



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de  
la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Entrer votre filière  
Entrer votre spécialité

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :  
**Farah MOKEDDEM ET Romaiassa BENAOUA**

Le :

### **Thème**

# **Etude de la lutte biologique contre la pourriture de l'inflorescence du palmier dattier (Phoenix dactylifera L).**

---

#### **Jury :**

Titre	Hadjra HAMMIA	MMA	Université de Biskra	Rapporteur
Titre	Ismahane LEBBOUZ	MCB	Université de Biskra	Président
Titre	Rima ABSI	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019/2020

# Remercîment

*Dieu merci pour la santé, la volonté, le courage et la détermination qui nous ont accompagnés tout au long de la préparation et l'élaboration de ce travail et qui nous ont permis d'achever ce modeste travail.*

*Le présent travail est non seulement le résultat de notre courage, sacrifice, patience et endurance mais aussi une participation de plusieurs personnes qui nous sont chères.*

*Son succès dépend d'une série d'interventions tant matérielles, financières, morales qu'intellectuelles.*

*Nous tenons d'abord à remercier infiniment notre directrice de ce mémoire Madame **Hammia Hadjra**, pour son encadrement et ses constantes orientations de notre recherche en y accordant une méticuleuse attention, ainsi que pour ses conseils, sa disponibilité et son extrême amabilité malgré sa grande charge de travail.*

*Je désire aussi un grand merci au directeur Monsieur **NADJI** Et l'ingénieur de laboratoire Mme **KARIMA** de l'INPV, et Monsieur **Haroun** de CRSTRA*

*Je ne saurais oublier aussi tout les ingénieures de laboratoire aussi à aussi à tous mes enseignants du département de SNV.*

*Le soutien indéfectible de nos amis nous a permis de ne pas nous écarter dans les moments difficiles de l'objectif. Nous les remercions beaucoup pour cela.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail:*

*Avant tous, Grace à Dieu qui nous a aidés durant toutes les  
années de notre cursus universitaire*

*A la plus merveilleuse de toutes les femmes au monde, celle qui  
m'a transmis sa générosité, celle qui m'a appris à pardonner, à aimer  
et à donner le meilleur à moi ; **MAMAN** que j'adore.*

*A mon défunt **père** rahimaho allah.*

*A mon unique belle sœur : **Hiba** je te souhaite une agréable vie  
pleine de bonheur et de succès.*

*A mes chers **frères**.*

*A mes très chers neveux mon adoré.*

*A mon binôme dans ce travail et dans la vie **Romaïssa**.*

*A tout mes chères amies.*

## *Dédicaces*

*A ma très chère mère*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles*

*A mon très cher père*

*Tu as toujours été à mes cotés me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A mes très chers frères et mes belles sœurs*

*A mon fiancé*

*Sans oublier ma chère copine Farah*

*Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage, et surtout réussite*

# Table des matières

## Sommaire

Liste des tableaux .....	I
Liste des figures .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction.....	1
Chapitre 1.....	4
Généralités sur le palmier dattier .....	4
<u>1.1. Introduction .....</u>	3
1.2. Classification du palmier dattier .....	3
<u>1.3. Biologie du palmier dattier.....</u>	4
1.3.1. Morphologie.....	4
<u>1.3.2. Les inflorescences .....</u>	5
<u>1.4. Les ennemis du palmier dattier.....</u>	5
1.4.1. Pathologie à Insectes et Acariens .....	5
1.4.2. Les maladies à champignons .....	6
Chapitre 2.....	9
<i>Eucalyptus globulus</i> .....	9
2.1. Origine .....	9
2.2. Classification dans la systématique botanique.....	9
2.3. Description botanique.....	9
2.4. Les huiles essentielles.....	10
2.4.1. Définition.....	10
2.5.2 Propriétés thérapeutiques du genre <i>Eucalyptus</i> ( <i>E. globulus</i> ) .....	11
Partie.....	12
Expérimentale .....	12
Chapitre 3.....	13
Matériel et méthodes .....	13
3.1. Présentation de la zone d'étude.....	12
3.2. Matériel fongique .....	12
3.2.4. Identification des isolats fongiques .....	14

3.3.	Préparation de matériel végétal.....	16
3.3.2.	Extractions des huiles essentielles .....	17
3.3.3.	Détermination des rendements en huiles essentielles.....	18
3.4.	Etude de l'activité antifongique .....	18
3.4.2.	Etude du pouvoir antifongique.....	19
3.4.3.	Paramètres étudiés.....	22
Chapitre 4.....		25
Résultats et discussions .....		25
4.1.	Paramètres organoleptiques des huiles essentielles .....	25
4.2.	Rendements des huiles extraites.....	25
4.3.	Identification de l'agent pathogène.....	27
4.3.1.	Isolement des isolats fongiques.....	27
4.4.1.	Evaluation de la croissance mycélienne .....	30
4.4.2.	Evaluation de taux d'inhibition.....	34
4.5.	Vitesse de la croissance mycélienne .....	36
4.6.	La concentration minimale inhibitrice (CMI).....	38
4.7.	Discussion générale .....	38
Conclusion .....		42
Bibliographie.....		44
Annexe .....		50
Résumé .....		52

# Liste des tableaux

Tableau 1. Appareil végétatif .....	4
Tableau 2. Appareil reproducteur .....	5
Tableau 3. Principaux composés des HEs d' <i>E. globulus</i> . .....	10
Tableau 4. L'échantillonnage et la mise en culture. ....	13
Tableau 5. Matériel végétale avant et après le séchage. ....	16
Tableau 6. La souche étudiée .....	19
Tableau 7. Protocole expérimentale. ....	20
Tableau 8. Caractéristique organoleptiques d'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> .....	25
Tableau 9. Les rendements moyens d'HE des fruits d' <i>E. globulus</i> .....	25
Tableau 10. Les rendements moyens d'HE des feuilles d' <i>E. globulus</i> . ....	26
Tableau 11. Aspect macro et microscopique de la souche fongique. ....	28
Tableau 12. Activité antifongique des HEs par les deux tests antifongiques. ....	30
Tableau 13. La concentration minimale inhibitrice (CMI) selon l'HE et la méthode de traitement. ....	38
Tableau 14. La croissance mycélienne et le taux d'inhibition d'HE des fruits d' <i>Eucalyptus globuleux</i> .....	51
Tableau 15. la croissance mycélienne et le taux d'inhibition d'HE des feuilles d' <i>Eucalyptus globuleux</i> .....	51

# Liste des figures

Figure 1. Inflorescence de palmier dattier (photo originale). .....	7
Figure 2. Jeunes chaines de conidies et conidies entièrement différenciées de <i>Maugeniella Scqettae</i> .....	7
Figure 3. Echantillon d'une inflorescence du palmier dattier infecté (Photo originale). .....	13
Figure 4. Rincage des échantillons (Photo originale).....	14
Figure 5. Les étapes de micro-culture (Slide culture) (Photo originale). .....	16
Figure 6. Montage de l'hydro distillation de type (Clevenger 1928) (Photo originale). .....	18
Figure 7:Les étapes de la méthode de contact directe(photo originale).....	21
Figure 8. Les étapes de la méthode de micro atmosphère (photo originale). .....	22
Figure 9. Rendement d'huile essentielle feuilles et fruits (photo originale).....	26
Photo 10. Souches fongiques isolées des inflorescences infectées de palmier dattier. a et b : boites pétri, c : tube incliné (photo originale) .....	27
Photo 11. Observation macroscopique des souches fongiques purifiées (photo originale). ....	28
Photo 12. Observation microscopique (×10) (photo originale). .....	29
Figure 13. Effet d'HE des feuilles d' <i>E. globulus</i> sur la souche fongique testée par la méthode de contact direct .....	31
Figure 14. Effet d'HE des feuilles d' <i>E. globulus</i> sur la souche fongique testée par la méthode de micro atmosphère.....	32
Figure 15. Effet de l'HE des fruits d' <i>E. globulus</i> sur la croissance mycélienne de la souche fongique testée par la méthode de contact directe.....	33
Figure 16. Effet de l'HE des fruits d' <i>E. globulus</i> sur la souche fongique testée par la méthode de micro atmosphère.....	34
Figure 17. Taux d'inhibition d'HE des feuilles d' <i>E.globulus</i> . .....	35
Figure 18. Taux d'inhibition d'HE des fruits d' <i>E.globulus</i> .....	35
Figure 19. vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différence concentration en deux HEs de l' <i>E. globulus</i> . .....	36
Figure 20. La vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différence concentration en deux HEs de l' <i>E. globulus</i> . .....	37

# Liste des abréviations

- ❖ **E**: *Eucalyptus globulus*
- ❖ **M** : *Mauginiells*
- ❖ **HES** : Huile essentielle
- ❖ **PDA**: Potato-Dextrose-Agar
- ❖ **R**: Rendement
- ❖ **L** : Croissance mycélienne
- ❖ **TI** : Taux d'inhibition
- ❖ **VC** : vitesse de Croissance mycélienne
- ❖ **CMI** : Concentration minimales inhibitrice
- ❖ **T** : Témoin
- ❖ **D** : Dose
- ❖ **HF** : Huile de feuille
- ❖ **HFr** : Huile de fruit
- ❖ **d** : Méthode de contacte directe
- ❖ **m** : Méthode de micro atmosphère
- ❖ **A. N. A. T** : Agence Nationale d'Aménagement Territoire
- ❖ **AFNOR** : Association Française de Normalisation

# **Introduction**

## Introduction

La culture du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) est l'une des cultures les plus importantes dans le sud de l'Algérie, elle reste le pivot de l'écosystème du désert qui occupe près de 80% de la surface de l'Algérie (Touzi, 2007).

L'Algérie est un pays phoenicicole classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 160 000 ha et plus de 2 millions de jardins et sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes, avec plus de 18 millions de palmiers et plus de 800 variétés, dont les plus importantes sont Deglet Nour, Ghars et MechDegla (Benziouche et Cheriet, 2012).

La région de Biskra est l'une des principales wilayas productrices de dattes en Algérie. Bien que cet important potentiel phoenicicole rencontre beaucoup de facteurs et des paramètres qui favorise l'apparition et le développement des maladies et des ravageurs du palmier dattier qui peuvent conduire à une chute de rendement et par cela à une perte économique considérable. En outre, la culture du palmier dattier et sa production dattier sont sujets comme toute culture à des dégâts considérables causés par multiple des ennemis, on cite principalement ceux causés par des insectes (Pyrale de la datte et Cochenille blanche), par des acariens (Boufaroua) et par des champignons (Bayoud, Khmadj et Blaât). (Chala et Sellami, 2019)

L'utilisation de beaucoup de produits chimiques, bien qu'ils soient efficaces, ils sont souvent nocifs à l'homme et à l'environnement. Dont l'usage est de plus en plus restreint en raison de leur grande toxicité (Bhattacharya *et al.*, 2002).

Pour faire face à cette problématique, il devient de plus en plus indispensable de remplacer ces produits chimiques par des produits qui respectent l'environnement (Schultz et Nicholas, 2000).

Des études récentes ont montré que des produits extraits des plantes, tels que le genre Eucalyptus est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde, car les propriétés médicinales des plantes ont été recherchées par de nombreuses études à travers le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique (Auddy *et al.*, 2003).

Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre la grippe, et notamment comme anti-inflammatoire. (Cimanga *et al.*, 2002 ).

Le genre *Eucalyptus globulus* renferme un grand nombre d'espèces, avec souvent à l'intérieur de celui des chimio types très différents les uns des autres. Il couvre une large gamme d'activités biologiques : antiseptique, antibactérienne, antifongique, antispasmodiques et anti-oxydantes pour citer les mieux connues. (Cimanga *et al.*, 2002 ).

Les huiles essentielles des plantes ont déjà trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la préservation des aliments. Leur utilisation est liée soit a leurs larges spectres d'activités biologiques, soit a des ciblage très spécifiques (Cimanga *et al.*, 2002 ).

Actuellement, les huiles essentielles sont reconnues comme des substances GRAS par la FDA (Food and Drug Administration 2005; Stefanakis *et al.*, 2013). Beaucoup d'études ont rapporté leur efficacité contre les germes pathogènes et les contaminants dans les aliments (Gutierrez *et al.*, 2008; Djenane *et al.*, 2012), ce qui laisse entrevoir des perspectives d'application dans le domaine alimentaire (Benjilali *et al.*, 1986), et réduire ainsi le problème des intoxications alimentaires en hausse depuis quelques années; et ceci malgré l'amélioration des conditions d'hygiène et le développement des techniques de production (Burt *et al.*, 2004).

