunerie, pour produire la semoule à partir du blé dur et la farine à partir du blé tendre (**Djelti, 2014**).

Les maladies fongiques contribuent à une grande perte de rendement. Les principales maladies foliaires observées sur le blé, la tache septorienne, *Septoria tritici*, la maladie de la tache bronzée. La maladie de l'alternariose ou brûlures atériennes. est causée par la moisissure d'*Alternaria triticina*. L'alternariose a été décrite pour la première fois en 1892 ; elle constitue un problème grave dans de nombreuses régions du monde où elle affecte une grande gamme des céréales et des Solanacées (**Tymon et al., 2013**).

La protection des cultures joue un rôle essentiel pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments en évidence les maladies sont probablement la plus grande contrainte à augmenter la production et le rendement globale de la récolte et un du facteur majeur qui limite leur qualité (**Morcia et al., 2015**).

Que se soit dans les pays développés ou en voie de développement, les huiles essentielles détiennent actuellement une place importante dans les systèmes de lutte, leur rôle dans la recherche phytopharmaceutique dans certains pays du monde n'est plus à démontrer (**Lahlou, 2004**).

En effet, les substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte pour la protection des denrées stockées.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) une herbe aromatique de la famille des Lamiaceae, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, anticancéreuse, antifongique et antibactérienne, est largement utilisée en médecine traditionnelle, elle fait l'objet de recherches dans les domaines culinaire, cosmétiques et agro-alimentaires (Atik bekkara, 2007)

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétale en Algérie et compte tenu des avantages thérapeutiques représentés par les Lamiacées. Nous nous intéressons à l'extraction des huiles des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* poussant spontanément dans la commune d'Aindefla.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité des biopesticides des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* contre de l'agent phytopathogène *Alternaria alternata* responsable de la maladie d'alternariose et *Septoria tritici* responsable de la maladie de septeriose du blé tendre cultivé dans les conditions pédoclimatiques de haut chelif. Notre étude comporte deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique sur le blé tendre et les champignons du blé.
- La deuxième partie représente la partie expérimentale qui contient la présentation du matériel et méthodes utilisée (sur terrain et au laboratoire) pour atteindre notre objectif, puis la partie Résultats et Discussion où nous présentons nos résultats avec interprétation et discussion.
- Enfin, nous avons terminé par une conclusion générale avec quelques perspectives.

PARTIE 01

Synthèse

bibliographique

Chapitre I : Présentation de *Rosmarinus officinalis*

I.1 Historique

Rosmarinus officinalis L. qui signifie « rose de la mer » est appelé aussi « Herbe aux couronnes » ou « Herbe aux troubadours ». Depuis l'antiquité, le romarin est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce (Djellouli, 2016). Son utilisation remontant à l'Égypte ancienne. Au IX^e siècle, elle s'est répandue en Europe centrale grâce aux efforts des moines bénédictins. Le romarin a gagné en popularité principalement grâce à son inclusion dans diverses compositions. L'eau magique connue sous le nom d'eau de la reine de Hongrie a été reconnue pour avoir redonné vitalité et beauté à une femme âgée de 72 ans souffrant d'infirmité et de goutte (Teuscher et Lobstein, 2005).

À partir du XV^e siècle, le romarin est apparu dans les livres des recettes de cuisine, et il a été cultivé pour ses propriétés thérapeutiques (Wilson et Guylaine, 2008).

I.2 Étymologie et noms vernaculaires

Le « romarin » c'est un nom qui vient du latin « rosmarinus » (rosée de mer). Il possède plusieurs appellations :

- Berbère : Azir, iazirou ou yiazir
- Arabe : Iklil el jabal
- Français : Herbe aux couronnes, romarin des troubadours, rose marine, encensier
- Anglais : Rosemary (El Rhaffari, 2008).

I.3 Répartition géographique

- **Dans le monde**

L'aire géographique du Romarin est spécifiquement méditerranéenne, il est répandu dans les pays européens, en France, en Espagne, au Portugal. De l'autre côté de Gibraltar on le retrouve au Maroc, en Tunisie et en Libye; malgré son abondance, il devient rare et n'apparaît que dans quelques endroits isolés en Égypte, en Israël, au Liban et à Chypre. Il réapparaît également en Turquie, en Grèce et en Italie (Helal, 2010).

- **En algerie**

Le romarin s'étale sur une superficie excédant 100 000 hectares et les principales localisations sont reportées dans le tableau 1 (Bensebia et al., 2009).

Tableau 01: les principales localisations du *Rosmarinus officinalis* L. en Algérie

| Wilaya | Superficie approximative |
|----------------|--------------------------|
| Biskra | 1500ha |
| Khenchela | 5000ha |
| Ain Temouchent | 800ha |
| Naama | 500ha |
| Mila | 4000ha |
| Msila | 4500ha |
| Setif | 3500ha |
| Souk ahras | 4410ha |
| Bejaya | 500ha |
| Sidi bel abbes | 429.5ha |
| Oran | 2570ha |
| Mostaganem | 400ha |

(Bensebia et al., 2009).

I.4 Classification botanique

Tableau 02 : Classification dans la systématique botanique

| Règne | Plante |
|----------|-------------------------------|
| Division | <i>Magnoliophyta</i> |
| Classe | <i>Magnoliopisda</i> |
| Ordre | <i>Lamiales</i> |
| Famille | <i>Lamiaceae</i> |
| Genre | <i>Rosmarinus</i> |
| Espèce | <i>Rosmarinus officinalis</i> |

(Mostefai, 2012).

I.5 Description botanique de l'espèce *R. Officinalis*

a) Feuilles

Les feuilles, pour la plupart, sont simples, coriaces et sessiles, et poussent généralement selon des motifs décussés opposés. L'épiderme inférieur des feuilles est muni de stomates localisés dans des creux et cryptes protégés par de nombreux poils técteurs pluricellulaires ramifiés à limbe enroulé par-dessous (**fig.01**) (**Leplat, 2017**).



Figure 01: Feuilles de *Rosmarinus officinalis* L. (photo Originale, 2024).

b) Fleurs

C'est une plante hermaphrodite, possède un plan de symétrie vertical car la corolle est zygomorphe et l'étamine supérieure est absente ; sa floraison peut être faite pendant les mois de : janvier, avril, juillet et octobre, polonisée par les insectes (**Rameau et al, 2008**) (**fig. 02**).



Figure 02 : Fleur de *Rosmarinus officinalis* L. (Site web N° 1)

c) Tige

Quadrangulaire, recouverte d'une cuticule relativement épaisse, assez imperméable à l'eau et aux gaz permettant de limiter la perte d'eau via la transpiration (**Leplat, 2017**) (**fig. 03**).



Figure 03 : Tige de *Rosmarinus officinalis* L. (photo Originale, 2024).

c) Racine

Profonde et pivotante (Leplat, 2017)

(fig. 04).



Figure 04 : Racine de *Rosmarinus officinalis*.L (Site web N° 2).

I.6 Habitat et culture

Le romarin poussée dans des endroits exposés, secs et chauds à une altitude de 0 à 650 m, elle peut se croître sur des sols sableux, schisteux ou calcaires et peut tolérer des terrains acides ou basiques (Mértola, 2018).

I.7 Composition chimique

Le romarin renferme plusieurs substances, résumées dans le tableau suivant:

Tableau 03 : Composition chimique de *R.officinalis*

| | |
|--|--|
| Huile essentielle (1 à 2,5%) | 1,8 cinéole, alpha-pinène camphre de romarin camphène |
| Acides phénols ou dérivés caféiques | Acide caféique, chlorogénique, acide vanillique, acide rosmarinique, rosmarine, acide P-coumarique |
| Flavonoïdes | Lutéoline, quercétine, genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridines, diosmine, apigénine |
| Diterpènes | Acide carnosolique, rosmadial |
| Triterpènes, stéroïdes | Acide aléanolique, acide ursotique |
| Lipides | N-aLkanes, isolalkanes, alkènes |

(Zeghad, 2009).

I.8 Usage et intérêt

I.8.1 En agro-alimentaire

Selon Albert *et al.* (1996):

- Les extraits végétaux de Romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques.
- L'huile est utilisée dans les boissons, les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélamines et pouding, viande et produits de viande, condiments et assaisonnement,

I.8.2 En cosmétique

- Il y a du Shampoing à base d'huile essentielle de romarin pour traiter le cuir chevelu gras. (Soizic, 2016)
- L'extrait de feuille de *R.officinalis* améliore la régénération des cheveux (Kazuya *et al.*, 2012)

I.8.3 En agronomie

- L'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis.L* est utilisée comme biopesticide pour lutter contre les principaux vecteurs de la dengue (Duarte *et al.*, 2015)

I.8.4 En médecine

- antispasmodique dans les coliques rénales et la dysménorrhée.
- traitement ou prévention de l'asthme bronchique, des troubles spasmogènes, de l'ulcère gastroduodéal, des maladies inflammatoires, de l'hépatotoxicité, de l'athérosclérose, cardiopathie ischémique, cataracte, cancer
- pour soulager les troubles respiratoires.
- Extrait du romarin détend les muscles lisses de la trachée et de l'intestin et a une activité cholérétique, hépatoprotectrice et antitumérogène.
- L'extrait hydro alcoolique est utilisé pour le traitement d'un large éventail de maladies, y compris la dépression (Machado *et al.*, 2012).
- L'huile essentielle présente aussi une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Mouas *et al.*, 2017).

I -9 Huiles essentielles

I -9-1- Définition

D'après Zoubeidi (2004), les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverse partie des végétaux. Elles sont concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. L'huile essentielle de Romarin est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement camphré, pénétrante de saveur très aromatique, les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25ml/kg, Le type Algérienne renferme plus que :

- **0.74%** dans la plante sèche.
- **0.1%** dans les feuilles.
- **1.4%** dans les fleurs et rameaux

La teneur en huile essentielle de Romarin varie en fonction de l'origine géo-climatique de la plante (**Zoubeidi, 2004**).

I -9-2 - Localisation d'une huile essentielle dans la matière végétale

Les huiles essentielles se trouvent dans des glandes minuscules situées dans les différentes parties de la plante aromatique.

- Dans les feuilles comme le basilic.
- Dans les fleurs comme la rose.
- Dans les fruits comme le citron.
- Dans les graines comme la coriandre.
- Dans l'écorce comme la cannelle.
- Dans les racines pour certaines plantes.

Les huiles essentielles sont souvent localisées sur ou à proximité de la surfaces de la plante.

Si l'on écrase la feuille (ou partie concernée) d'une plante aromatique, des petites poches vont se briser laissant s'échapper la substance aromatique. C'est pour cette raison que la récolte se fait au meilleur moment en fonction des substances que l'on veut extraire et des conditions extérieures (climat, période de l'année ...), car la plante ne développe pas les mêmes composants selon la période de l'année (**Madjour, 2014**).

I -9-3- Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

I -9-3.1- Propriétés physiques

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. La nature huileuse des huiles essentielles, la rend liposoluble ainsi elles sont peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses, et dans les alcools. Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation. Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux ce qui induit à la perte de ses propriétés. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (**Ouibrahim, 2010**).

I -9-3.2 - Propriétés chimiques

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composés différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques :

Les terpènes et les dérivés du phényle propane bio synthétisé essentiellement à partir de l'acide shikimique (**Ouibrahim, 2010**).

Chapitre II : Généralités sur blé tendre

II.1 Origine et historique du blé tendre

Le blé tendre est apparu entre 5000 et 6000 ans avant Jésus-Christ dans le croissant fertile puis s'est dispersé à partir de la Grèce en Europe. C'est à partir de cette zone que les blés ont été diffusés vers l'Afrique, l'Asie et l'Europe (**Bonjean, 2001 in boulal et al, 2007**).

Le blé tendre appartient au genre *Triticum* espèce *aestivum* L (*syn. Triticum vulgare, Villars.*). Le genre *Triticum* comporte de nombreuses autres espèces, chacune d'elles étant composée d'un grand nombre de variétés botaniques (**Moule, 1971**).

Il y a deux espèces de blé les plus cultivées sont :

- Blé dur (*Triticum durum*)
- Blé tendre (*Triticum aestivum*) (**Kellil, 2010**).

Selon **Moule (1971)**, les trois groupes d'espèces du genre *Triticum* auraient trois centres d'origine distincts :

- Le foyer Syrien et nord palestinien.
- Le foyer Afghano-Indien.
- Le foyer Abyssin.
- Le Caucase.

II.2 Classification botanique

Tableau 04 : Classification botanique de blé tendre.

| | |
|------------------|--------------------------|
| Règne | <i>Plante</i> |
| Clade | <i>Angiospermes</i> |
| Clade | <i>Monocotyledones</i> |
| Clade | <i>Commelinidae</i> |
| Ordre | <i>Poales</i> |
| Famille | <i>Poaceae</i> |
| S/Famille | <i>Pooideae</i> |
| Genre | <i>Triticum</i> |
| Espèce | <i>Triticum aestivum</i> |

(Feillet, 2000).

II.3 Description botanique de la plante

La feuille du blé est simple, allongée, alternée à nervures parallèles; elle se compose de deux parties

- La partie inférieure entourant la jeune pousse qui est la graine.
- La partie supérieure en forme de lame qui est le limbe (Soltner, 1999).

Le blé contient une tige creuse et cylindrique qui est cloisonnée par des nœuds renflés (Lersten, 1987).

Les fleurs du blé sont de couleur verdâtre et ne possèdent pas de pétales colorés (Bozzini, 1988).

Le fruit du blé est un caryopse, c'est un fruit sec indéhiscent dans le quel le péricarpe du fruit et le tégument de la graine sont soudés. Le grain de blé est principalement composé d'amidon, de protéine et de pentosanes, ainsi que d'autres composants en quantités plus faibles (Feillet, 2000).

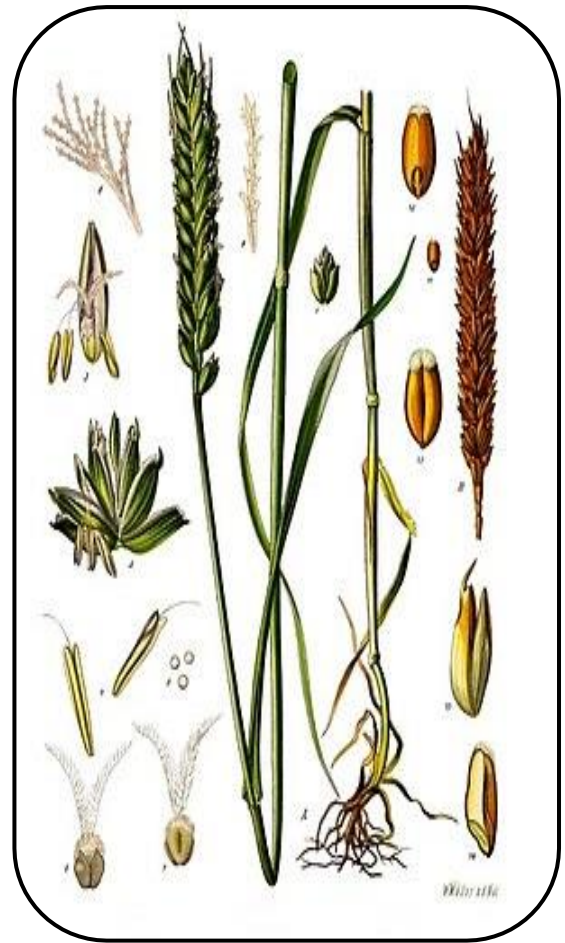


Figure 05: Schéma représentant la morphologie de la plante du blé tendre (Site web N° 3)

II. 4 Cycle de développement du blé tendre

Le cycle de développement d'un blé comprend trois grandes périodes :

- La période végétative qui va de la germination aux premières manifestations de l'allongement de la tige principale, c'est-à-dire au début de la montée.
- La période reproductrice allant du début de la montée à la fécondation.
- La période de maturation allant de la fécondation à la maturité complète du grain. (Moule, 1971).

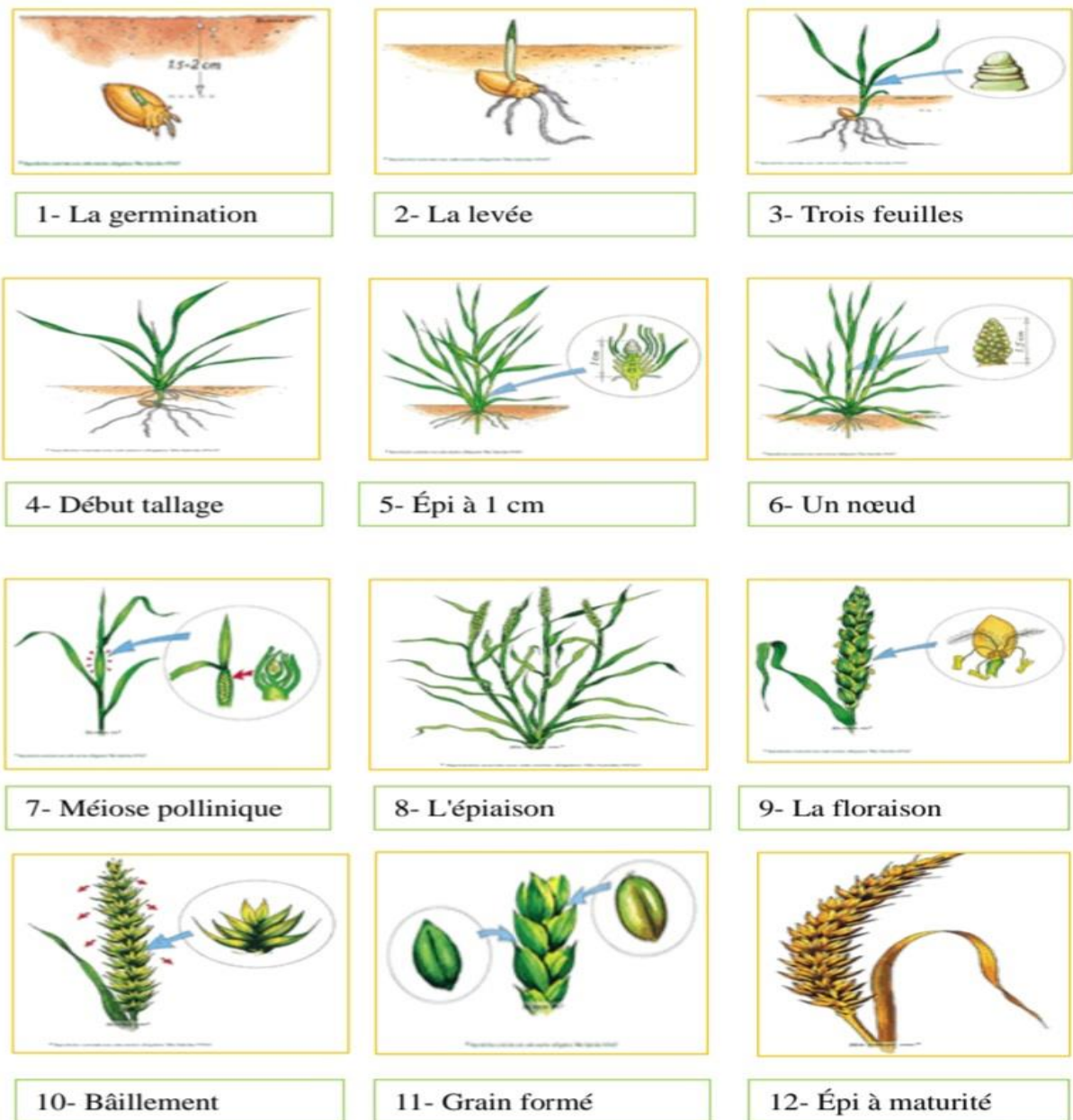


Figure 06: Les différents stades de développement du blé (Soltner, 2005).

II.5 Exigences écologiques du blé

Selon Hubert (2007), les exigences du blé sont :

a) Besoins en chaleur

Le blé demande des températures optimales diverses selon les différentes phases de son cycle :

- Germination : entre 0° et 43°, température optimum 27°.
- Floraison : température optimum 16,5°C.
- Maturation : température autour de 20°C.

b) Besoins en eau

- Pendant les différentes phases de son cycle, le blé a besoin de 600 à 1500 mm d'eau par an, bien répartie.

c) Besoins en lumière

- Le blé est une plante de pleine lumière.

d) Besoins en sols

- Le blé est une plante exigeante qui demande des sols : profonds, à structure grumeleuse, perméable et frais, ainsi riches en humus et matières minérales à un pH voisin de la neutralité.
- Le blé peut croître et développer normalement dans des sols limoneux, argilo-calcaires, argilo-siliceux et même dans des sols volcaniques.
- Le blé se trouve depuis le niveau de la mer jusqu'à 1600 m d'altitude. Les conditions écologiques favorables à sa croissance sont réunies sur les Hauts-Plateaux.

II.6 Contraintes de la culture du blé tendre

II.6.1 Contraintes naturelles

D'après **Mathieu (2012)**, la pluviométrie, la sécheresse, le vent et la grêle, sont des contraintes naturelles entravant la production du blé en Algérie.

II.6.2 Contraintes économiques

Les contraintes économiques sont liées aux coûts de production élevés résultants des facteurs de production et du matériel agricole (**Bencharif et Rastoin, 2007**).

II.7 Principales maladies du blé tendre

✓ Maladies cryptogamiques

Le blé tendre est susceptible d'être confronté à de différentes maladies cryptogamiques dues à des champignons qui peuvent pénaliser le rendement et la qualité, en attaquant différents organes (**Fig. 08**).

II.7.1 Alternariose

Causée principalement par le genre *Alternaria*, il appartient aux moisissures atmosphériques, comprend près de 275 espèces (**Simmons, 2007**). Ce champignon cause la brûlure des feuilles et des épis du blé et du triticale. Les jeunes plantes sont résistantes à l'agent pathogène. Les semis commencent à perdre cette résistance à l'âge d'environ quatre semaines et

les symptômes ne se développent généralement pas avant que les plants aient atteint l'âge de 7 à 8 semaines.

Les feuilles les plus basses sont toujours les premières à présenter des symptômes, et la maladie se propagera progressivement aux feuilles les plus hautes

Les premiers symptômes sont de petites lésions chlorotiques ovales irrégulièrement dispersées sur les feuilles. Ceux-ci grossissent, deviennent irréguliers et se développent en lésions enfoncées brun foncé ou gris. Les lésions peuvent avoir une zone marginale jaune vif et peuvent atteindre 1 cm ou plus de diamètre. Les lésions peuvent fusionner et couvrir de grandes régions de la feuille (**fig. 07**), entraînant la mort de la feuille entière. Dans des conditions humides, les lésions peuvent être recouvertes de conidies poudreuses noires. Dans des conditions sévères, les symptômes peuvent également être observés sur la gaine des feuilles, les arêtes et les glumes.



Figure 07 : Symptômes d'*A. triticina* sur les feuilles et les graines de blé (**Prabhu et Prasada, 1966**).

II.7.2 Septoriose ou la tache septorienne

C'est une maladie très répandue dans le monde (**Eyal et al., 1987**). La tache septorienne du blé est causée par *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe: *Septoria tritici*), elle a été récemment nommée ; *Zymoseptoria tritici* (**Quaedvlieg et al., 2011**). Elle apparaît sous forme de lésions chlorotiques sur les feuilles basales (**Ponomarenko, 2011**), les taches prennent la couleur jaune en premier temps (chlorose), puis deviennent brune après la mort des tissus (nécrose) (fig. 7/F).

Beaucoup d'autres maladies cryptogamiques peuvent attaquer la culture du blé, le tableau ci-dessous résume ces différentes maladies.

Tableau 05 : Maladies cryptogamiques du blé tendre.

| Maladies | Agent causal | Symptômes | Méthodes de lutte |
|--------------------------------------|-----------------------------|---|--|
| Oïdium (Fig. A) | <i>Erysiphe graminis</i> | Apparition des touffes blanches, cotonneuses sur toute la feuille qui deviennent brunes et grises, ainsi des taches sur les gaines des feuilles et les glumes des épis | <ul style="list-style-type: none"> • Un choix variétal adapté • la rotation culturale • le fractionnement de l'azote |
| La rouille jaune (Fig. B) | <i>Puccinia striiformis</i> | Sur les feuilles supérieures pustules jaunes parfois orangées, On peut observer les pustules aussi sur les feuilles inférieures, les épis et les grains. | <ul style="list-style-type: none"> • La lutte culturale est essentiellement orientée vers le choix de variétés. • La lute chimique en préventif. |
| La rouille brune (Fig. C) | <i>Puccinia recondita</i> | Pustules du début d'attaque du brun au brun orangé, dispersées sur la feuille, essentiellement sur la face supérieure. Les attaques graves peuvent atteindre l'épi en fin de cycle. | |
| La rouille noire (Fig. D) | <i>Puccinia graminis</i> | Apparition des pustules rouge brique à marron foncé, sur les feuilles, les tiges et les épis. | |
| Fusariose (Fig. E) | <i>Fusarium spp</i> | Sur les feuilles, apparition de taches avec grande macule vert bouteille au centre. Des stries noires qui s'étendent sous forme de trait de plume en suivant les nervures. La nécrose se généralise ensuite autour de la tige. Sur l'épi, feutrage rosé autour de la glume. | <ul style="list-style-type: none"> • Un choi variétal Adapté • La rotation culturale <p>la lutte chimique en préventif</p> |

(Mathieu, 2012).