Dans ce travail, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antifongique d'une huile essentielle sur la croissance de moisissure de détérioration des inflorescences du palmier dattier, et dans le cadre de la recherche des produits antifongique naturels en évaluant les propriétés antifongique des huiles essentielles d'une plante médicinale largement distribuée en Algérie: *E. globulus*. Comme substances naturelles ; alternatives des produits chimiques utilisées dans le traitement.

Nous avons organisé notre travail en trois grandes parties:

La première partie consiste une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles, les plantes utilisés et le palmier dattier et ses principales maladies fongiques; la deuxième partie représente l'étude expérimentale et les méthodes analytiques de notre travail et la troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions; Enfin, notre travail est clôturé par une conclusion.

# **Partie**

# **Bibliographique**

# **Chapitre 1.**

## **Généralités sur le palmier dattier**

### 1.1. Introduction

Le palmier dattier, bien que souvent considéré comme un arbre, est une monocotylédone arborescente de la famille des Arecaceae (Palmae). Le nom scientifique du palmier dattier est *Phoenix dactylifera*L, qui provient du mot *Phoenix* qui signifie dattier chez les phéniciens, et *dactylifera*, du terme grec *dactulos* signifiant doigt, allusion faite à la forme du fruit (Djerbi, 1994), c'est une espèce thermophile ayant une activité qui se manifeste à partir d'une température de +7 à +10 °C. La température de 10°C est le zéro de la végétation.

L'intensité maximale de végétation est atteinte à des températures supérieures à 30°C, elle se stabilise ensuite et commence à décroître à partir de 38-40°C (Peyron, 2000).

Le genre *Phoenix* comprend 14 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales de l'Ancien Monde (Barrow, 1998; Govaerts et Dransfield, 2005; Henderson, 2009).

Le dattier est la seule espèce du genre à être cultivée pour ses fruits.

Les espèces du genre *Phoenix* sont proches morphologiquement, parfois difficiles à distinguer (Pintaud *et al.*, 2010), Il n'existe pas ou peu de barrières reproductives entre les espèces, leur intégrité ayant été maintenue par isolation géographique et/ou écologique.

### 1.2. Classification du palmier dattier

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (Feldman, 1976) :

Groupe :..... Spadiciflores  
Ordre :..... Palmales  
Famille :..... Palmacées  
Sous-famille : ..... Coryphoïdées  
Tribu : ..... Phoenicées  
Genre : ..... Phoenix  
Espèce : ..... *Phoenix dactylifera* L.

**1.3. Biologie du palmier dattier**

**1.3.1. Morphologie**

Le palmier dattier est une plante dioïque. Il comporte des pieds mâles (dokkar) et des pieds femelles (nakhla). Il se multiplie aussi bien par semis de graines (noyaux) que par plantations des rejets (djebbars).

**Tableau 1.** Appareil végétatif

Les parties	Les caractéristiques
Les Fruits	La datte est une baie contenant une se mésocarpe et péricarpe, L'endocarpe (Djerbi, 1994). La datte à un poids ; des dimensions (longueur et diamètre) et des couleurs variables selon les conditions du milieu, l'âge de l'arbre, et les variétés selon (Peyron, 2000).
Feuille	Les palmes sont des feuilles composées pennées qui s'incèrent sur le stipe en hélices très rapprochées, formant ainsi de consistance ligneuse et de limbe épineuse à la base. Mais porte des folioles dans les deux tiers supérieurs disposés régulièrement en position oblique le long du rachis (Ghomari, 2009).
Tronc	La tige ou tronc du palmier dattier a un port élancé, non ramifié appelé stipe .Ce stipe qui a une épaisseur sensiblement la même partout, porte une couronne somment ; à sa base il a la faculté d'émettre des drageons .Il est généralement marqué par des cicatrices sous formes d'anneaux et qui sont laissées par la base de feuilles tombées (Abdelkader, 2008).
La couronne ou frondaison	On dénombre de 50 à 200 palmes chez un arbre adulte L'ensemble des palmes vertes forme la couronne du palmier dattier La couronne basale, la couronne centrale et les palmes du coeur (Peyron, 2000).
Le système racinaire	Selon Peyron (2000). Le système racinaire est dit fasciculé racines, parfois ramifiées. On différencie quatre grands types de racines.

### 1.3.2. Les inflorescences

Les inflorescences apparaissent après le développement des bourgeons axillaires ; à l'aisselle des palmes de la couronne foliaire (Munier, 1973).

**Tableau 2.** Appareil reproducteur

Les parties	Les caractéristiques
La fleur femelle	La fleur femelle est globuleuse, d'un diamètre de 3 trois pétales et de trois étamines et trois sépales. Le gynécée est formé de trois carpelles indépendants à un seul ovule (Peyron, 2000).
La fleur mâle	De forme allongée, constituée d'un calice court former également de trois sépales soudés, une corolle comprenant trois pétales, légèrement allongées (Munier, 1973).

### 1.4. Les ennemis du palmier dattier

La nature particulière de cette espèce botanique et de ses exigences climatiques font de l'environnement oasien un milieu particulier, caractérisé par la présence de maladies et ravageurs (Abdelkader, 2008), parmi celles que les phoeniculteurs connaissent le mieux : le Khamedj, La cochenille blanche et le Bayoud...etc.

#### 1.4.1. Pathologie à Insectes et Acariens

##### 1.4.1.1. La cochenille blanche

*Parlatoria Blanchardi* Targ est le nom latin de la Cochenille blanche appelée localement Djereb ou Sem en Algérie, Nakoub, Guelma.....au Maroc et Rheifiss en Mauritanie. (Bounaga et Djerbi, 1990).

##### 1.4.1.2. *Olig Onychus Afrasiaticus*.

Mc Gregor, est le nom latin donné à un acarien appelé localement Boufaroua ou Ghobar au Maghreb Takar en Mauritanie, Goubar en Irak.

Ces termes désignent souvent le terme <<poussière>> du fait de la présence de toiles soyeuses blanches ou grisâtres qui retiennent le sable et la poussière rendant les dattes immangeables.il est présent dans tous les secteurs où pousse le dattier dans le vieux monde de puis la Mauritanie jusqu'au Golfe persique. (Bounaga et Djerbi, 1990).

## **1.4.2. Les maladies à champignons**

### **1.4.2.1. Le Bayoud (*Fusarium oxysporum f. sp. Albedenis*)**

C'est la plus grave des maladies du palmier dattier, et elle menace véritablement tous les pays producteurs de dattes. Elle existe au Maghreb : au Maroc, et en Algérie. Elle semble être apparue durant le siècle dernier dans la vallée du Drâa et s'est répandue vers l'ouest et l'est en suivant les cordons du palmier. En Algérie elle aurait décimé 3 millions d'arbres, la variété Deglet Nour est très sensible (Bounaga et Djerbi, 1990).

### **1.4.2.2. La pourriture de l'inflorescence ou *Khamedj***

La Pourriture de l'inflorescence du Palmier-dattier, ou *Khamedj* est une maladie cryptogamique bien différente du Bayoud. Elle n'a nulle part une importance comparable, mais elle est. Par contre plus commune dans le Nord de l'Afrique. Elle est désignée par les indigènes sous les noms de *Khamedj* (pourriture), *Tentin* (pourriture), *Donda* (ver), *Tlaa* (spathe). Le terme de *Bou-Qmech* utilisé par Sergent et Béguet (Chabrolin, 1930)

Il est connu dans presque toutes les zones de cultures du dattier. C'est une maladie grave qui sévit dans les régions de phoeniciculture les plus humides ou pendant les années très humides. Dans ce cas, elle peut prendre des allures épidémiques. Elle est causée par un champignon imparfait de l'ordre des Hyphales, à chaînes de conidies hyalines, Elle est due à un Hyphomycète dont le parasitisme a été pour la première fois signalé par Cavara, qui en a décrit l'agent sous le nom de *Mauginiella Scaettoa* (Chabrolin, 1930).

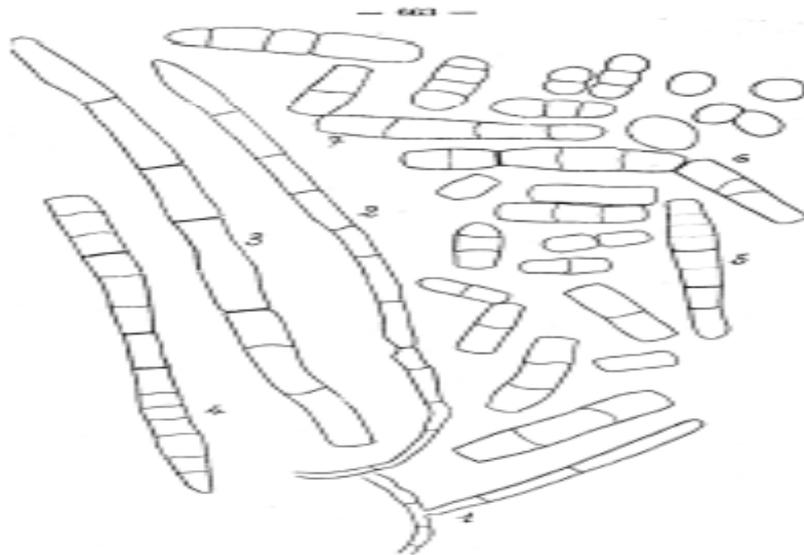
Le champignon se conserve à l'état de mycélium lattant et les spores semblent n'avoir qu'une faible longévité. C'est une maladie externe qui ne nécessite pas de blessure préalable (Djerbi, 1990).

Ce champignon attaque les inflorescences mâles et femelles des Dattiers dès le début de leur développement, avant leur sortie de la spathe qui les enveloppe complètement. La maladie se traduit sur le jeune spadice par une tache brune qui s'accroît progressivement et finit par intéresser la plus grande partie du jeune régime. Dans tous les cas, les tissus bruns envahis par le champignon se recouvrent d'une abondante poussière blanche constituée par les spores de *Mauginiella Scaettoa* bien apparent à l'œil nu. Les spores mûres sont uni, bi, tri ou plus rarement pluricellulaires (Chabrolin, 1930).



**Figure 1.** Inflorescence de palmier dattier (photo originale).

Le mycélium produit cala surface des tissus envahis des filaments dressés et cloisonnés.



**Figure 2.** Jeunes chaines de conidies et conidies entièrement différenciées de *Mauginiella Scqettae* : 1,2. Chaines et filaments invcéliens ----- 3,4. Fragments de jeune chaine de conidies, début de désarticulation et reclouisonnement des articles. -----5, 6,7. Spores.  
Gr.=750. (Chabrolin, 1930)

La lutte consiste d'abord à entretenir les palmeraies et les palmiers (après destruction par le feu des inflorescences atteintes) et au traitement des palmiers à l'aide de divers fongicides. Il semble que certaines variétés soient plus sensibles au Khamedj que d'autres.(Bounaga et Djerbi, 1990). L'expérience montre que la destruction par les substances anticryptogamiques usuelles des germes qui se conservent entre les gaines des feuilles suffit

pour éviter l'infection ultérieure des inflorescences. Au point de vue pratique, on arrive à des résultats suffisants par l'emploi d'un mélange pulvérulent constitué par une partie de sulfate de cuivre en poudre pour trois parties de chaux éteinte. Ce mélange est répandu à la main entre les gaines des feuilles, dans les régions où se formeront les futurs régimes qu'il s'agit de protéger. Le traitement ne doit porter que sur les Dattiers qui ont montré des régimes attaqués. Un premier traitement est effectué après la recolte et un deuxième quelques temps avant la floraison (Chabrolin, 1930).

**Chapitre 2.**  
*Eucalyptus globulus*

## 2.1. Origine

Les *Eucalyptus* (d'où le nom d'*Eucalyptus* du grec eu = bien et kaluptos = couvert) formé par la fusion des pétales et/ou des sépales. Sont des grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur, originaire d'Australie, notamment de la province de Tasmanie ; l'*Eucalyptus* fut rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. Possédant une exceptionnelle capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît (Daroui, 2012). Grâce à leur facilité d'adaptation, les espèces *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. gomphocephala*, sont les plus répandues dans la région méditerranéenne). Près de 600 espèces sont connues dans le monde (Foudil, 1991).