A.Oidium du blé tendre



B.Rouille jaune



C.Rouille brune



D.Rouille noire



E.Fusariose








F.Septoriose

Figure 08 : Symptomes des Maladies cryptogamiques chez le blé tendre

II.8 Ravageurs de blé tendre

Les ravageurs de blé tendre sont présents tout au long cycle de la culture. Ils peuvent provoquer jusqu'à 30 q/ha de perte de rendement (**Tableau 6**)

Tableau 6 : Principaux insectes ravageurs du blé tendre.

| Nom commun | Nom scientifique | Parties attaquées | Figures |
|--|---|---|---|
| La mouche de Hesse | <i>Mayetiola destructo</i> | Grains |  |
| Vers blancs (Hanneton Européen) | <i>Geotro gusdeserticol</i> | Racines |  |
| Puceron | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Sitobion</i> • <i>Rhopalosiphum pad</i> | <ul style="list-style-type: none"> • Feuille • jeunes épi |  |
| Punaïse | <i>Eurygasterb</i> | Epis |  |
| Criquet | <i>Ocneridia volxemi</i> | Feuilles et tiges |  |

(Ayadi, 2019).

II.9 Variétés de blé tendre cultivées en Algérie

Selon l'institut technique des grandes cultures, 3 à 4 variétés sur une vingtaine de variétés de blé tendre sont cultivées en Algérie il s'agit de :

- **Hidhab** : c'est une variété précoce à paille moyenne et à épi long. Hidhab présente de bonnes caractéristiques technologiques pour la panification
- **Mahon Demias** : C'est un blé introduit par les premiers colons français en Algérie. cette variété est à semer en zones sèches et sur les sols légers.
- **Anza** : D'origine américaine (Californie), est la variété de blé tendre connu partout en Algérie. C'est une variété précoce (plus précoce que Hidhab)
- **Florence Aurore** : moins cultivée en Algérie

II.10 Importance de blé

Le blé est la source de protéines la plus importante au monde et la deuxième source de calories après le riz. D'ici à 2050, une augmentation de 60 % de la production mondiale de blé sera nécessaire pour répondre à la demande d'une population croissante (**Louali , 2016**).

II.10.1 Dans l'alimentation humaine

- L'amidon (glucides complexes) qui compose 55% de la graine est aussi transformé en glucose pour être utilisé comme additif dans de nombreux produits alimentaires.
- Le blé tendre, il est utilisé principalement en meunerie pour obtenir la farine nécessaire à la production de pain commercial, de viennoiseries ou de pâtisseries (**Louali , 2016**).

II.10.2 Dans l'alimentation animale

- Le blé tendre fourrager entre aussi dans la composition d'aliments pour les volailles, porc, ovins et bovins.

PARTIE 02

Experimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III Objectif de l'étude

Notre étude basée sur l'extraction des huiles essentielles d'une espèce appartenant à la famille des Lamiacées (*Rosmarinus Officinalis*) cueillie dans la région d'AinDefla (ville) sur le champignon *Alternaria alternata et Septoria tritici* qui attaquent le blé tendre *Triticum aestivum*. Les analyses ont été conduites au :

- Laboratoire de Biologie végétale de l'université de Djilali Bounaama Khemis Miliana pour hydro distillation.
- Laboratoire de la microbiologique de Djilali Bounaama Khemis Miliana pour l'isolement de champignon et activité antifongique

La durée de l'expérimentation s'est étalée sur une période de trois mois (de mars à mai) de l'année universitaire 2023/2024.

III.1 Présentation de la zone d'étude

Notre zone d'étude est située au centre de l'Algérie à 145 km au sud ouest d'Alger dans une zone reliant l'Est et l'Ouest du pays. Elle est délimitée :

- ✓ Au nord, par la wilaya de Tipaza.
- ✓ Au nord-est, par la wilaya de Blida.
- ✓ À l'est, par la wilaya de Médéa.
- ✓ À l'ouest, par la wilaya de Chlef.
- ✓ Au sud, par la wilaya de Tissemsilt.

Les coordonnées géographiques de la ville d'Ain Defla :

- ✓ Latitude : 36° 18' 50" nord.
- ✓ Longitude : 2° 09' 50" est.
- ✓ Superficie : 86 km²

- **Climat**

Le climat la wilaya de Ain Defla est de type méditerranéen semi-aride, avec un caractère de continentalité très marqué. La pluviométrie varie entre 500 et 600 mm/a

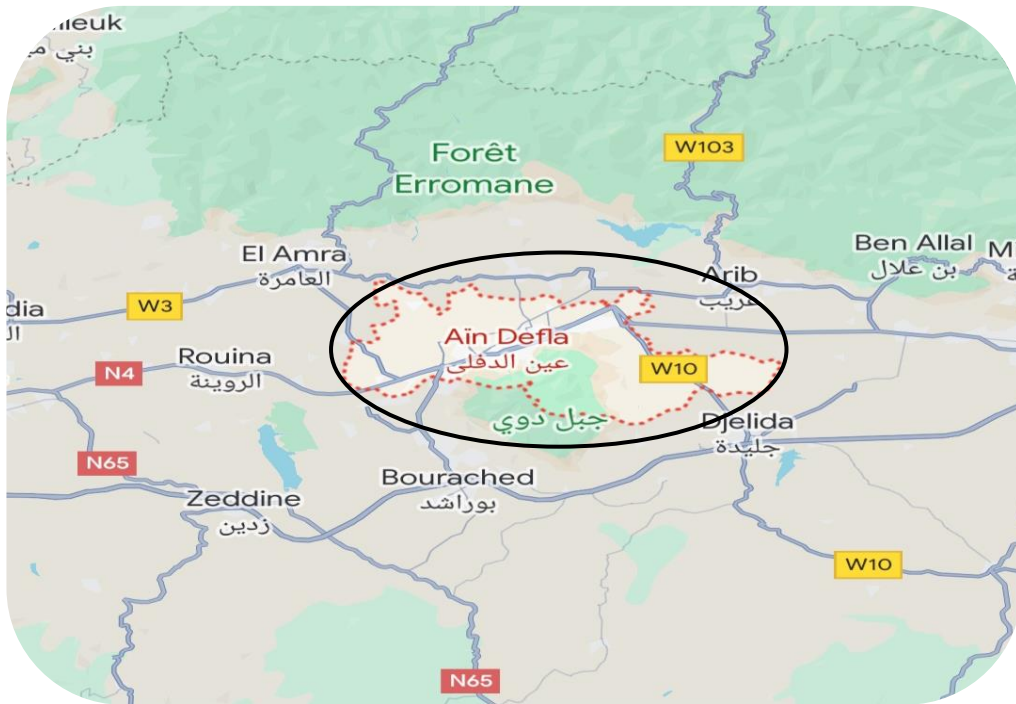


Figure 09: Situation géographique du site de récolte (GOOGLE EARTH, 2024)



Figur 10: Biomasse aérienne de *Rosmarinus officinalis* (Photo original)

III.2 Matériel biologique

1-Matériel végétale

Le matériel végétal utilisé est les feuilles de *Rosmarinus Officinalis.L* récoltées au mois de mars 2024 dans la région d'Ain Defla.

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée à partir des parties aériennes, les plantes de

R. officinalis sont séchées à l'air libre à l'ombre pendant 18 jours (**fig.11**), les échantillons sont bien étalés sur la paille afin d'éviter tout risque de moisissures, puis soumis à distillation, à l'aide d'un extracteur de type CLEVANGER.



Figur 11: Séchage des feuilles de *R.officinalis*

2-Materiel fongique

Le materiel biologique utilisé sont deux champignons très redoutables pour le blé tendre : *Alternaria altarnata* et *Septoria tritici*. Les échantillons du blé tendre attaqués par nos deux champignons sont récoltés de la station expérimentale de l'université de Djilali Bounaama de Khemis Miliana à partir de l'expérimentation des étudiants des sciences agronomiques sur le blé tendre.

III.3 Matériel et produits utilisés

Les différets produits et materiels utilisés au laboratoire sont figurés sur le tableau ci-dessous.

Tableau 07 : Les différentes Matériels et produits utilisés.

| Matériels | Produits |
|---------------------|---------------------|
| o Clavanger | o Eau distillée |
| o Un ballon | o L'eau physiologie |
| o Un réfrigérant | |
| o Une balance | |
| o Erlenmeyer | |
| o Burette | |
| o Seringue | |
| o Eppendorf | |
| o Papier aluminium | |
| o papier genique | |
| o Becher | |
| o Etuve | |
| o Micropipette | |
| o Plaque chauffante | |

III. 4 Extraction de l'huile essentielle

III. 4.1 Principe

La technique d'hydro distillation est basée sur l'immersion de la matière végétale dans de l'eau bouillante. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux phases :

- Phase organique : huileuse et très odorante appelée « huile essentielle » contenant la majorité des composés odorants.
- Phase aqueuse : odorante appelée « eaux aromatiques » contenant que très peu des composés odorants (**Benkeblia, 2005**).

III. 4.2 Mode opératoire

L'extraction des HEs *de Rosmarinus officinalis* est réalisée par hydro-distillation pendant 1h et 30 min à l'aide d'un dispositif de type Clevenger.



Figure 12 : Montage hydro distillation de type CLEVANGER (Photo originale, 2024).

L'opération consiste à placer 50 g de masse végétale séchée de romarin dans un ballon en verre de 1000ml, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée (500ml) sans remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition sur une chauffe ballon pendant 1 heure 30 minute ou plus jusqu'à stabilisation du volume d'huile essentielle.

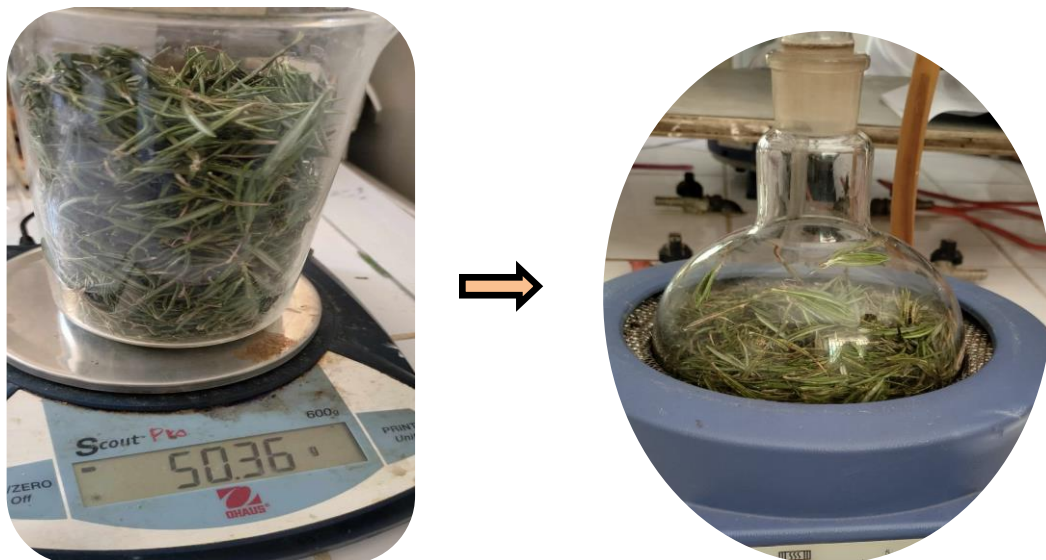


Figure 13 : 50 g matière végétale sèche (Photo originale, 2024).

Les vapeurs chargées d'HE passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.

Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'HE de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière, L'huile ainsi obtenue est récupérée dans un eppendorf (**fig.14**).

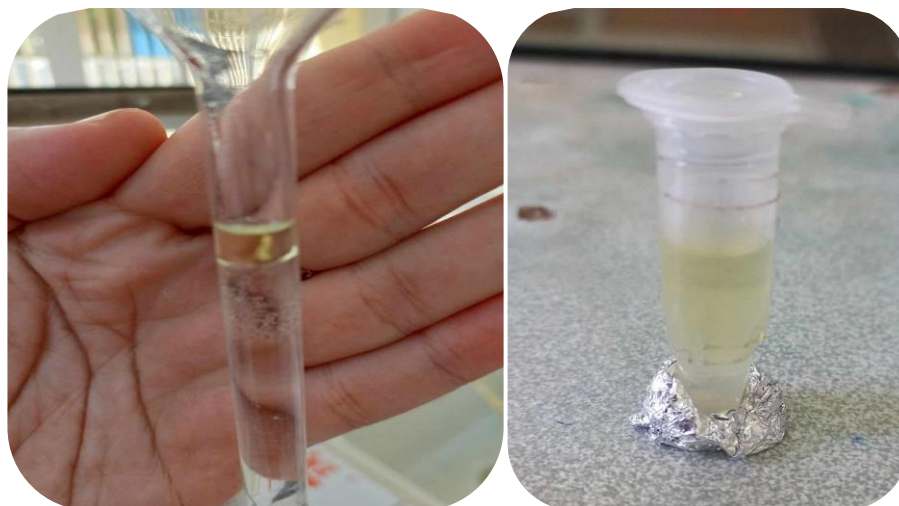


Figure 14: L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* obtenue après extraction (**Photo originale, 2024**).