## 2.2. Classification dans la systématique botanique (Metro, 1970).

Règne : .....	Plantae
Division : .....	Magnoliophyta
Classe : .....	Magnoliopsida - Dicotylédones
Sous-classe : .....	Rosidae
Ordre : .....	Myrtales
Famille : .....	Myrtaceae
Genre : .....	<i>Eucalyptus</i>
Espèce : .....	<i>Eucalyptus globulus</i>

Nom botanique de l'espèce : *Eucalyptus globulus* (Metro, 1970).

Synonymes : Gommier bleu, *Eucalyptus globuleux*, Arbre à fièvre, *Eucalyptus officinal*.

Les noms vernaculaires : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (Daroui, 2012).

## 2.3. Description botanique

Il faut savoir que cet arbre est exotique car il est introduit en Algérie vers 1856 par Ramel de l'Australie. Il forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays. Les jeunes feuilles sont bleuâtres, opposées et étroitement attachées sur la tige. Les feuilles adultes sont d'un vert sombre, alternées et tombantes. Les fleurs sont visibles au printemps, d'une couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée (Metro, 1970). Les fruits ligneux mesurent de 1,5 à 2,5 cm de diamètre ont une capsule très dure, il renferme deux types de graines de nombreuses petites graines s'échappent par des valves qui s'ouvrent sur le dessus du fruit.

- Odeur : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- Saveur : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- Biotope : très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- Récolte : en Février et en Novembre à la taille des arbres.
- Partie à utiliser : essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés (Daroui, 2012).

## 2.4. Les huiles essentielles

### 2.4.1. Définition

Les huiles essentielles (essences : huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Brunton, 1993).

Selon Parini et Lucheron (1996) les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois, elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal.

Elles sont odorantes et très volatiles (Brunton, 1993).

La composition des HEs est dépendante des facteurs environnementaux tels que le climat, la température, les nutriments (Akin *et al.*, 2010), l'incidence des rayons UV, la saison (Mendes silva *et al.*, 2011), mais aussi de la différenciation héréditaires des espèces en forme physiologique distincte (Zrira *et al.*, 1994).

**Tableau 3.** Principaux composés des HEs d'*E. globulus* (Bey-Ould-Si-Said, 2014).

Auteurs	Composition
(Jubril Olayinka <i>et al.</i> , 2012)	Feuilles : monoterpènes oxygénés : 46,5 %, avec le terpinen-4-ol : 23,46% le constituant le plus abondant. Les autres composés sont $\gamma$ -terpinène : 7,01 %, spathulenol : 8,94 %, $p$ -cymène : 8,10 % et $p$ -cymen-7-ol : 6,39 %. Globulol : 2,52 % et $\alpha$ -phellandrene : 2.20 %.
(Song <i>et al.</i> , 2009)	Feuilles : 1,8 cineole : 85,8%, $\alpha$ -pinène : 7,2%, et $\beta$ -myrcène : 1,5%, $\beta$ -pinène, limonène, $\alpha$ -phellandrene, $\gamma$ -terpinène, linalool, pinocarveol, terpinen-4-ol, et $\alpha$ -terpineol.
(Tyagi <i>et al.</i> , 2011)	Feuilles : 1,8-eucalyptol : 72,71 %, $\alpha$ -pinène : 9,22 %, $\alpha$ -terpineol : 2,54 %, globulol : 2,77 %, $\alpha$ -terpineol acetate : 3,

	11 %, et alloaromadendrene : 2, 47 %.
(Mulyaningsiha <i>et al.</i> , 2010)	Fruit : aromadendrene : 31,17% est le composé le plus abondant, suivi du 1,8-cineole : 14,55%, globulol : 10,69%, et du ledene : 7.13%.
(Nishimura et Calcin, 1979) (Brian <i>et al.</i> , 1979)	Fruit : $\beta$ pinene, $\beta$ terpinene, $\gamma$ -terpinene, 1,8cineole, $\alpha$ terpinene, linalool oxide, terpinen-4-ol, piperitone, $\alpha$ -gurjunene, aromadendrene, alloaromadendtene, eremophilene, $\gamma$ -cadinene, and globulol.

### 2.5.2 Propriétés thérapeutiques du genre *Eucalyptus* (*E. globulus*)

De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicaux des feuilles d'*Eucalyptus* dans leur pharmacopée : Chine, Inde, etc. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'*Eucalyptus* (Daroui, 2012).

L'HE d'*Eucalyptus globulus* est un antiseptique des voies respiratoires, expectorant, analgésique, en (Duraffourd *et al.*, 1997) usage interne et externe, décongestionnant, hypoglycémiant, une action détoxifiante des toxines diphtérique et tétanique, antimicrobien sur les bactéries Gram +, anti-inflammatoire, améliore les épreuves fonctionnelles respiratoires, mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge, tropisme broncho-pulmonaire très marqué, asséchante en forte proportion.

Les propriétés médicinales de l'*Eucalyptus* sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. Le 1,8-cinéole que contient l'*Eucalyptus* s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme (Juergens *et al.*, 2003).

La lutte contre les champignons toxigènes est l'un des objectifs de cette conservation, en effet ces micro-organismes élaborent des substances toxiques, les aflatoxines, les ochratoxines et les zéaralenones, réputés pour leurs effets hépatotoxique et cancérigène (Fan *et al.*, 1999). Et pour combattre le rhume (Tesche *et al.*, 2008; Kehrl *et al.*, 2004). Les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans les savons, les crèmes, les détergents, lessives et dans l'industrie agro-alimentaire. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Makhloufi, 2013).

# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre 3.**

## **Matériel et méthodes**

### 3.1. Présentation de la zone d'étude

La région de Biskra est située au Sud- Est algérien. Elle s'étend sur une surface de 22.379, 95 km<sup>2</sup> dont la ville de Biskra se trouve à une altitude moyenne de 124 m. Sa latitude est comprise entre 34°39' et 35° 24' (N.) et sa longitude entre 4°99' et 6°79' (E.) (A.N.A.T, 2003).

D'après A.N.A.T (2003), la région de Biskra est une zone de transition du point de vue morphologique et bioclimatique. Le nord de cette région est caractérisé par un relief assez élevé et accidenté, alors que, le sud est dominé par des plateaux et des plaines. D'une façon générale, ce relief peut être réparti en 4 grandes zones: Zone Montagneuse, Zone des plateaux, Zone des plaines et Zone des dépressions.

Les températures moyennes maximales mensuelles sont les plus faibles durant le mois de janvier et décembre de (18,1C°) pour la période (2007-2018). Par contre le mois le plus chaud est juillet (28,1°C) durant la période de 2007 à 2018. (Anonyme)

Durant la période de 2007 à 2018, les températures moyennes minimales mensuelles sont les plus chauds durant le mois de juillet avec 28,2C°. Le mois de janvier est le mois le plus bas avec 7,1C°. (Anonyme)

D'après Dubief (1963) les précipitations sahariennes ont une origine différente selon les saisons. En été, elles sont dues aux dépressions de mousson. En hiver, elles proviennent des dépressions qui accompagnent la migration vers le sud, des fronts polaires. Pendant les saisons intermédiaires, les précipitations sont dues aux dépressions ; soudano-saharienne qui traversent le sud au Sahara. Ainsi, à la différence des régions tempérées, la répartition des précipitations dans les zones arides varie entre l'été et l'hiver et d'une année à l'autre.

### 3.2. Matériel fongique

La maladie (khamedj) se traduit sur le jeune spadice par une tache brune qui s'accroît progressivement et finit par intéresser la plus grande partie du jeune régime.

Dans tous les cas, les tissus bruns envahis par le champignon se recouvrent d'une abondante poussière blanche constituée par les spores de champignon.

Les échantillons étudiés ont été prélevés de L'institut technique de développement de l'Agronomie saharienne ITDAS d'Ain Ben Naoui.

#### 3.2.1. Présentation de l'ITDAS (Ain Ben Naoui)

L'institut technique de développement de l'Agronomie saharienne ITDAS, se situe dans la commune d'El Hadjeb à 7km au sud-ouest du chef-lieu de la wilaya de Biskra. Il s'étend sur une superficie de 83 ha, à une altitude égale à 80 m au-dessus de niveau de la mer. La station de l'institut dispose d'un patrimoine phoenicicole non négligeable de 1645 palmiers (1262 palmiers de Deglet Nour, 152 palmiers Mech-Degla, 124 palmiers Ghars et 107 palmiers des dattes commune). La palmeraie de la station occupe une superficie de 14 ha. (ITDAS, in Fadlaoui, 2017).



**Figure 3.** Echantillon d'une inflorescence du palmier dattier infecté (Photo originale).

### 3.2.2. Isolement de champignon sur le milieu PDA :

Le milieu de culture le plus conseillé pour la culture de champignons est le milieu PDA (Potatoes-Dextrose-Agar, pomme de terre glucosée et gélosée) puisque l'amidon et le glucose sont les principaux aliments de la plus part de champignons. Ce milieu existe tout préparé dans le commerce mais par des raisons économiques, nous l'avons préparé nous-mêmes (annexe N°1).

**Tableau 4.** L'échantillonnage et la mise en culture.

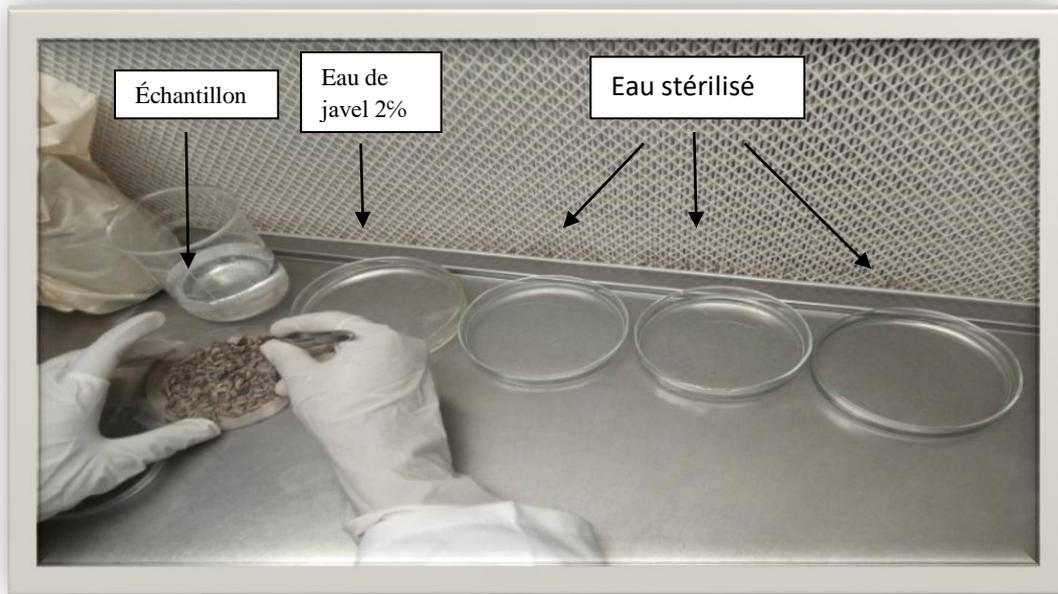
L'échantillon	La région	La mise en culture
spathes Deglet nour (mâle)	Ain Ben naoui	07 novembre 2019

### 3.2.3. Préparations des précultures

#### 3.2.2.1 Prétraitement, la mise en culture et incubation

Le principe consiste à mettre les fragments prélevés à partir des parties infectées d'une spathe dans l'eau de javel 2% pendant 3 minutes pour les désinfecter, puis rincer trois fois pendant 3 minutes dans l'eau stérile et sécher à l'aide d'un papier filtre stérile.

La mise en culture est réalisée sur le milieu PDA : On dépose alors les petits échantillons dans les boîtes de pétri préparées à l'aide d'une pince stérile ; à raison de 4 fragments pour chaque boîte ; puis l'incubation dans l'étuve à 25°C pendant 7 jours.



**Figure 4.** Rincage des échantillons (Photo originale).

#### **3.2.2.2. Isolement des microorganismes**

La purification des isolats fongiques a été effectuée par repiquages successifs en points par épuisement des moisissures poussées sur le PDA. Les dernières colonies poussées sur les points de repiquages successifs par épuisement ont constitué les isolats purs. Des repiquages successifs ont été nécessaires pour obtenir des colonies pures.

#### **3.2.4. Identification des isolats fongiques**

L'identification de champignon infecté les inflorescences du palmier dattier a été réalisée par l'observation macroscopique (aspect des colonies) et par l'observation microscopique (aspect du mycélium et des spores).

##### **3.2.4.1. Aspects macroscopiques**

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies à l'œil nu a concerné les éléments suivants :

La consistance de la colonie : duveteuse, laineuse, cotonneuse, floconneuse,

Poudreuse,...etc.

- La couleur : du recto et du verso de la boîte de pétrie.
- La taille : en mesurant le diamètre de la colonie.
- La pigmentation : présence ou absence d'un pigment diffusible dans le milieu.
- La forme du contour : régulier, irrégulier, lobé, dentelé, filamenteux,...etc.
- La surface : plane, plissée, cérébriforme.
- L'exsudat : présence ou absence de gouttelettes

#### **3.2.4.2. Aspects microscopiques**

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium.

On mentionne les organes de reproduction, aspect du thalle (cloisonné ou non cloisonné), types des spores, disposition des spores,...etc.

Les isolats ont été examinés au microscope en tant que frottis humides. Pour préparer un frottis humide, une aiguille d'inoculation est utilisée pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les spores (Zaitlin *et al.*, 2003). L'échantillon à déposer sur la colonie; Une goutte de lactophénol est ajoutée à la préparation qui est recouverte délicatement d'une lamelle (Nguymen, 2007). En outre, l'utilisation d'un microscope optique a permis la prise en photo du mycélium. Les isolats fongiques ont été identifiés selon le manuel de Botton *et al.* (1990).

Aussi, On a utilisé la technique « Slide culture », Cette technique permet de voir au microscope la morphologie intacte du champignon. La technique de culture des diapositives est la meilleure technique pour l'examen microscopique des cultures de moisissures.

Premièrement, la diapositive était soutenue par deux bâtons au-dessus d'une ou deux couches de papier filtre au fond d'une boîte de Pétri, qui étaient entièrement autoclaves. Deuxièmement, le papier filtre a été trempé dans de l'eau stérilisée pour maintenir l'humidité. Troisièmement, deux morceaux de 0,5 mm de PDA ont été placés sur la glissière et inoculés avec une petite quantité de mycélium à un coin du bloc de gélose. Enfin, une housse stérilisée

a été placée sur le bloc d'agar. L'ensemble a été scellé et incubé dans une étuve à 25°C pendant 2 jours, après quoi le recouvrement peut être retiré et observé au microscope.



**Figure 5.** Les étapes de micro-culture (Slide culture) (Photo originale).

### 3.3. Préparation de matériel végétal

Notre expérimentation a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles extraites à partir de feuilles et fruits d'une plante médicinale aromatique : *Eucalyptus globulus* (Myrtacées) de la région de Biskra.

#### 3.3.1. Séchage

Le séchage de la plantes se fait à l'air libre, à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la chaleur et de la lumière, dont la durée du séchage était 06 jours.

**Tableau 5.** Matériel végétale avant et après le séchage.

Avant le séchage	Après le séchage	Site de récolte	Date de récolte
------------------	------------------	-----------------	-----------------

Les feuilles			Sidi okba	03 Fivrier 2020
Les fruits			Sidi Okba	03 Fivier 2020

### 3.3.2. Extractions des huiles essentielles

L'extraction des HEs à été effectuée à partir les parties aérienne de la plante *Eucalyptus globulus* par hydro distillation de type «Clevenger1928».

Une mélange de 150 g de feuilles adultes et / ou fruits sont bien sécher ; sans prétraitement de la distillation (ni broyage, ni laminage) et l'eau distillée (1L). Dans une durée d'extraction est de 3 heures.



**Figure 6.** Montage de l'hydro distillation de type (Clevenger 1928) (Photo originale).

### 3.3.3. Détermination des rendements en huiles essentielles

Pour calculer le rendement on a fait trois extractions de 150 g des fruits d'*E. globulus* sèche avec 1L d'eau distillé dans un montage d'hydrodistilation (Clevenger 1928).

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter. Il est déterminé par la formule suivante:

$$R(\%) = (P_x / P_y) \cdot 100$$

**R(%)** = rendement en huile essentielle en %.

**P<sub>x</sub>**=Poids de l'huiles essentielles récupérées en gramme (**g**).

**P<sub>y</sub>** = Poids du matériel végétal en gramme (**g**) (Kolai *et al.*, 2012).

### 3.4. Etude de l'activité antifongique

Aujourd'hui, les traitements par les plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tel que les antifongiques et en particulier les antibiotiques décroît. Pour cela,

nous avons jugés intéressant de tester ces huiles essentielles des feuilles et fruits vis-à-vis de souches fongiques.

### 3.4.1. Les souches étudiées

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a été testée contre les souches fongiques mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 6.** La souche étudiée

Type d'huile essentiel	La souche fongique
HE <i>Eucalyptus globulus</i> des feuilles	<i>Mauginiells scaettae</i>
HE <i>Eucalyptus globulus</i> des fruits	

### 3.4.2. Etude du pouvoir antifongique

Les méthodes choisies pour évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles sont ; la méthode de micro-atmosphère (Bendjilali, 1984 ; Mondello et al., 2009) et la méthode de contact direct (Fandohan et al., 2004).

#### 3.4.2.1. Méthode de contact direct

La méthode est une technique choisie pour déterminer l'activité antifongique de l'huile essentielle à tester. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antifongique de l'huile essentielle sur les champignons, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces champignons vis-à-vis de cette huile essentielle.

#### 3.4.2.2. Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentrations d'huiles essentielles

Les différentes concentrations en huile essentielles sont incorporées dans le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) afin d'obtenir une répartition homogène des composés à l'état dispersé (Remmal et al., 1993 ; Satrani et al., 2001).

Ces concentrations sont préparées de la façon suivante :

**Tableau 7.** Protocole expérimentale.

		Les doses ( $\mu$ l)		
		100	200	300
	Témoin	PDA sans HE	PDA sans HE	PDA sans HE
Les répétitions	R1	PDA + HE	PDA + HE	PDA + HE
	R2	PDA + HE	PDA + HE	PDA + HE
	R3	PDA + HE	PDA + HE	PDA + HE

Chaque concentration est incorporée dans un tube à essai contenant 20 ml de milieu de culture PDA.

Le mélange de chaque milieu, est coulé dans des boîtes de Pétri, En parallèle des témoins composés de PDA sans huile servent de contrôle.

A l'aide d'une pipette pasteur, nous découpons un fragment de culture fongique d'environ 5mm de diamètre à partir d'un tapis mycélien âgée de 7 jour, est déposé au centre de la boîte de pétri.

Les souches ont été incubées à 25°C pendant 6 à 10 jours. Des mesures de diamètre des colonies ont été faites après la fin de l'incubation.

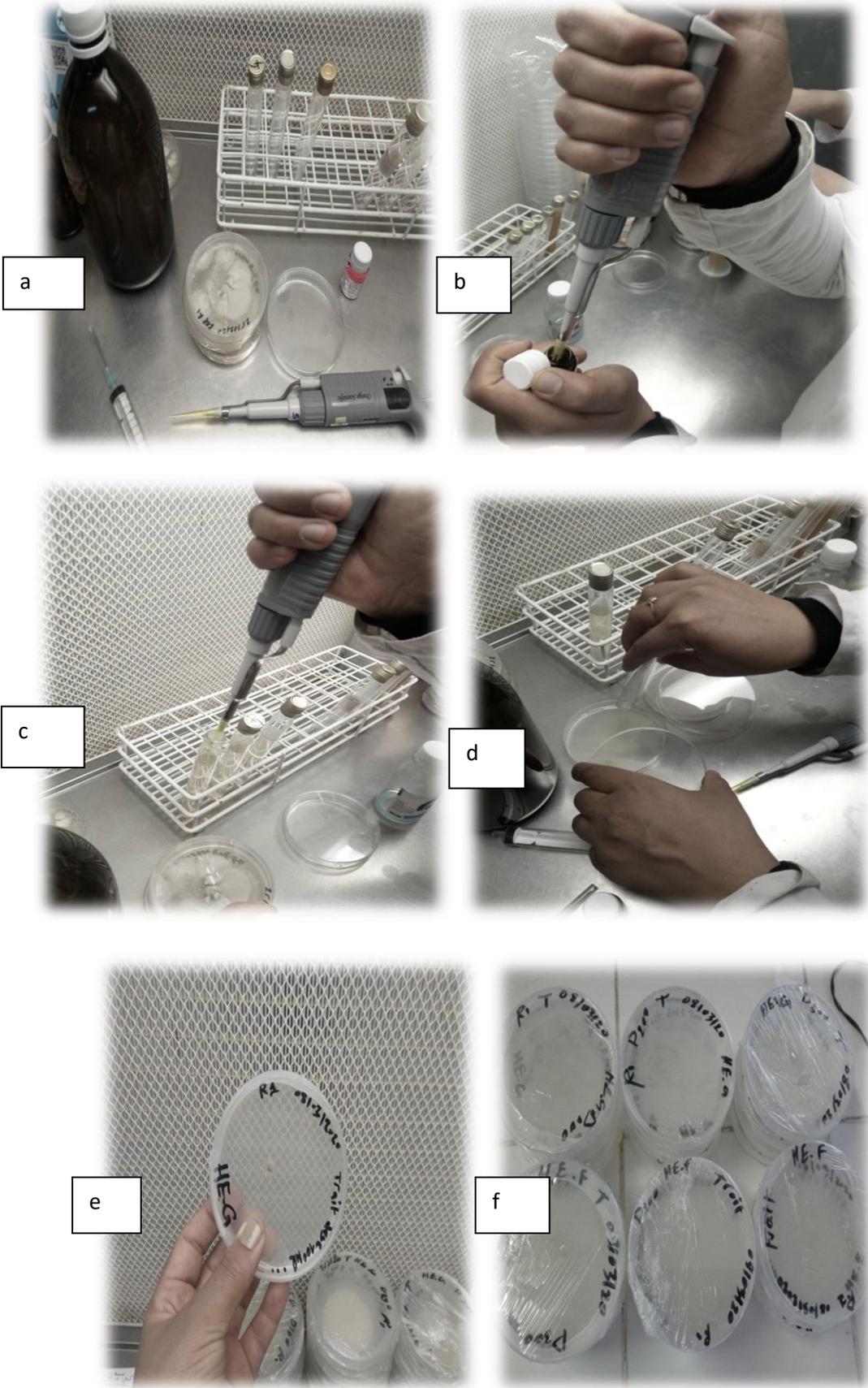


Figure 7: Les étapes de la méthode de contact directe(photo originale).

### 3.4.2.3. La méthode micro-atmosphère

L'activité antifongique des composants volatiles, contenus dans les huiles essentielles, contre mycélienne est mise en évidence selon la technique en micro-atmosphère. Cette méthode consiste à déposer un disque de papier Wattman stériles de 5cm de diamètre au centre du couvercle d'une boîte de Pétri, puis chargé avec 100 $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 300  $\mu$ l de l'huile essentielle, sans que cette dernière entre en contact avec le PDAensemencée auparavant par 5mm de la souche test (*Mauginiella scaettae*).

La boîte est incubée à 25°C pendant 6 à 10 jours. Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et la croissance des cellules fongiques sensibles de l'inoculum est inhibée.

L'observation et la mesure des diamètres d'inhibition en mm se font les 2èmes, 3èmes, 4èmes et 10èmes jours d'incubation. Trois essais pour chaque test sont réalisés, le résultat étant la moyenne des trois.