III.4.3 Détermination du rendement en huiles essentielles

Selon les normes de **AFNOR (2000)**, le rendement en HE est défini comme le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Le rendement en huiles essentielles est exprimé en pourcentage et donc donné par la relation suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (\text{mHE} / \text{MS}) \times 100$$

- R (%) : Rendement en HE.
- MHE (g) : masse d'HE récupérée.
- MS (g) : La quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction

III. 4.4 Conservation d'huile essentielle obtenue

L'huile essentielle extraite est conservée à une température de 4°C soit dans des eppendorf ou bien dans des tubes sec en verres , couverte avec du papier aluminium, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de températures qui sont les principaux agents de dégradation, une huile altérée perd son activité biologique.

III.5 Culture des champignons

III.5.1 Préparation du milieu de culture

Afin d'étudier l'impact de l'huile sur les champignons phytopathogènes choisis *Alternaria alternata*, nous avons préparé le milieu PDA selon les données de **Davet et Rouxel (1997)**, ce milieu est composé de :

- 200 g de pommes de terre pelées
- 1L d'eau distillée.
- 20 g de glucose
- 15 à 20 g de gélose. (**Davet et Rouxel, 1997**).

Deux agents pathogènes *Alternaria alternata* et *septoria tritici* ont été isolés à partir des fragments de feuilles présentant les symptômes caractéristiques des maladies alternariose et septoriose (**fig. 16**). Ces échantillons sont pris du champ, découpés en petits fragments et déposés sur un milieu gélosé PDA. L'incubation est réalisée à 25°C pendant 7 jours.



Figure 17: Etapes d'isolement des champignons.

III.5.2 Purification et identification du champignon

Les souches obtenues après isolement ont été purifiées par des repiquages successifs sur milieu PDA. L'incubation est effectuée à 25°C pendant une période de 7 à 10 jours.

L'identification des agents fongiques isolés a été réalisée selon les observations macromorphologiques et les micromorphologiques, en utilisant les critères de la clé de Barnett, Ce système s'illustre par une méthode de classification appliquée surtout aux champignons imparfaits. Les éléments de base de ce système sont la morphologie des structures de sporulation connues naturellement, telles que la morphologie et la couleur des conidies (**Barnett et Hunter,1972**).

❖ Observations macroscopiques

L'aspect des colonies peut varier, elles peuvent être duveteuses, laineuses, poudreuses, ...etc.

- **Le relief des colonies** : Les colonies peuvent également présenter un aspect plat ou plissé, avec une consistance qui peut être friable ou molle... etc.
- **La taille des colonies** : elles peuvent être petites 3 à 3.5 cm ou étendues 4 à 5 cm envahissantes.
- **La couleur des colonies** : la couleur des colonies est un élément crucial pour l'identification. Elles peuvent être de différentes teintes telles que blanche, crème, jaune, verte ou brune. Des pigmentations peuvent également apparaître sur le mycélium ou se diffuser dans le milieu de culture, ce qui ajoute à la diversité des caractéristiques observées lors de l'identification.

❖ Observations microscopiques

A partir des cultures, nous avons réalisé des montages entre lame et lamelle pour des observations microscopiques aux grossissements successifs (10x10) puis (40x10). Ces observations concernent le mycélium et les caractéristiques d'éventuelles fructifications. Les caractères ainsi observés, et photographiés sont comparés à ceux décrits dans la clé de détermination (**Barnett, 1972**).

III.6 Activité antifongique

Nous avons opté pour la méthode de contact direct afin d'évaluer l'activité antifongique. Cette méthode implique le mélange de l'huile essentielle avec le milieu de culture.

III.6.1 Préparation des concentrations de l'huile essentielle

Nous avons préparé différentes concentrations de l'extrait d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* en diluant une solution mère dans une quantité précise de diméthylsulfoxyde (DMSO). Pour ce faire, nous avons prélevé des volumes d'huile essentielle (**50 µl, 100 µl, 150 µl et 200 µl**) et ajusté à 50 ml avec la solution PDA, puis nous avons agité pendant 5 minutes pour assurer l'homogénéité de la solution. Les concentrations obtenues sont répertoriées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8: Valeurs des dilutions utilisées

| Rapport de dilution (HE /PDA) | 0 | 1/1000 | 1/500 | 1/333 | 1/250 |
|--|----------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| µl HE/50mlPDA | 0 | 50 | 100 | 150 | 200 |
| Concentrations d'HE (%) | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |

III.6.2 Essai d'activité antifongique

Après le refroidissement et la solidification du mélange (PDA + HE) dans des boîtes de Pétri sur la paillasse, des disques mycéliens de 5 mm de diamètre prélevés sur la marge d'une culture d'*Alternaria alternata* ont été inoculés au centre de chaque boîte (1 disque par boîte). Chaque concentration a été répétée trois fois. Les boîtes ont été incubées dans l'obscurité à une température de 20 ± 2 °C. Un témoin a été réalisé dans les mêmes conditions, mais sans ajout d'huile essentielle.

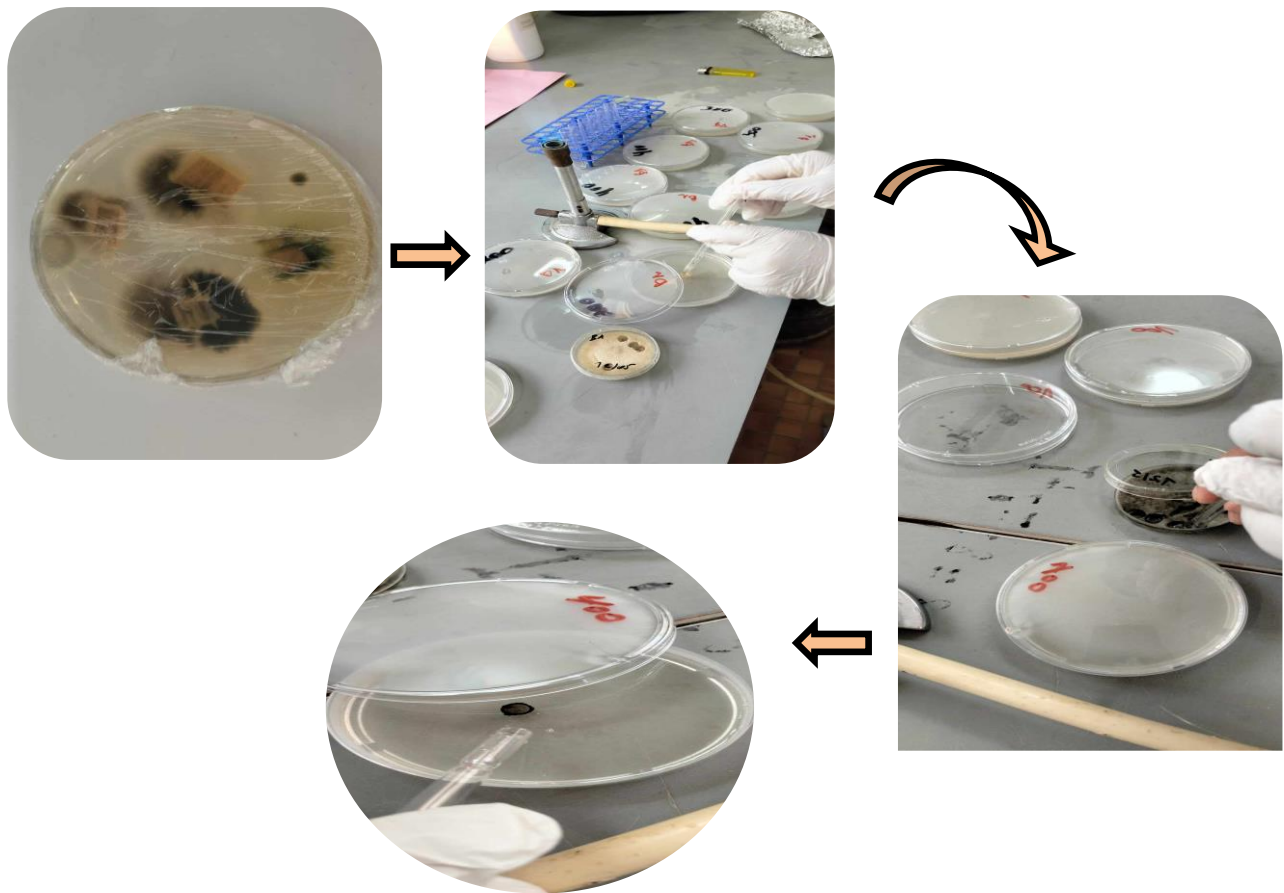


Figure 18: Etapes de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle de *Romarin*.

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu de l'explant mycélien. Cette lecture a été effectuée en comparaison avec les cultures témoins démarrées le même jour et dans les mêmes conditions.

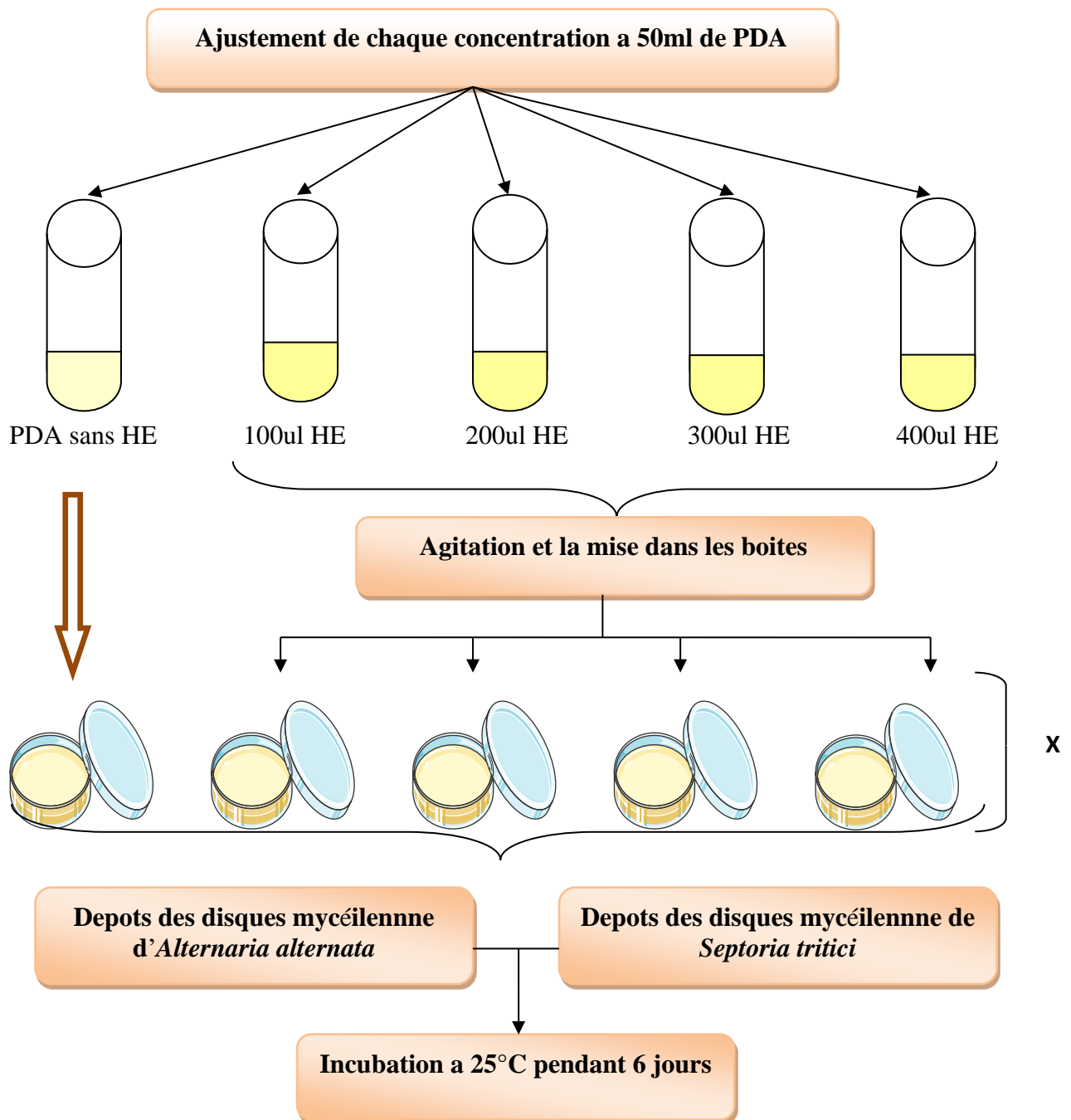


Figure 20: Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

III.6.3 Détermination de l'indice antifongique

Après l'incubation des échantillons y compris le témoin, on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule :

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

- **Da** : diamètre de la zone de croissance de l'essai.
- **Db** : diamètre de la zone de croissance du témoin.