**Figure 8.** Les étapes de la méthode de micro atmosphère (photo originale).

### 3.4.3. Paramètres étudiés

L'action antifongique a été déterminée par la mesure de la colonie fongique, en utilisant les formules suivantes :

#### 3.4.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne

La technique utilisée est celle décrite par Brewer (1960) et Leach (1962), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale en utilisant la formule suivante :

$$L = D - d / 2$$

Ou :

**L** : Croissance mycélienne ;

**D** : Diamètre de la colonie ;

**d** : Diamètre de l'explant.

#### 3.4.3.2. Evaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne

L'action antifongique a été déterminée par la mesure de l'inhibition de la croissance de la colonie fongique, en utilisant la formule décrite par Leroux et Credet (2003).

$$T\% = L - I / L \times 100$$

**T** : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage ;

**L** : Diamètre de la colonie mycélienne témoin, en centimètre ;

**I** : Diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience.

#### 3.4.3.3. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

$$VC = [D1/T1] + [(D2-D1)/T2] + [(D3-D2)/T3] + \dots + [(Dn-Dn-1)/Tn]$$

D = Diamètre de la zone de croissance du chaque jour (mm).

T = Temps d'incubation (jour).

#### 3.4.3.4. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Cette valeur correspond à la concentration minimale qui permet l'inhibition de la croissance fongique observée à l'œil nu par l'absence de croissance mycélienne. Sa détermination a été faite par observation de l'absence totale de la croissance des souches dans

les différentes concentrations utilisées. Ainsi, plus la valeur de CMI est faible, plus la capacité antifongique de l'huile essentielle est élevée.

# **Chapitre 4.**

## **Résultats et discussions**

#### 4.1. Paramètres organoleptiques des huiles essentielles

Les paramètres organoleptiques (l'aspect, la couleur et l'odeur) des huiles essentielles obtenues par l'hydrodistillation de plante est résumé dans le tableau suivant :

**Tableau 8.** Caractéristique organoleptiques d'huile essentielle d'*E.globulus*

	Les plantes	Couleur d'huile	Odeur d'huile	Aspect
Huiles Obtenues	<i>Eucalyptus globulus</i> Fruits	jaune claire	Aromatique agréable	Aspect huileux
	<i>Eucalyptus globulus</i> Feuilles	jaune foncé	Aromatique agréable	Aspect huileux
Les normes AFNOR	<i>Eucalyptus globulus</i>	jaune très pâle à transparent	fraîche et épicée	liquide limpide, fluide et mobile

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (fruits et feuilles) est obtenue après une hydrodistillation, elle a une odeur aromatique très agréable et une couleur jaune clair pour les fruits tandis que les feuilles sont jaune foncé. Ces caractéristiques sont identiques avec les résultats de (Bey-Ould si said, 2014) dans le cas d'extrait de la région de Derguinah, willaya de Bejaïa.

Selon AFNOR (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus au mois coloré et leur densité inférieure à celle de l'eau.

#### 4.2. Rendements des huiles extraites

##### 4.2.1. l'huile essentielle de fruits d'*Eucalyptus globulus*

Après l'extraction de 150g trois fois on obtient un rendement moyen de 0.93%.

**Tableau 9.** Les rendements moyens d'HE des fruits d'*E. globulus*

Extraction	Quantité de la biomasse (en g)	Quantité d'huile essentielle (en g)	Rendement des fruits (%)
01	150	1,2	0,8
02	150	1,5	1
03	150	1,5	1

Les résultats obtenus pour le fruit sont largement inférieure au résultat de (Bey-Ould si said, 2014) qui est de 3,11%, et à ceux rapportés par Pereira et al. (2005), qui sont de 1,57%. Et Bessedik et Khenfer. (2015), qui sont de 1,17%. Par contre notre résultat est supérieur au

résultat de Mendes silva et ses collaborateurs (2011) qu'ils ont trouvé un rendement 0.71%.

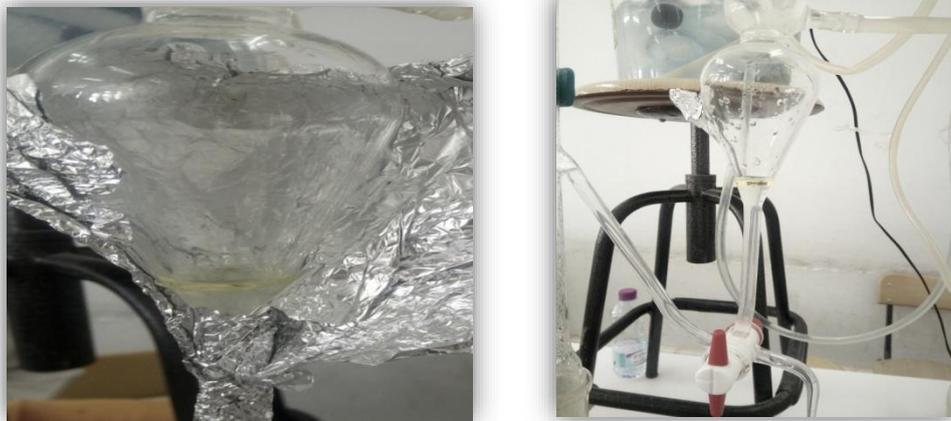
### L'huile essentielle de feuilles d'*Eucalyptus globulus*

Après l'extraction de 150g trois fois on obtient un rendement moyen de 0.44% de feuilles sèches d'*E. globulus*, (Photo. 5).

**Tableau 10.** Les rendements moyens d'HE des feuilles d'*E. globulus*.

Extraction	Quantité de la biomasse (en g)	Quantité d'huile essentielle (en g)	Rendement des feuilles (%)
01	150	0,28	0,18
02	150	0,3	0,2
03	150	1,4	0,93

Ce résultat est nettement inférieur à celui reporté par Raho *et al.* (2008) qui est de 1,2% (P/P), de Pal singh *et al.* (2012) qui est de 1,2% (V/P) et de Damjanovic-vratnica *et al.* (2011) qui est de 1,8% pour les feuilles fraîches.



**Figure 9.** Rendement d'huile essentielle feuilles et fruits (photo originale).

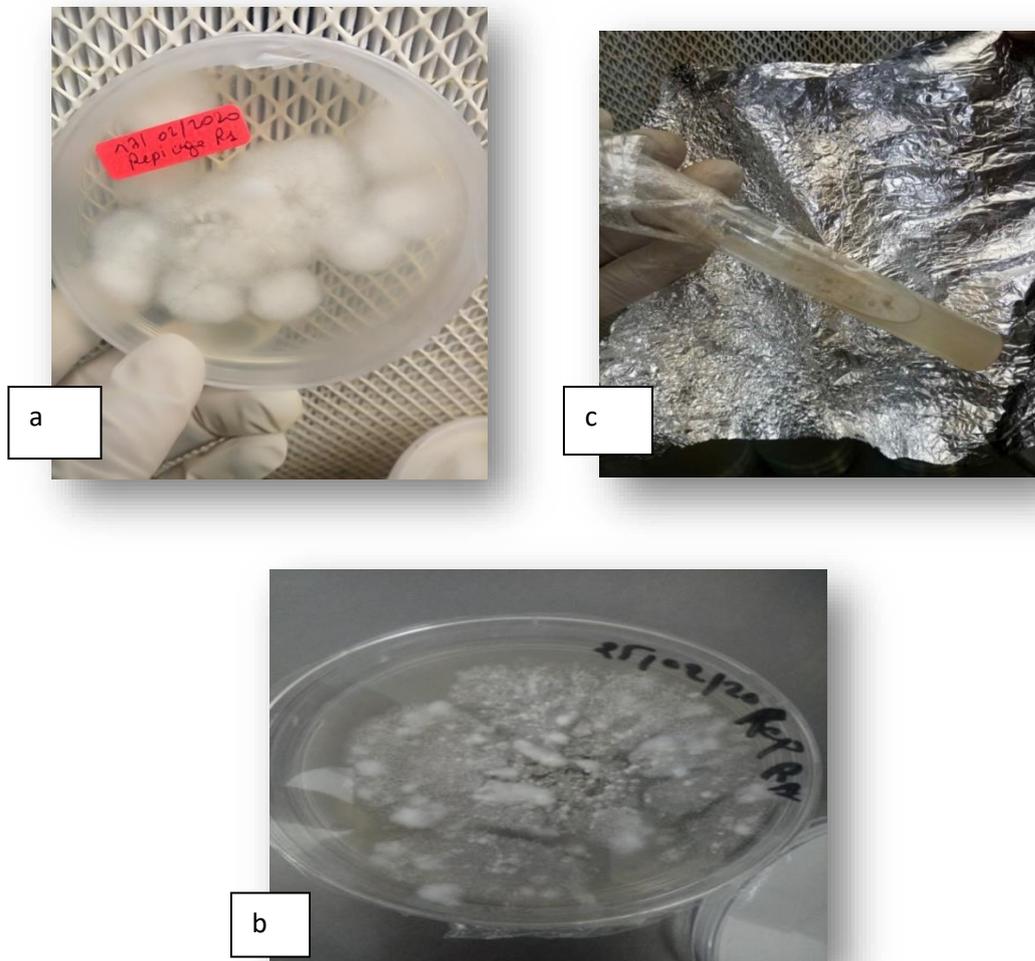
Le rendement en huiles essentielles des plantes est en étroite relation avec l'état de fraîcheur de la plante utilisée pour l'extraction. De nombreux auteurs ont remarqué que les plantes sèches donnent un meilleur rendement que les plantes fraîches, Mendes silva *et al.* (2011) ont rapporté que les feuilles d'*E. cinerea* donnaient un meilleur rendement à l'état sec (4,29%) que frais (3,91%). En outre, le rendement est tributaire de plusieurs facteurs qui sont la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exerçant une influence directe (Boukhatem *et al.*, 2010), ainsi que du milieu géographique (Zrira *et al.*, 1994).

Sa dépend de la saison de récolte, il est de 0,73% en automne et de 0,85% au printemps sont observé des modifications de conformation des canaux sécréteurs des HEs de *E. globulus* à travers les saisons (Bey-Ould si said, 2014).

### 4.3. Identification de l'agent pathogène

#### 4.3.1. Isolement des isolats fongiques

La recherche sur la moisissure qui attaque l'inflorescence du palmier dattier, a été réalisée à l'échelle de laboratoire par l'exploitation des boîtes de pétrie contenant un milieu gélosé. Après l'incubation des boîtes pendant 7 à 10 jours à 25°C, les microorganismes présents dans l'inflorescence ont commencés la croissance juste après. Les souches fongiques qui ont été pris à partir des zones endommagées de spathe sont représentées dans les figures ces dessous.

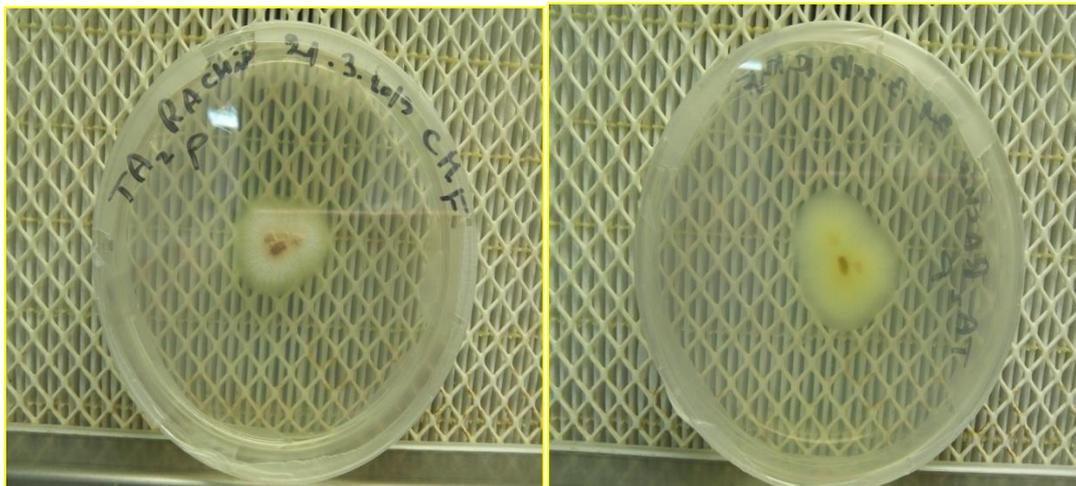


**Photo 10.** Souches fongiques isolées des inflorescences infectées de palmier dattier. a et b : boîtes pétri, c : tube incliné (photo originale)

4.3.1.1. Aspect macro et microscopique

Tableau 11. Aspect macro et microscopique de la souche fongique.

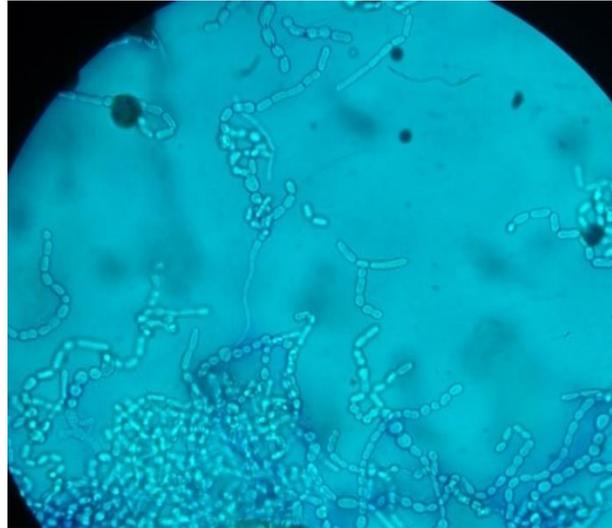
Aspect macroscopique			Aspect microscopique		
Texture de colonie	Couleur	Forme de colonie	Mycélium	Conidies et spores	Hyphe
Laineux	Blanche recto et crémeux à pale brun verso	irrégulier	Cloisonné	Uni, bi, tri ou pluricellulaires	Septé



Recto

Verso

Photo 11. Observation macroscopique des souches fongiques purifiées (photo originale).



**Photo 12.** Observation microscopique ( $\times 10$ ) (photo originale).

Cette maladie est causée par un champignon imparfait de l'ordre des Hyphales, à chaînes de conidies hyalines, fragmentés en articles mono ou bicellulaires *Mauginiella scaettae* Cav (Bounaga et Djerbib, 1990). L'agent pathogène a été isolé et conservé à 25°C sur le même milieu de culture.

Selon Abdullah *et al.* (2005):

- *Mauginiella scaettae* Colonies blanches, jusqu'à 4 cm (diamètre) sur PCA après 10 jours de croissance à 25 ° C.
- Mycélium immergé et superficiellement composé d'hyphes cloisonnés hyalins ramifiés.
- Revers, d'abord crémeux à brun pâle devenant noir dans les anciennes cultures.
- Sporulation abondante, homogène, d'aspect poudreux. Monocotylédone non grasse.
- Ce champignon mitosporique peut représenter un anamorphe d'une espèce phaeosphaeria, L'ultrastructure de la paroi cellulaire et des cloisons hypales, ainsi que le test au bleu de diazonium B ont montré que *M. scaettae* représente un anamorphe d'un ascomycète inconnu.

#### **4.4. Résultats d'activités antifongiques**

Selon l'objectif de notre travail, nous avons choisi la maladie de la pourriture de l'inflorescence (El khamedj) pour la traiter.

Le traitement par les deux HEs a été évalué *in vitro* en utilisant deux tests, l'un par méthode de contact direct et l'autre par méthode de micro-atmosphère. Ces tests nous permis

de mettre en évidence le pouvoir antifongique par la mesure des diamètres de la croissance mycélienne des souches fongiques.

**Tableau 12.** Activité antifongique des HEs par les deux tests antifongiques.

Les doses ( $\mu$ l)	Méthode de contact direct		Méthode micro atmosphère	
	HE de fruits	HE de feuilles	HE de fruits	HE de feuilles
100	+	+	-	-
200	-	+	-	-
300	+	-	-	-

+ : croissance

- : inhibition

D'après le tableau 13 on observe pour la méthode contact direct, que la dose 100  $\mu$ l des deux huiles essentielles (feuille et fruit) n'a pas un effet inhibiteur sur *Mauginiells scaettae*. Tandis que la dose 200  $\mu$ l d'HE de fruit est efficace pour l'inhibition de la croissance mycélienne. Cependant on observe une croissance remarquable à la même dose de l'HE de feuille. Pour la dose 300  $\mu$ l on observe une activité inhibitrice d'HEs des feuilles sur *Mauginiells scaettae*.

Par contre pour la méthode micro atmosphère on observe que les HEs de feuilles et fruits (100, 200 et 300  $\mu$ l) montrent une inhibition totale sur la croissance de *Mauginiells scaettae*. L'huile essentielle d'*E.globulus* est plus efficace et montre une activité antifongique plus élevée (Toutah, 2017).

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'inhibition de la croissance mycélienne en présence de l'huile essentielle de fruits d'*E.globulus* est plus importante par rapport à la présence d'huile des feuilles.

#### 4.4.1. Evaluation de la croissance mycélienne

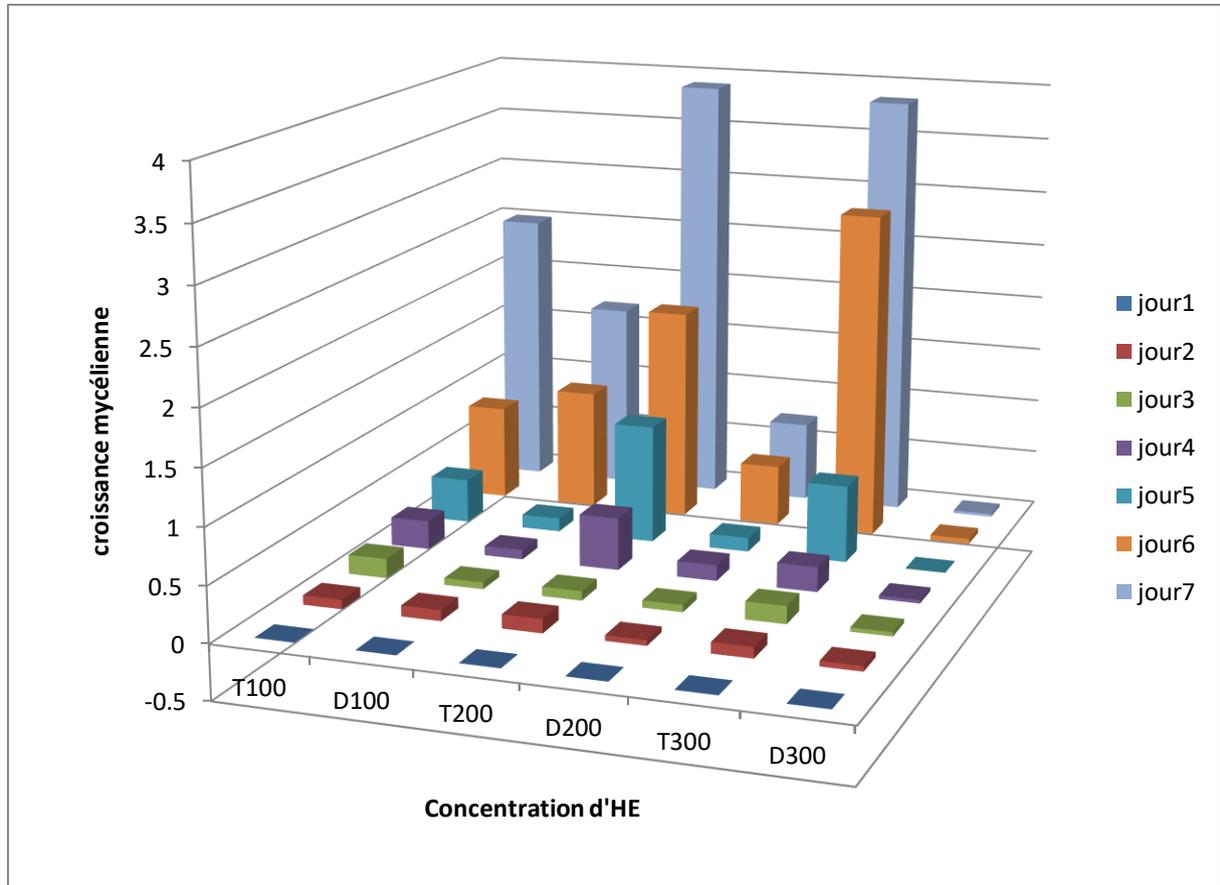
En premier temps, la croissance mycélienne *M. scaettae* Témoin était normale, Ce qu'il se diffère en présence de l'huile essentielle de *E.globulus*. Ce paramètre évolue dans le temps, durant l'incubation.

L'utilisation des témoins a favorisé une comparaison juste et fiable de l'effet des huiles essentielles contre ces champignons. Les diamètres de la croissance mycélienne en cm (y compris le diamètre de disque qui est 0.5cm).

#### 4.4.1.1. En présence de l'huile essentielle des feuilles d'*E.globulus*

##### a. La méthode de contact directe

L'évaluation de la croissance mycélienne est représentée dans la (Fig. 13).



**Figure 13.** Effet d'HE des feuilles d'*E. globulus* sur la souche fongique testée par la méthode de contact direct

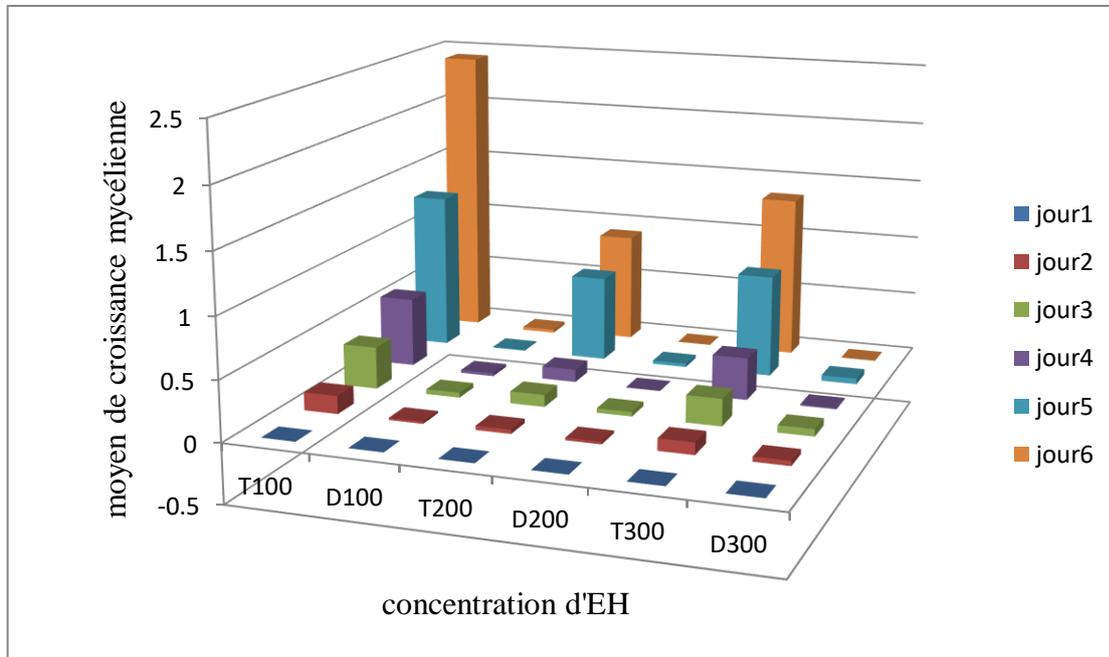
T : témoin ; D : dose ( $\mu$ l)

Selon la figure ci-dessus on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 10 jours pour le témoin, mais elle réduit à chaque fois qu'on augmente la concentration de l'HE.

On remarque que le degré de l'efficacité de l'huile essentielle des feuilles d'*E.globulus* sur la croissance mycélienne de souche fongique testée est remarqué jusqu'à une concentration de 300  $\mu$ l cette dernière donne une forte inhibition de la souche fongique. Ce qui se défère à la concentration de 100 et 200  $\mu$ l qui ont été montré une inhibition dans les

Cinq premiers jours de l'incubation et un effet légère sur la croissance mycélienne pour le 6<sup>eme</sup> et 7<sup>eme</sup> jours. Celle du témoin de chaque concentration.