III.6.4 Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI)

Il s'agit de déterminer la plus petite concentration de l'HE pour laquelle aucun développement n'est visible à l'oeil nu.

III.6.5 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

La vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule :

$$VC = [D1/Te1] + [(D2-D1) /Te2] + [(D3-D2) /Te3] + \dots + [(Dn-Dn-1) /Ten]$$

- **D** : diamètre de la zone de croissance pour chaque jour.
- **Te** : temps d'incubation.

Résultats et discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* :

L'hydraudistillation des feuilles de *Rosmarinus officinalis* a donné un rendement en huile essentielle de 0,9g/100g de matière sèche.

Les caractéristiques de l'huile de romarin sont enregistrées sur le tableau suivant :

Tableau 09 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

| | Aspect | Couleur | Odeur |
|---|--------------------|-------------------------------|--|
| Huile essentielle du romarin de la région de AIN DEFLA | Liquide à visqueux | Jaune pale | Odeur très aromatisée caractéristique de l'espèce de romarin |
| Huile essentielle du romarin (norme d'AFNOR) | Liquide mobile | Presque incolore à jaune pâle | Odeur caractéristique fraîche plus où Moins camphrée |



Figure 21 : Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

IV.2 Identification du champignon

IV.2.1 Observations macroscopiques

IV.2.1.1 Diagnostic symptomatologique

Après observation des symptômes de lésions chlorotique sur les feuilles basales au champ, nous avons pris des échantillons au laboratoire pour le diagnostic.



Figure 22 : Observation macroscopique des échantillons des feuilles de blé.

IV.2.1.2 Diagnostic au laboratoire

D'après nos résultats au laboratoire, nous avons pu isoler les espèces fongiques suivantes avec ordre d'importance : *Alternaria sp.* , *Septoria sp.* et *Cladosporium sp.* , ce dernier a été perdu lors des manipulations.

Après purification et repiquage, deux champignons sont clairement identifiés : *Alternaria alternata* et *Septoria tritici*.

a. *Alternaria alternata*

Les colonies d'*Alternaria* présentent une croissance rapide et une texture cotonneuse. Elles se manifestent par des zones blanches dans les premiers jours, puis acquièrent une teinte noire avec un duvet verdâtre au fil des jours d'observation (fig.23).

Ils sont constitués exclusivement d'hyphes aériens et des zones sombres rasantes contiennent des spores asexuées mélanisées. La surface de développement est souvent hétérogène



Figure 23 : Aspect macroscopique de l'*Alternaria alternata*

L'examen au microscopique révèle la présence d'hyphes septés. Les conidies, quant à elles, se présentent sous forme ovoïde ou elliptique, avec une extrémité se terminant par un bec (fig.24). Les conidiophores exhibent une teinte brunâtre, variant du clair au foncé. Ils sont cloisonnés de manière transversale, longitudinale, ou oblique, donnant lieu à des spores de forme mûriforme.



Figure 24 : aspect microscopique d'*Alternaria alternata* GX 40.

b. Septoria tritici

Les colonies de *Septoria tritici* présentent un aspect cotonneux à duvet blanc neige. Au début, elles se manifestent par des zones blanches dans les premiers jours, puis prennent une teinte jaune au fil des jours d'observation.



Figure 25 : Aspect macroscopique de *Septoria tritici*

L'examen au microscope optique révèle la présence des asques qui contiennent des ascospores. Comme illustré dans la figure 26.

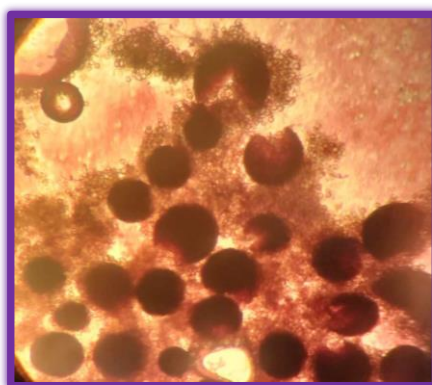


Figure 26 : Aspect microscopique de *Septoria tritici* GX 40.

IV.2.3 Activité antifongique de l'huile essentielle contre *Alternaria alternata*

IV.2.3.1 Evaluation de la croissance mycélienne

D'après le tableau 10, le témoin développe des mycéliums après 48h d'incubation de 2cm \pm 2.94 et continue à augmenter du diamètre jusqu'à atteindre 7.5 cm au 6^{ème} jour (144h). Les boîtes Pétrie contenant la dose de l'huile essentielle d1 (50 μ l), ne donne des mycéliums qu'après 48h avec 1cm de diamètre, et continue à augmenter jusqu'à le 6^{ème} jour (144h) Les boîtes pétries contenant la dose de l'huile essentielle d2 (100 μ l), ne donne des mycéliums qu'après 48h avec 0.5cm de diamètre, et continue à augmenté pour d3 (150 μ l), ne donne des mycéliums qu'après (72h) avec 0.5cm de diamètre, et continue à augmenter jusqu'à le 6^{ème} jour (144h) et tandis que les autres échantillons recevant la dose d4 (200 μ l), ne présentent aucune croissance mycélienne même après 144h d'incubations.

Tableau 10 : Croissance mycélienne d'*Alternaria alternata* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

| a | 24H | 48H | 72H | 96H | 120H | 144H | Moyenne | Ecart-type |
|-----|-----|-----|-----|------|------|------|---------|------------|
| T | 0 | 2 | 4 | 5.7 | 7 | 7.5 | 4,36 | 2,94 |
| d1 | 0 | 1 | 2 | 3.5 | 4.5 | 5.4 | 2,73 | 2,08 |
| d 2 | 0 | 0.5 | 1 | 1.5 | 2.5 | 3.1 | 1,43 | 1,18 |
| d 3 | 0 | 0 | 0.5 | 1.25 | 2 | 2.5 | 1,04 | 1,05 |
| d 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

La présentation graphique ci-dessous met en évidence de manière distincte les variations de la croissance mycélienne entre le groupe témoin et les trois doses différentes d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

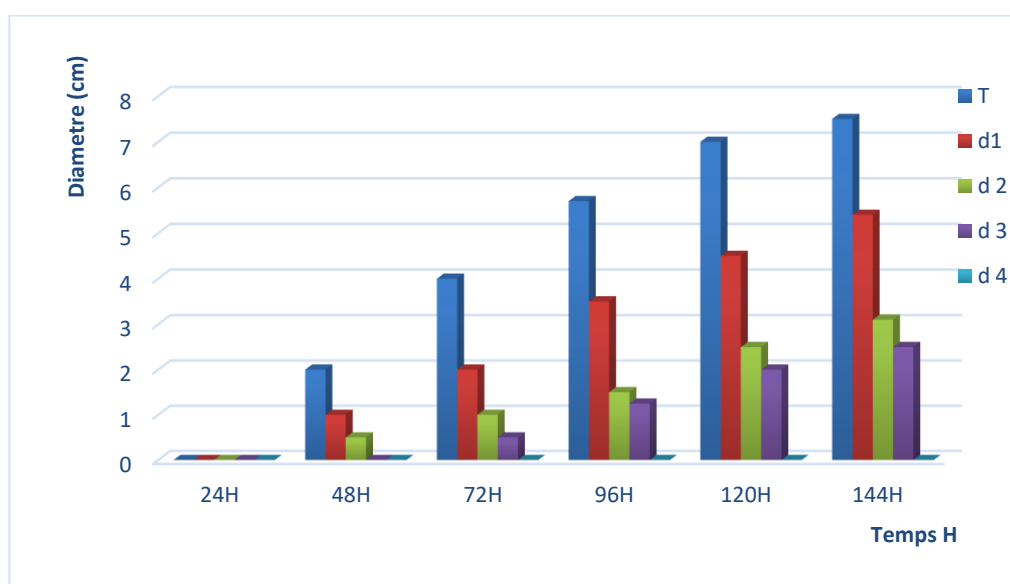


Figure 27 : Croissance mycélienne d'*Alternaria alternata*(en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *R. officinalis*.

Nous avons observé que le diamètre de témoin a une importante croissance mycélienne puisque ne contient aucune concentration d'huile essentielle, les dose d1, d2 et d3 enregistrent un diamètre assez important après 144h d'incubation malgré ils contiennent d'huile essentielle. Pour la dose d4 aucune croissance n'a été notée.

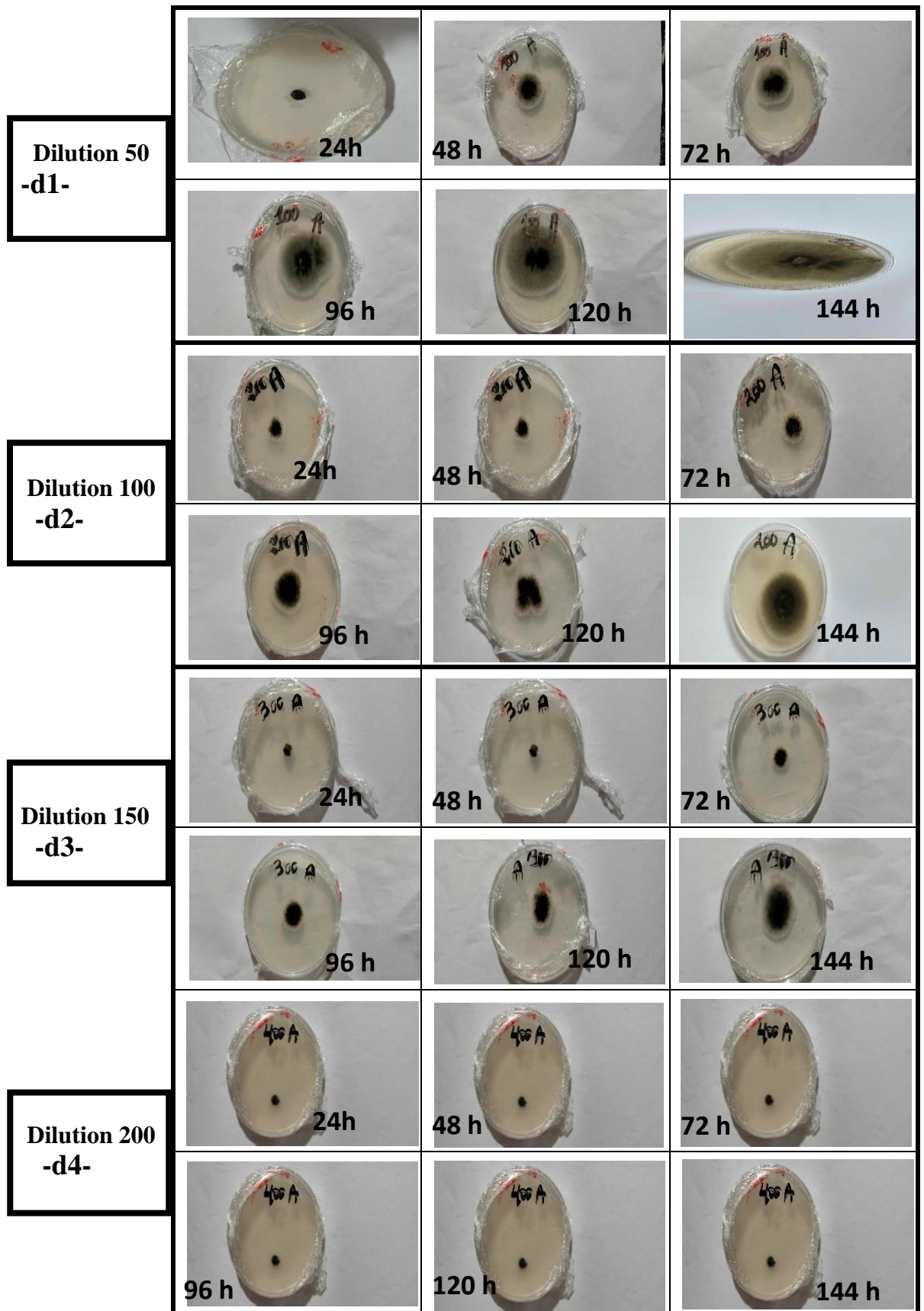


Figure 28 : Modification macromorphologique d'*Alternaria alternata* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *R.officinalis*.