#### a. la méthode de micro atmosphère



**Figure 14.** Effet d'HE des feuilles d'*E. globulus* sur la souche fongique testée par la méthode de micro atmosphère.

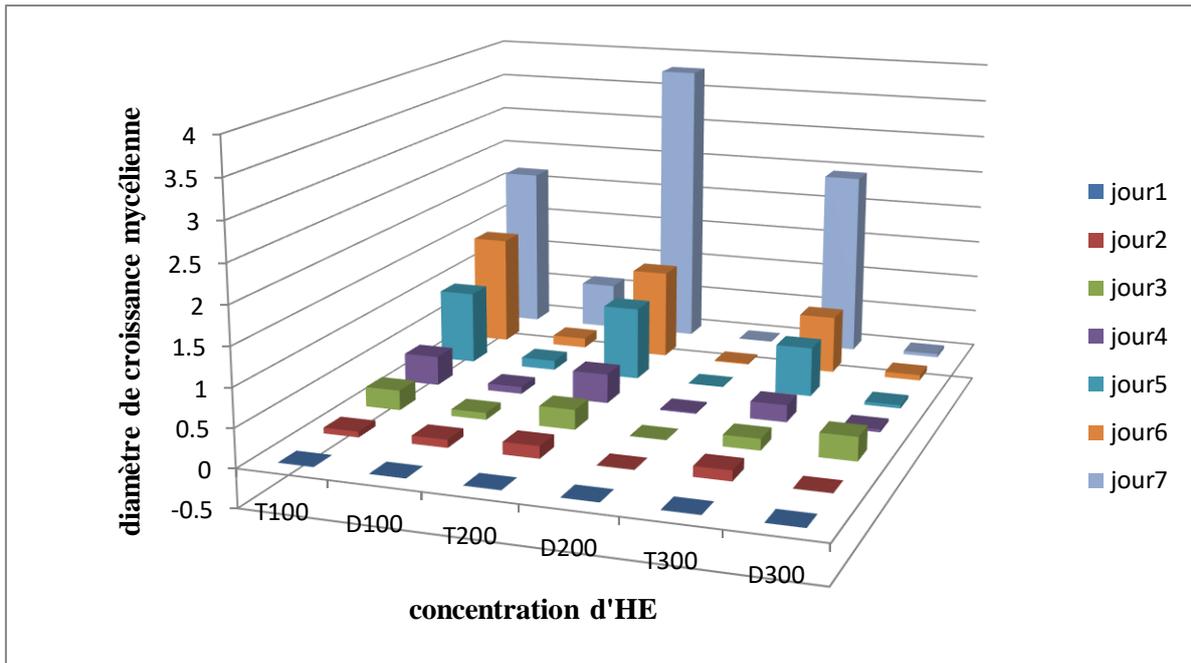
T : témoin      D : dose ( $\mu$ l)

On observe dans la (Fig. 14), que la croissance mycélienne est remarquable après 10 jours pour le témoin, tandis qu'elle réduit à chaque fois qu'on augmente la concentration de l'HE. L'effet d'huile essentielle des feuilles de notre plante pour toutes les concentrations aperçut aux jours 4 et 6 de l'incubation, ont été efficaces pour inhiber ou ralentir la croissance mycélienne de la souche fongique testée. Pour les 2<sup>eme</sup>, 3<sup>eme</sup> et 5<sup>eme</sup> jours l'effet de l'huile essentielle est diminuée mais donne un moyen de diamètre de croissance mycélienne très faible par rapport au témoin.

#### 4.4.1.2. En présence l'huile essentielle de fruits d'*E.globulus*

##### a. La méthode de contact directe

L'évaluation du diamètre de croissance mycélienne est représentée dans la (Fig. 15).

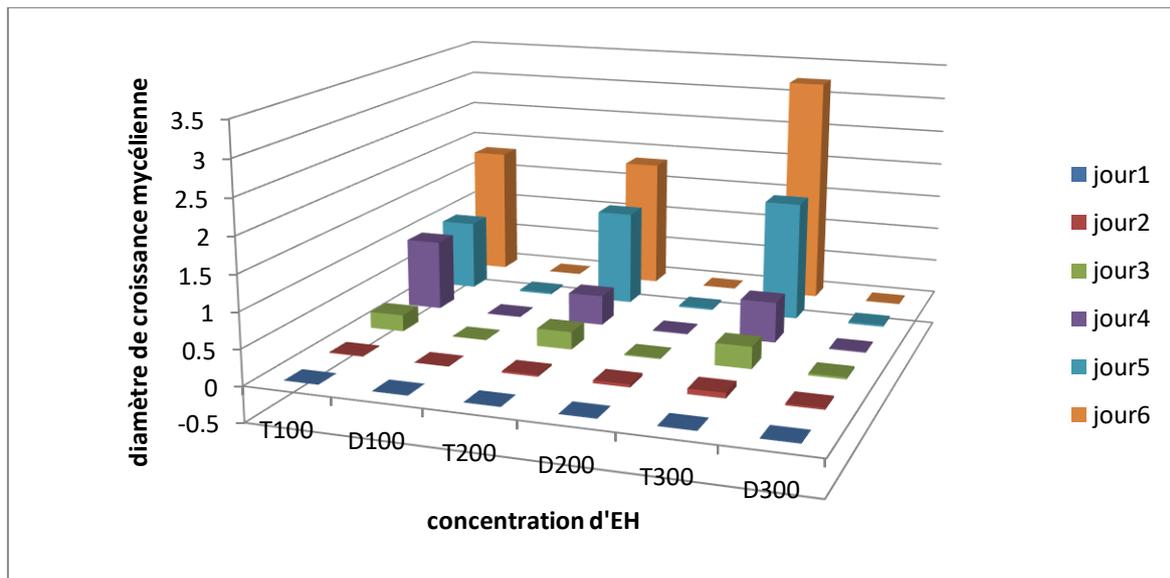


**Figure 15.** Effet de l'HE des fruits d'*E. globulus* sur la croissance mycélienne de la souche fongique testée par la méthode de contact directe.

T : témoin      D : dose ( $\mu\text{l}$ )

On remarque que l'efficacité de l'huile essentielle de fruits d'*E. globulus* sur la croissance mycélienne de souche fongique testée est remarquable jusqu'à une concentration de 200  $\mu\text{l}$  cette dernière donne une forte inhibition de la souche fongique. Ce qui se défère à la concentration de 100 et 300  $\mu\text{l}$  qui ont été montrées un effet léger sur la croissance mycélienne par rapport au témoin.

### b. La méthode de micro atmosphère



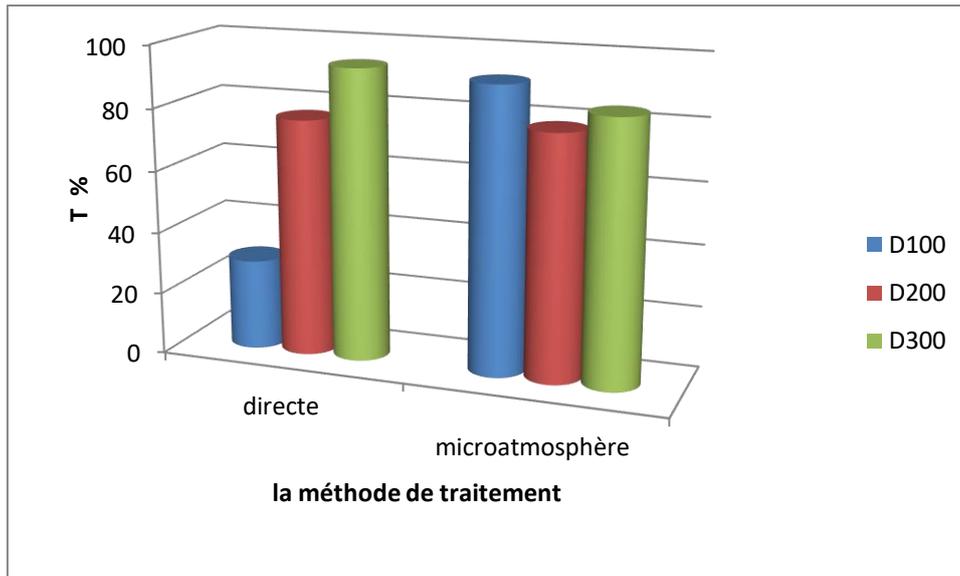
**Figure 16.** Effet de l'HE des fruits d'*E. globulus* sur la souche fongique testée par la méthode de micro atmosphère.

T : témoin    D : dose (μl)

D'après la (fig. 16), on observe que les trois concentrations (100 ; 200 et 300μl) de l'huile essentielle de fruits *E.globulus* ont été efficaces pour inhiber la souche fongique testée par apport au témoin.

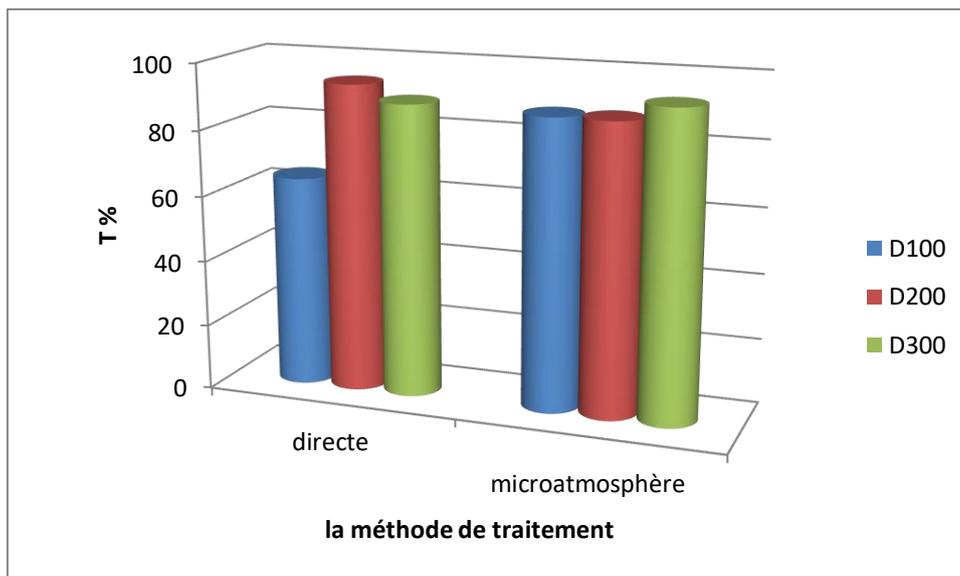
#### 4.4.2. Evaluation de taux d'inhibition

Les taux d'inhibition des huiles essentielles des fruits et des feuilles de l'*E.globulus* sont consignés dans les figures ci-dessous :



**Figure 17.** Taux d'inhibition d'HE des feuilles d'*E.globulus*.

T : taux d'inhibition(%) ; D : dose ( $\mu$ l)



**Figure 18.** Taux d'inhibition d'HE des fruits d'*E.globulus*

T : taux d'inhibition(%) ; D : dose ( $\mu$ l)

L'analyse des résultats des (Fig. 17 et 18) montrent que les huiles essentielles, présentent une activité inhibitrice différente, dont l'inhibition totale (100%) a été absente pour les deux huiles essentielles par l'application des concentrations (100, 200, 300 $\mu$ l).

Alors que l'effet inhibiteur maximal manifeste par les feuilles d'*Eucalyptus* atteint à une concentration 300 $\mu$ l par la méthode de contacte directe mais à la concentration 100 $\mu$ l l'effet

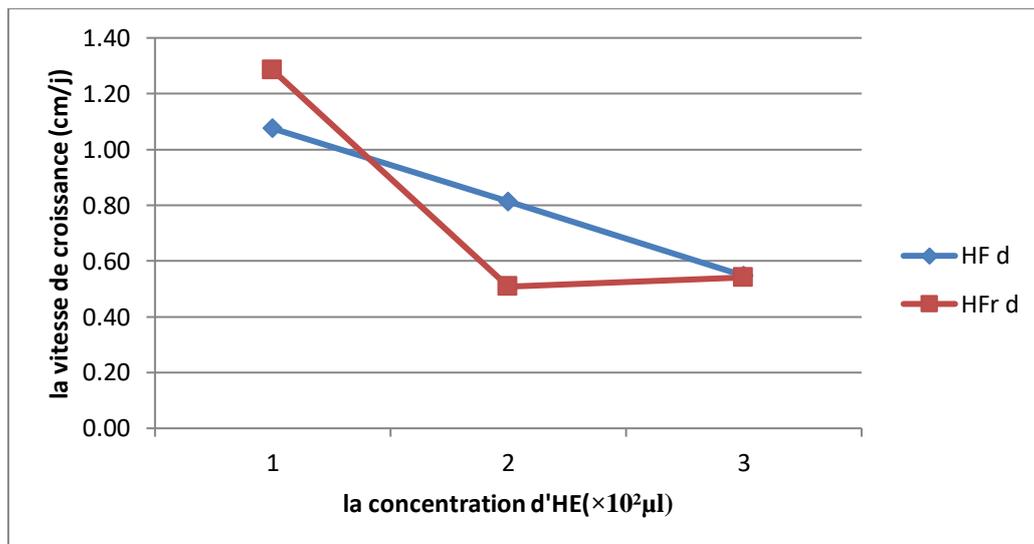
est minimale, la concentration 300 $\mu$ l été enregistré le meilleure effet par la méthode de micro atmosphère, et elle est diminué pour les concentrations 100 et 200 $\mu$ l.