La figure 28 montre la modification de la couleur et du diamètre des mycéliums d'*A.alternata* durant l'application des doses de l'huile essentielle de *R.officinalis*. le champignon apparait blanc à gris les premiers temps de son développement, il est verdâtre à noirâtre dans son état avancé. Et c'est la couleur typique de champignon testé.

IV.2.3.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

L'expérimentation avec les différentes doses montre que la dose d1 de l'huile essentielle est la concentration minimale qui inhibe au début 90% le développement d'*Alternaria alternata*, ce dernier, et avec la même dose reprend son développement après 24h d'incubation avec la même dose.

Avec la dose d4, l'inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternata*, est de 100%, cette efficacité persiste malgré le prolongement du temps d'incubation.

IV.2.3.3 Détermination de l'indice antifongique (IA)

C'est la concentration qui inhibe 50% la croissance mycélienne, Les résultats sont illustrés sur le tableau7, et la figure 29.

L'indice antifongique est de 50µl dont il inhibe 50% de la croissance mycélienne de *A.alternata* après 48h d'incubation. Les autres doses peuvent inhiber du 64% jusqu'à 100% le développement du champignon.

Tableau11: Indice antifongique pour *Alternaria alternata*

| | 24H | 48H | 72H | 96H | 120H | 144H |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| d1 | 100% | 50% | 50% | 47% | 35% | 28% |
| d 2 | 100% | 75% | 75% | 70% | 64% | 60% |
| d 3 | 100% | 100% | 87% | 78% | 71% | 64% |
| d 4 | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |

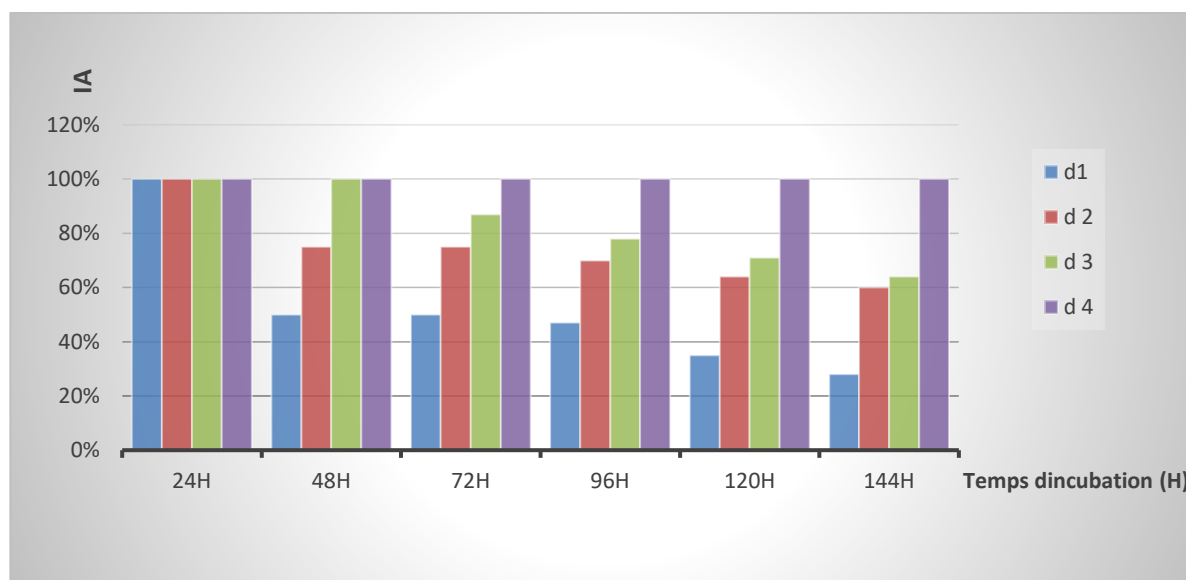


Figure 29 : Indice antifongique d'*Alternaria alternata*

De la figure ci-dessus, on constate qu'après 24h d'application d'huile avec les différentes doses, aucun développement mycélien n'est observable. À partir de deuxième jours 50% des colonies traitées par d1 (50 μ l) sont inhibées et dure jusqu'à troisième jours, puis le taux commence à s'abaisser jusqu'à atteindre 28% le dernier jour d'observation. Aucune des autres concentrations n'a pu inhiber 50% de développement mycélien.

IV.2.3.4 Vitesse de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne d'*Alternaria alternata* peut uniquement être évaluée pour le groupe témoin ainsi que pour les concentrations d1, d2, d3 de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Les résultats sont illustrés dans la figure suivante. La dose d4 ne représente aucun développement du champignon donc aucune croissance mycélienne.

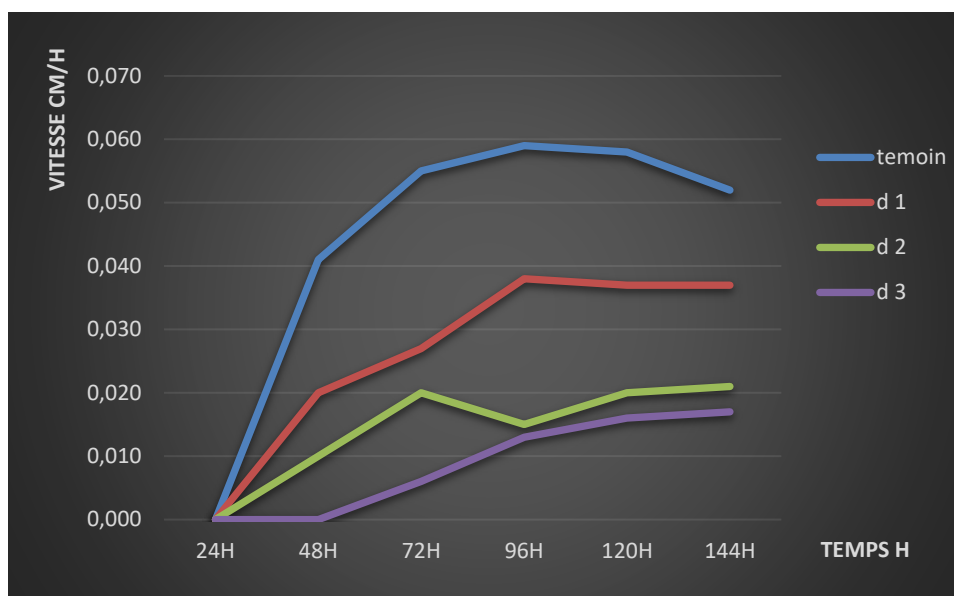


Figure 30 : Vitesse de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternata*

La présentation graphique (courbe) montre une vitesse de développement mycélien d'*Alternaria alternata* non traité à l'huile (témoin) très importante avec un rythme de 0.04cm/h à 0.05cm/h, et qui commence à partir de 24h d'incubation, par rapport à la vitesse en appliquant d1 et d2 de l'huile essentielle, qui démarre après 24h d'incubation avec un rythme de 0.02cm/h. et pour d3 qui ne démarre qu'après 48h avec une vitesse de 0.006cm/h. Quant aux d4, on note qu'il n'y a pas eu de développement du mycélienne d'*Alternaria alternata*.

IV.2.4 Activité antifongique de l'huile essentielle contre *Septoria tritici*

IV.2.4.1 Evaluation de la croissance mycélienne

Le témoin qui ne reçoit aucune dose d'huile de romarin développe des mycéliums après 48h d'incubation de 1 cm de diamètre et continue à augmenter jusqu'à atteindre 5,5 cm au 6ème jour (144h).

La première dose d1 de 50µl rajoutée empêche la croissance mycélienne dans les premiers 24h, après 48h d'incubation, le champignon a pu développer des hyphes de 1 cm de diamètre. Les boîtes pétries contenant la dose de l'huile essentielle d2 (100 µl), ne donne des mycéliums qu'après 72h avec 1cm de diamètre. La dose d3 (150 µl) ne laisse le champignon se croître qu'après 96h d'incubation avec 0.5cm. Les autres échantillons recevant la dose d4 (200 µl) ne présentent aucune croissance mycélienne même après 144h d'incubations.

Tableau 12 : Croissance mycélienne de *Septoria tritici* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*.

| b | 24H | 48H | 72H | 96H | 120H | 144H | Moyenne | Ecart-type |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|----------------|-------------------|
| T | 0 | 1 | 2.5 | 3 | 4 | 5.5 | 2,66 | 1,99 |
| d1 | 0 | 1 | 2 | 2,5 | 3,25 | 4 | 2,12 | 1,46 |
| d 2 | 0 | 0 | 1 | 1.5 | 2 | 2.25 | 1,2 | 1,07 |
| d 3 | 0 | 0 | 0 | 0.5 | 1 | 1.5 | 0,5 | 0,63 |
| d 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Les résultats sont représentés graphiquement sur la figure 31.

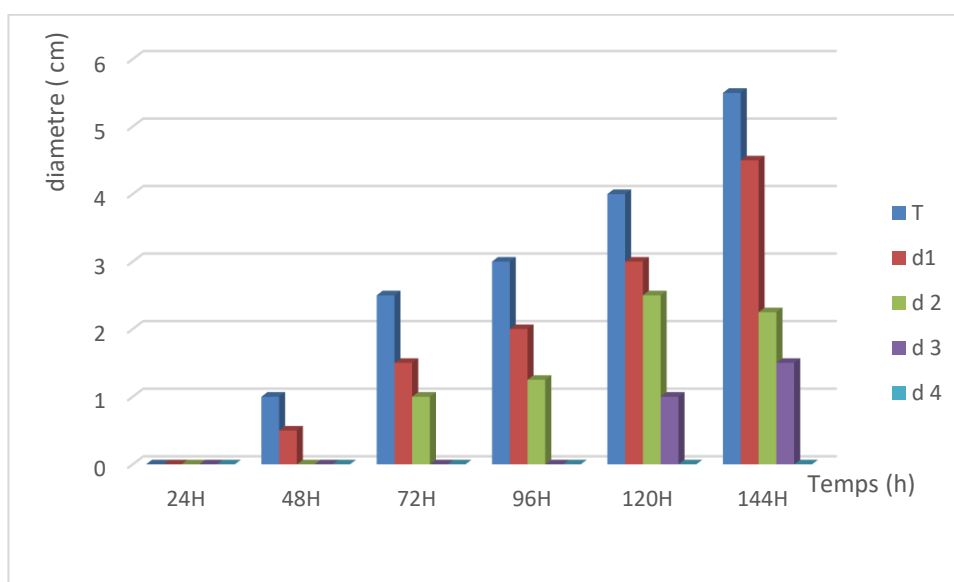


Figure 31 : Croissance mycélienne de *Septoria tritici* (en cm) en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*.

Le témoin représente une croissance mycélienne remarquable au fil des jours d'observation, après 144h d'observation, il enregistre un diamètre de 5.5cm ; les échantillons de d2, d3 et d4 commencent à se croître à partir de 48h, 72h et 96h à des valeurs de 1cm, 1cm et 0.5 cm successivement. A une concentration de 200µl de l'huile de romarin, *Septoria tritici* ne peut développer des hyphes.

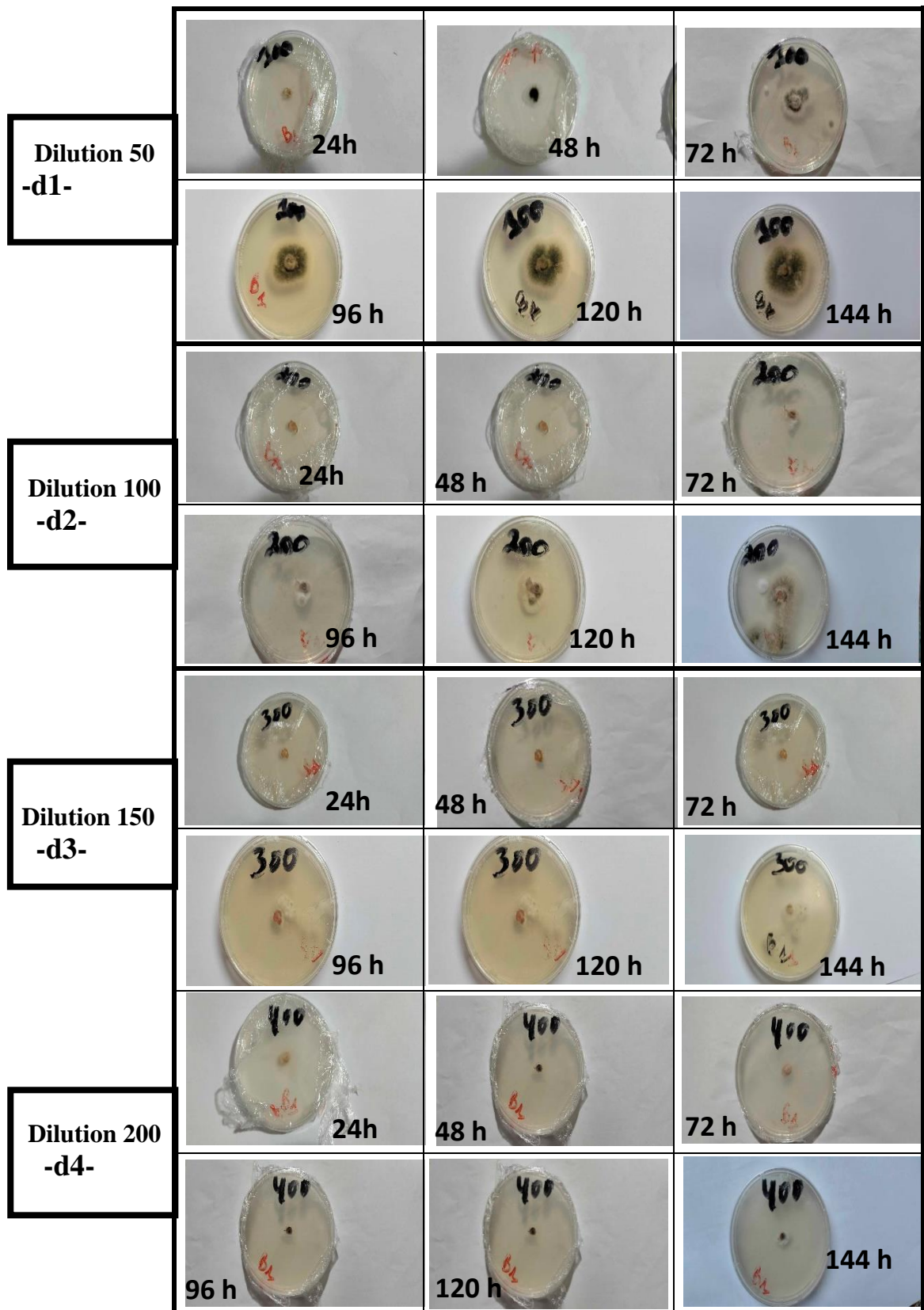


Figure 32 : Modification morphologique de *Septoria tritici* en fonction du temps d'incubation et la concentration en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*.

La figure 32 montre le changement morphologique de la couleur et du diamètre des mycéliums de *S.tritici* testé par différentes doses d'huile essentielle de *R.officinalis*. La couleur varie du blanc au gris, et va au noir quand il y a une croissance mycélienne remarquable.

IV.2.3.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les tests de l'huile essentielle de *R.officinalis* sur *S.tritici* de blé tendre (*T.eastivum*) à différentes concentration, montrent que la souche cryptogamique est complètement inhibée à la quatrième dose d4 (200µl) à partir du premier jour d'observation et jusqu'au dernier jour, aucun mycélium est apparu. La CMI pour *S.tritici* est de 200µl.

IV.2.3.3 Détermination de l'indice antifongique (IA)

Les résultats de calcul de l'indice antifongique de *S.tritici* sont illustrés sur le tableau et la figure suivants :

Tableau 13 : Indice antifongique de *S.tritici*

| | 24H | 48H | 72H | 96H | 120H | 144H |
|------------|------|------|------|------|------|------|
| d1 | 100% | 50% | 50% | 33% | 20% | 18% |
| d 2 | 100% | 100% | 60% | 59% | 56% | 50% |
| d 3 | 100% | 100% | 100% | 83% | 75% | 72% |
| d 4 | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |

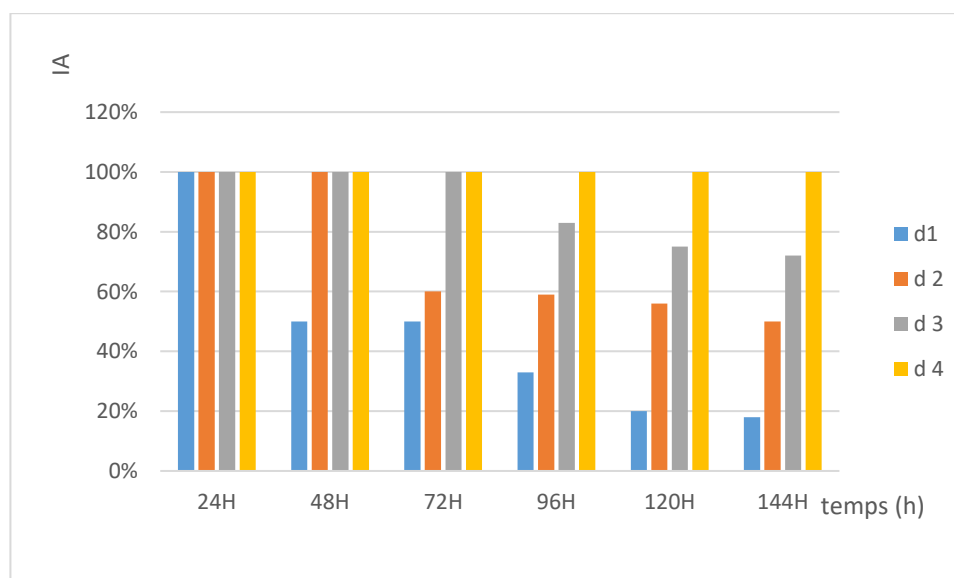


Figure 33 : Indice antifongique

L'indice antifongique enregistré pour *S.tritici* est de 100 μ l dont il inhibe 50% de la croissance mycélienne de ce champignon après 48h d'incubation. Les autres doses peuvent inhiber du 72% jusqu'à 100%.

L'huile de romarin a un très bon pouvoir antifongique, elle peut inhiber 50% de *S. tritici* à une dose de 100 μ l. cela peut encourager l'application in situ.

IV.2.4.4 Vitesse de la croissance mycélienne :

La croissance du mycélium de *Septoria tritici* a été évaluée uniquement pour le groupe témoin et pour les concentrations d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* d1, d2 et d3. Les résultats sont présentés dans la figure 34.

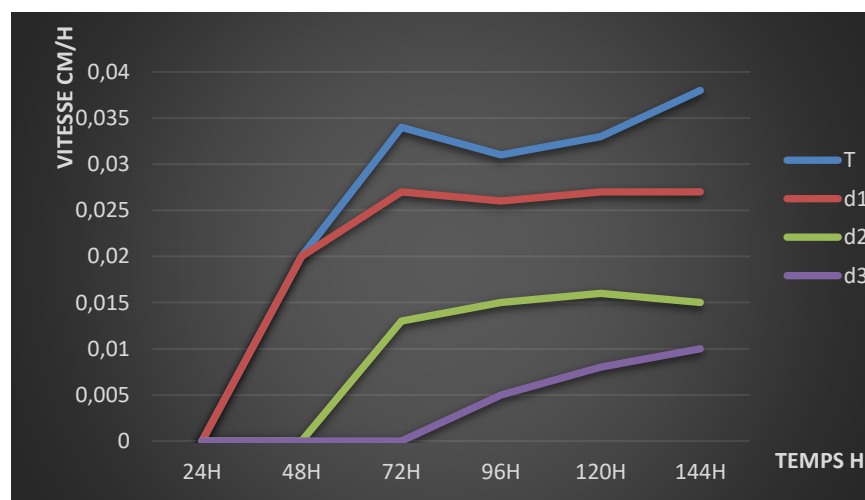


Figure 34 : Vitesse de la croissance mycélienne de *Septoria tritici*

La vitesse de croissance est maximum chez le témoin (0.038cm/h) Durant tous les jours d'observation, par rapport au d1 qui enregistre une vitesse max de (0.027cm/h) mais chez d2 marque une vitesse max de (0.016cm/h) et pour d3 marque une vitesse stable (0.01 cm/h).

Aucune croissance mycélienne n'est observée chez le champignon trait par d4, par conséquent aucune vitesse ne peut être calculé.

IV.3 Etude comparative de l'activité antifongique de *A.alternata* et *S.tritici*

Le pouvoir biopesticide de l'huile essentielle de romarin sur les deux champignons étudiés : *A.alternata* et *S.tritici* apparait avec le calcul de cet indice.

La croissance mycélienne est inhibée chez *A. Alternata* avec la dose d1 aux premières 24h d'observation, tandis que chez *S.tritici* n'est inhibe qu'après 48h.

En appliquant les quatre doses sur les deux souches mycologiques et suivant le développement mycélien pendant six jours on observe que les deux champignons réagissent de la même façon ; ils sont inhibés à une dose 200 μ l et très développés à la dose 500 μ l.

La CMI enregistrée est la même pour les deux champignons étudiés 200 μ l était suffisante pour inhiber la totalité de la croissance mycélienne.

Alternaria alternata montre une inhibition de 50% à 100 μ l, indiquant une efficacité à une concentration plus faible par rapport à *Septoria tritici*, qui montre une inhibition similaire à 200 μ l.

Les deux champignons ont des vitesses de croissance maximales différentes pour *A.alternata* (0.05 cm/h) et (0.038 cm/h) pour *S.tritici* dans le témoin, mais toutes deux montrent un ralentissement significatif avec l'application de l'huile essentielle.

IV.4 Discussion générale

Dans notre expérience, nous avons obtenu un rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de 0,9%, ce rendement est élevé par rapport aux autres études faites ultérieurement.

Des rendements de 0,09% ont été enregistrés à partir des échantillons de la wilaya de Blida et de 0,08% à partir d'échantillons de la wilaya de Djelfa. (Boukerch et Barki, 2016). Les résultats obtenus par Okoh et al. (2010) ont montré un rendement en huile essentielle extraites à partir des feuilles de romarin d'environ 0,31%. Panizi et al. (1993) ont trouvé un taux d'huile de 0,45%.

La différence dans les rendements est influencée par la période de récolte des échantillons, la partie utilisée ou/et la méthode d'extraction.

Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est caractérisée par une couleur jaune pâle ou peut être incolore Selon les normes de l'AFNOR. (Boukerch et Barki, 2016) ont trouvé une huile de teinte jaune foncée à partir des échantillons récoltés dans la région de Blida et huile de couleur brunâtre à la région de Djelfa.

En utilisant la méthode de contact direct, nous avons illustré l'efficacité antifongique de HE de romarin à plusieurs concentrations contre les champignons pathogènes *Alternaria alternata* et *Septoria tritici*. Les résultats ont clairement montré que cette huile essentielle inhibe de manière significative la croissance des champignons, atteignant jusqu'à 100 % d'inhibition avec une moyenne concentration. De plus, nous avons observé une réduction de la densité mycélienne ainsi qu'une diminution de la coloration par rapport au groupe témoin. Il est

également noté que le romarin présente la même action avec les antibiotiques et les anxiolytiques (Posadzki et al., 2013).

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* utilisée à différentes concentrations vis à vis la croissance du champignon redoutable de blé *Alternaria triticina*. Les résultats ont permis de distinguer que l'huile essentielle inhibe la croissance radiale d'une façon importante (taux d'inhibition arrive à 100 % avec une concentration moyenne) du champignon, avec une réduction de l'abondance mycélienne et une répression de la coloration par rapport au témoin. Le Romarin a une action synergique avec les antibiotiques, les anxiolytiques (Posadzki et al., 2013).

Notre étude a rapporté une CMI de 200 µl pour *Alternaria alternata* et une CMI de 200 µl pour *Septoria tritici*. Ces résultats montrent une efficacité notable de l'huile essentielle à des concentrations spécifiques. Dans la littérature, des études ont montré des CMI variables pour *Rosmarinus officinalis* contre différents champignons. Par exemple, une étude a trouvé des CMI allant de 100 à 500 µl pour différentes souches de champignons pathogènes (Borrás-Linares et al. 2014).

Nous avons observé un IA de 50 µl pour *Alternaria alternata* et un IA de 100 µl pour *Septoria tritici*. Ces résultats indiquent une capacité significative de l'huile essentielle à inhiber la croissance fongique. Dans la littérature, des IA similaires ont été rapportés pour *Rosmarinus officinalis* contre divers pathogènes fongiques. Par exemple, une étude a montré un IA de 150 µl pour inhiber 50% de la croissance de *Fusarium* spp. (Bajpai et al. 2013).

La réduction de la vitesse de croissance mycélienne observée avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est cohérente avec les effets antifongiques attendus. Des études antérieures ont montré que les huiles essentielles peuvent ralentir la croissance fongique en affectant divers processus métaboliques et cellulaires. Par exemple, une recherche a noté un ralentissement significatif de la croissance de *Penicillium* spp. Avec *Rosmarinus officinalis* (Saharkhiz et al. 2012).

Conclusion

Conclusion

Les plantes aromatiques restent toujours la source fiable des principes actifs connus par les propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antifongiques a concerné une plante appartient a la famille des lamiaceae très fréquemment employées en Algérie.

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antifongique très intéressantes.

La culture du blé est toujours menacée par des maladies fongiques qui peuvent être à l'origine de pertes très importantes du rendement. A partir de cette étude, nous pouvons déduire que la céréaliculture algérienne est effectivement menacée par différents pathogènes en plus des contraintes liées aux conditions climatiques.

Au terme de notre étude qui a porté sur l'activité antifongique d'huiles essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis* obtenue de la région d'Ain Defla. Nous avons effectué différentes analyses, notamment l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation et la détermination de leur pouvoir antifongique contre de l'agent phytopathogène *Alternaria alternata* de la maladie d'alternariose et *Septoria tritici* responsable de la maladie de septeriose du blé tendre, cette activité a été évaluée selon une méthode de contact direct qui permet de tester l'efficacité des huiles essentielles sur ce deux germes.

Les résultats de l'activité antifongique montrent que l'HE de *Rosmarinus officinalis L.*, présente très bonne activité inhibitrice chez l'*Alternaria* à une dose 50 µl Paraport au *Septoria* qui n'est inhibé qu'à une dose de 100 µl.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par:

- L'étude de l'effet antifongique de chaque fraction d'huile essentielle
- La recherche d'une méthode adéquate telle que le traitement des grains et graines stockés.
- L'étude des effets insecticides de huiles essentielles car les insectes représentent avec les moisissures les agents les plus importants de la détérioration des céréales.

Références Bibliographiques

A

- 1) **AFNOR., (2000)** .Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- 2) **Albert Y., Leung Y. et Steven F., (1996)**. Encyclopedia of common Naturel ingredients used in foods, Drugs, And cosmetics, 2ème Edition: Awrley. Interscience publication, 445 p.
- 3) **Ammar M., (2014)**. Organisation de la chaine logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective. thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier, p17-20.
- 4) **Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab SA., Boti JB., Casanova J.,(2007)**.Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé. 7: 6-11.

B

- 5) **Bajji M., (1999)**. Etude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*): caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés in vitro. Thèse doctorat en sciences biologiques. Université Catholique de Louvain.
- 1) **Barnett et Hunter, (1972)**. Illustrated Genera of imperfect fungi.3rd Ed. Burgess publishing Co., Minneapolis, 241p.
- 2) **Bencharif A. et Rastoin, J.L., (2007)**. Concepts et méthodes de l'analyse de filières agroalimentaires: application par la chaîne globale de valeur au cas des blés en Algérie. Working Paper. Unité mixte de recherche MOISA., 23 p.
- 3) **Benkeblia N., (2005)**. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Alliumcepa*) and garlic (*Allium sativum*),.37 : 263-268.
- 4) **Bensadoun A., (2010)**. Application de méthodes bayésiennes pour l'évaluation de l'incertitude d'un modèle de prévision de la septoriose sur blé : SEPTO-LIS. Mémoire d'ingénieur agronome : ENSA, El Harrach .ALGER 49p.
- 5) **Bensebia O., Barth D., Bensebia B., Dahmani A., (2009)**. Supercritical CO2 extraction of rosemary: Effect of extraction parameters and modelling. The Journal of supercritical fluids. 2009. pp. 161-166. Vol. 49.
- 6) **Bonjean, 2001 in Boulal Zaghouane O., Elmourid M. et Rezgui S., (2007)**. Contribution à l'étude des effets du semis direct sur l'efficacité de l'eau et le comportement variétal de la

culture de blé en région semi-aride. Thèse de Magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Ferhat Abbas, Sétif, 4p.

- 7) **Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J P., Reymond P., Anglier J., Vayssier Y., Veau P., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance, industrielle, Ed. Masson, Paris,
- 8) **Bozzini A., (1988).** Origin distribution and production of durum wheat in the world. In: Fabriani G et Lintas C. (éd) Durum: Chemistry and Technology. AACC (Minnesota). Etats Unis: 1-16.

C

- 9) **Criquet S. and Calvert V. IMEP UMR CNRS 6116, (2008).** Planche Tp mycologie publié sur internet.

D

- 10) **Davet P. et Rouxel F., (1997).** Détection et isolement des champignons du sol. Institut national de la recherche Agronomique.
- 11) **Djellouli A., (2016).** Contribution à la régénération in vitro d'une plante médicinale sauvage d'Algérie «*Carthamuscaeruleus L.*», (Doctoral dissertation, Saadi Abdelkader).
- 12) **Djermoun A., (2009).** La production céréalière en Algérie: les principales caractéristiques. Revue nature et technologie, 01: 45-53.
- 13) **Duarte J.L.; Amado, J.R.R; Oliveir A.; Cruz R.; Ferreira A.M.; Soutou R.; Falcão D.; Carrvalho J.; Fernandes C.P., (2015).** Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil.

E

- 14) **EL Rhaffari, L., (2008).** Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes, l'Organisation Non Gouvernementale Italienne : movimondo, Maroc, 14 p.
- 15) **Epstein, E. Norlyn, J.D. Rush, D.W. Kingsbury, R.W. Kelley, D.B. Cunningham, G.A. and Wrona, A.F. (1980).** Saline Culture of Crops: A Genetic Approach. Science, 210 (4468): 399–404.
- 16) **Esquirol L., (2012).** Comment coupler observation et prédiction pour améliorer les prédictions d'épidémie de septoriose sur blé ?. Mémoire de fin d'études en sciences Agronomique, Agroalimentaire, Horticoles et du paysage : Institut National de la Recherche en Agronomie. pp86.
- 17) **Eyal Z., Scharen A., Prescott J.M., Ginkel M.V., (1987).** The Septoria diseases of wheat:

concepts and methods of disease management. Mexico City, Mexico: CIMMYT.

- 18) Ezzahiri B., (2001).** Les maladies du blé Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Transfert de technologie en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA 77, P 4.

F

- 19) Feillet P., (2000).** Le grain de blé. Composition et utilisation. Mieux comprendre. INRA. ISSN : 1144-7605. ISBN : 2-738060896-8. 308p.

H

- 20) Helal Y., (2010).** « Etude et biomasse du Romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) dans le massif des Beni-Imloul-Aures-Algerie » ; université de la foresterie ; Sofia.

K

- 21) Kazuya M., Kazuma N., Masato K., Mariko O., Naoko W., Katsumasa O. et Hideaki M., (2012).** Promotion of Hair Growth by *Rosmarinus officinalis* Leaf Extract.

- 22) Keller S.E., Sullivan.T.M. et Chirtel . S., (1997).** Factors affeting the growth of Fusarium proliferatum and the production of fumonisin B1: oxygen and pH, Indust. Microbiol, Biotechnology, 19, 305-309p.

- 23) Kellil. H., (2010).** Contribution à l'étude du complexe entomologique des céréales dans la région des hautes plaines de l'Est Algérien Université El Hadj La khdar- Batna faculté des sciences département d'agronomie.14-15p.

- 24) Kwon-Chung, K.J. et Bennett J.E, (1992).** Medical Mycology. Lea & Febiger, Philadelphia and London, p. 524-559.

L

- 25) Lahlou M., (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils, Phytother.Res. N°18, 435 p.

- 26) Leplat M., (2017).** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L.*, une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale.thèse de doctorat. s.l. : Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie.

- 27) Lersten N. R., (1987).** Morphology and anatomy of the wheat plant. Wheat and wheat improvement, 13, 33-75.

- 28) Logreico A. Moretti et A. Solfrizzo M., (2009).** *Alternaria* toxins and plant diseases : an overview of origin, occurrence and risks. World Mycotoxin Journal., 2 (2), 129-140.

- 29) **Louali Y., (2016).** Production de géotypes mutants chez le blé dur (*Triticum durum*) : une source de variabilité génétique pour la tolérance à la sécheresse. 5p.

M

- 30) **Machado D.G.; Cunha M.P.; Neis V.B.; Colla A.R.; Grando J.; Brocardo P.S.; Bettio L.E.B.; Dalmarco J.B.; Rial D.; Prediger R.D.; Pizzolatti M.G. et Rodrigues A.L.S. (2012).** *Rosmarinus officinalis L.* hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice. s.l.: ELSEVIER.
- 31) **Mathieu J., (2012).** Diagnostic des accidents du blé tendre. Institut du végétal. Paris, 144p.
- 32) **Mértola C., (2018).** Bonnes pratiques de domestication de plantes aromatiques et médicinales : romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine de Mértola. P 12-13, 37-38.
- 33) **Morcia C., Mehani M., Salhi N., Nazari L., Khalil A., Bara A., Ghizzoni R., Tumino G., Terzi V., (2015).** On the role of natural compounds in mycotoxigenic fungi control. The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs (A. Méndez-Vilas, Ed.).
- 34) **Mostefai A., (2012).** Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis L* (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire Master. Université Abou beker Belkaid, 100p.
- 35) **Mouas Y.; Benrebiha F. Z.; Chaouia Ch., (2017).** évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* s.l. : AgroBiologia.
- 36) **Moule C., (1971).** Céréales Tom 2. La Maison Rustique –Paris. 95p.
- 37) **Madjour S., 2014-** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*. Mémoire Master. Université Med Khider Biskra, 63p

O

- 38) **Ouibrahim A., 2010** - Evaluation de l'effet ant-microbien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis L.*, *Ocimum basilicum L.* et *Rosmarinus officinalis L.*) de l'Est Algérien. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, 95p.

P

- 39) **Ponomarenko A., Goodwin S.B., & Kema G.H.J., (2011).** *Septoria tritici* Blotch (STB) du blé. Plant Health Instructor. (DOI : 10.1094/PHI-I-2011-0407-01).

40) **Prabhu AS., Prasada R., (1966).** Pathological and epidemiological studies on leaf blight of wheat caused by *Alternaria triticina*. *Indian Phytopathology*, 19 95–111.

Q

41) **Quaedvlieg W., Kema G.H.J., Groenewald J.Z., Verkley G.J.M., Seifbarghi S., RazaviM., Gohari A. M., Mehrabi R. et Crous P.W., (2011).** *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* 26, 57-69.

R

42) **Rameau J.C., Mansion D. et Dume G., (2008).** Flore forestière françaises : guide écologique illustré. Région méditerranéenne. EdForetprivéefrançaise.2426p.

S

43) **Serin P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. La rousse Bourdasse. P a r i s . P p.334-336.

44) **Simmons EG., (2007).** *Alternaria*. An Identification Manual. : CBS Biodiversity Series No. 6 CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands., 775 pp.

45) **Singh DP., Sharma AK., Pankaj Kumar, Chowdhury AK., Singh KP., Mann SK., Singh RN., Singh AK., Kalappanavar IK. et Tewari AN., (2008).** Management of leaf blight complex of wheat (*Triticum aestivum*) caused by *Bipolaris sorokiniana* and *Alternaria triticina* in different agroclimatic zones using an integrated approach. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 78: 513–517.

46) **Soltner D., (1999).** Les grandes productions végétales. 19 éditions. sciences et techniques agricoles, 464p.

47) **Soltner D., (2005).** Etude de la variabilité morpho-physiologique et moléculaire d'une collection de blé dur algérien (*Triticum durum Desf.*).Thèse Magistère. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie et Ecologie, Université Mentouri, Constantine. Constantine.9p.

T

48) **Teuscher, A.R.; Lobstein, A., (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates,. paris : Lavoisier, 2005. p. 522.

49) **Tymon L., Cummings T. F. et Johnson D. A., (2013).** Pathogenicity and aggressiveness of *Alternaria solani*, *A. alternata*, and *A. triticina* on potato. APS- MSA Joint Meeting. Austin, Texas.

W

50) Wilson M. et Guylaine G., (2008). Fleurs comestibles : du jardin à la table. Ed. fides. 278p.

Z

51) Zeghad, N., (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Constantine : université Mentouri.

52) Zoubeidi C., 2004- Etude Antioxydants dans le Rosmarinus Officinalis.Labiataea. Mémoire Magister. Université Ouargla, 47p.

Sites web

- 1) <https://www.boutique-vegetale.com/p/romarin-officinal-rosmarinus-officinalis> (consulté le 22/03/2024)
- 2) <http://ussbotanybay.com/blog/index.php?Romarin> (consulté le 22/03/2024)
- 3) https://wiki.tripleperformance.fr/wiki/B1%C3%A9_tendre (consulté le 15/04/2024)