Tendis que l'effet inhibiteur maximal manifeste par les fruits d'*Eucalyptus* atteint une concentration 200 $\mu$ l par la méthode de contacte directe, elle est minimale à la concentration 100 $\mu$ l. En revanche à la concentration 100 $\mu$ l les fruits d'*Eucalyptus* atteint l'effet inhibitrice maximale par la méthode de micro atmosphère et elle est minimale à la concentration 200 $\mu$ l.

le taux d'inhibition d'huile essentielle est varié respectivement pour l'HE des feuilles d'*E.globulus* entre (1,695)cm à (0) et (29,27) à (93,90)% pour la méthode de contacte directe et entre (0) à (-0,026)cm et (78,45) à (91,65)% pour la méthode de micro atmosphère , et elles varient pour l'HE des fruits d'*E.globulus* entre (0.105) à (-0,002) cm et (64,47)à (93,87%) pour la méthode de contacte directe et entre(0) à (-0,005)cm et (88,10) à (93)% pour la méthode de micro atmosphère à chaque fois qu'on change la concentration de l'HE.

#### 4.5. Vitesse de la croissance mycélienne

##### 4.5.1. La méthode de contacte directe



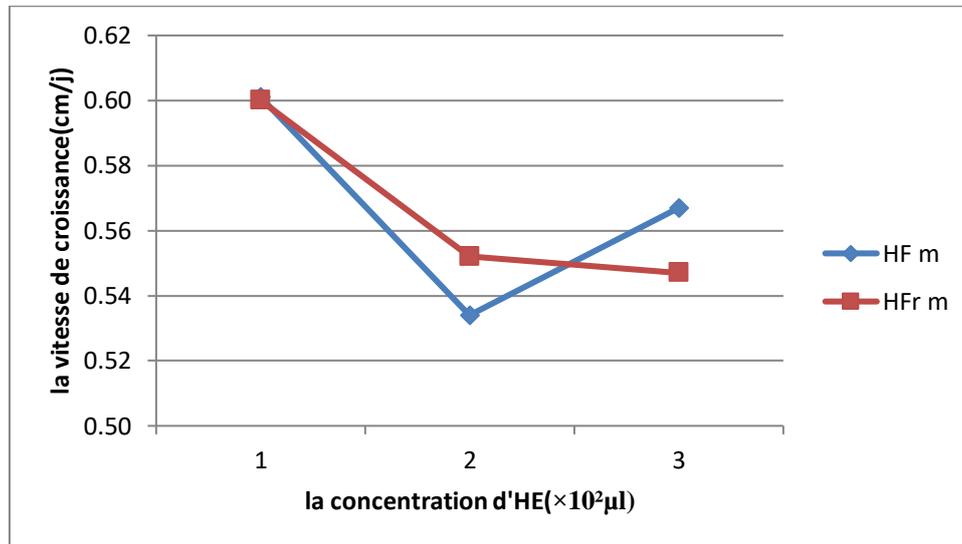
**Figure 19.** vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différence concentration en deux HEs de l'*E. globulus*.

HF : huile de feuilles ; HFr : huile de fruits ; d : méthode de contacte directe.

D'après la (Fig. 19) on observe que la vitesse de la croissance mycélienne la plus élevée a été enregistré à la concentration 100  $\mu$ l pour les deux huiles essentielles d'*E.globulus*, elle donne une valeur (1,28 cm/j) pour l'HE de fruits et (1,08 cm/j) pour l'HE des feuilles. Par la suite la vitesse de la croissance de la souche *M. scaettae* est décrué avec l'augmentation de concentration pour l'HE des feuilles et marqué la plus faible valeur de croissance (0,55 cm/j)

à la concentration 300 $\mu$ l, alors que l'HE des fruits la vitesse est décrie jusqu'à la concentration 200 $\mu$ l ou elle atteint la valeur la plus basse (0.51cm/j) par cette méthode de traitement, puis elle a encore augmenté à la concentration 300 $\mu$ l.

#### 4.5.2. La méthode de micro atmosphère



**Figure 20.** La vitesse de la croissance mycélienne sous l'effet de différence concentration en deux HEs de l'*E. globulus*.

HF : huile de feuilles; HFr : huile de fruits; m : méthode de micro atmosphère.

On observe dans la (Fig. 20), la vitesse de croissance mycélienne la plus haute est marquée à la concentration 100 $\mu$ l pour les deux huiles essentielles d'*E. globulus* avec une valeur de 0.6cm/j. en suite la vitesse de la croissance de la souche fongique *M. scaetiae* est décrie à la concentration 200 $\mu$ l, qui atteint à des valeurs plus basses 0.53cm/j pour l'HE des feuilles et 0.55cm/j pour l'HE des fruits. Par la suite la vitesse de la croissance de la souche est constante jusqu'à la concentration 300 $\mu$ l pour l'HE des fruits mais elle augmente à cette concentration pour l'HE des feuilles.

Avec les différentes concentrations des huiles essentielles extraites, on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 10 jours pour le témoin qui atteint le plus grand diamètre de croissance. Puis elle réduit par la méthode de contacte directe pour la concentration d'huile essentielle des feuilles (100)  $\mu$ l (1,695) cm.

Une augmentation a été enregistré à la concentration (200)  $\mu$ l (0,723) cm, à la concentration (300)  $\mu$ l et pour les trois concentrations en la méthode de micro atmosphère aucune croissance n'est observée.

Ainsi, elle réduit par la méthode de contact directe pour la concentration d'huile essentielle des fruits (300)  $\mu\text{l}$  (0,045) cm.

Une augmentation a été enregistré à la concentration (100)  $\mu\text{l}$  (0,105) cm, à la concentration (200)  $\mu\text{l}$  et pour les trois concentrations en la méthode de micro atmosphère aucune croissance n'est observée.

#### 4.6. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice sont consignés au niveau du (tab. 14).

**Tableau 13.** La concentration minimale inhibitrice (CMI) selon l'HE et la méthode de traitement.

Méthode	Souche	Traitement	(CMI)( $\mu\text{l}$ )
Contact direct	<i>Mauginiells scaettae</i>	HE de fruits d' <i>E globulus</i>	200
		HE de feuille d' <i>E globulus</i>	300
Micro atmosphère		HE de fruits d' <i>E globulus</i>	100
		HE de feuille d' <i>E globulus</i>	100

D'après les résultats illustrés au niveau du (tab. 13) nous avons enregistré les CMI pour l'huile essentielle d'*E globulus* comme suite :

Pour la méthode contact direct :

- 200  $\mu\text{l}$  d'HE de fruits vis-à-vis *M.scaettae*
- 300  $\mu\text{l}$  d'HE de feuille vis-à-vis *M.scaettae*

Pour la méthode micro atmosphère :

- 100  $\mu\text{l}$  d'HE de fruits vis-à-vis *M. scaettae*
- 100  $\mu\text{l}$  d'HE de feuille vis-à-vis *M.scaettae*

#### 4.7. Discussion générale

*Eucalyptus globulus*, est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle. Au cours de notre étude nous nous sommes intéressés à la contribution de l'évaluation *in vitro* de l'effet antifongique des feuilles et fruits de cette plante sur la croissance mycélienne de *Mauginiells scaettae*.

Nos résultats du rendement des huiles essentielles d' *E. globulus*, a été calculé en fonction de la matière végétale sèche des feuilles et fruits de la plante.

Les fruits de la plante d' *E. globulus* a fourni un taux d'environ 0.93 % proche que celui obtenu de la même espèce de part Modeste et *al.* (2014) qui est 1%. Les feuilles nous ont donné un rendement de 0,43 %. Ce dernier est plus faible par rapport à celui obtenu à partir de Raho *et al.* (2008) et qui est de 1.2%, cette dernière est la même quelle trouvée par Pal singh *et al.* (2012).

Divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge de la plante, la partie soumise à la distillation et la technique d'extraction peuvent influencer le rendement (Zrira et Benjilali, 1991; Zrira et Benjilali, 1992). Concernant ce dernier, d'après Bessedik et Khenfer (2015), les travaux qui ont été effectués par Moldao *et al.* (2002) ont montré que le rendement en huile essentielle atteint son maximum pendant la phase de floraison (0,9-1,4%) et son minimum pendant la période de dormance (0,15%).

Concernant le pouvoir antifongique, différentes concentrations des huiles essentielles, d' *E. globulus* ont été étudiées vis-à-vis de champignon *M. scaettae*. qui causent la pourriture des inflorescences du palmier dattier.

Les résultats obtenus confirment l'efficacité des huiles essentielles des plantes médicinales et leur pouvoir antifongique à certaines doses. De nombreux travaux soulignent cet effet antifongique des principes actifs naturels. En effet, l'HE d' *E. globulus* semble jouer d'une activité inhibitrice particulièrement large sur les différentes classes de micro-organismes testés excepté pour *M. scaettae*.

L'huile essentielle des fruits d' *E. globulus* est plus active que celle des feuilles de la même plante, elle a provoqué une inhibition de la croissance de *M. scaettae* à partir de 200 et 100 µl par la méthode de contacte directe et la méthode de micro atmosphère avec un taux d'inhibition 93,87 et 88,10 respectivement, ces résultats est correspondant à ceux obtenues par Elmensouri (2013) qu'il a montré que l'H.E d'Eucalyptus possèdent une très bonne activité antifongique sur l'espèce de *Candida albicans* 4 à la concentration 200µl par un taux d'inhibition 93,96. Ce que nous obtenons est très différent de ses résultats, qui les répartissent les autres espèces de candida.SP testées avec un taux d'inhibition de 100%.

Dans notre étude, d' *E. globulus* a montré une activité antifongique vis-à-vis du champignon (*M. scaettae*) avec des CMI entre 100 et 300 µl, notre résultats sont plus proche à lesquels trouvés par (Toutah, 2017).

Les valeurs des CMI obtenues pour la méthode de micro atmosphère sont de 100µl/ml pour les deux huiles feuilles et fruits d'*E. globulus*, et des CMI obtenues pour la méthode de contact directe sont de 200 à 300µl/ml pour l'HE de fruits et de feuilles respectivement.

Au contraire Vilela *et al.* (2009). Ont reporté des résultats très faibles et efficaces (CMI proches de 8µl/ml), à l'égard de l'HE d'*Eucalyptus globulus* testée contre *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Ces auteurs ont signalé que l'HE d'*Eucalyptus globulus* appliquée par contact direct ou par la technique de micro atmosphère a permis une inhibition totale de ces deux espèces fongiques. (Djenane *et al.*, 2011).

Nous avons remarqué que la fraction volatile de l'huile essentielle étudiée montre une meilleure activité antifongique contre les phytopathogènes testés par rapport à la méthode de contact direct sur milieu gélosé. Ce dernier a confirmé par Laghchimi *et al.* (2014), qu'ils montrent que la fraction volatile des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus globulus* inhibe fortement la croissance du mycélium de *Mortierella hyalina* var. *Hyaline*, *Penicillium roquefortii* et *Phomaexiqua* isolés à partir des pommes.

L'explication de ces observations peut être attribuée à la faible solubilité des huiles essentielles dans l'eau et par conséquent dans le milieu gélosé, grâce à leur caractère hydrophobe. Ainsi, le caractère volatile et hydrophobe rend ces huiles plus absorbables par le mycélium fongique que par le contact direct sur gélose. Ce comportement peut être du, d'une part, à la nature lipophile du tissu fongique et d'autre part à la forte teneur en eau dans la gélose.

L'évaluation de l'activité antifongique de ces HEs a montré que les variations d'inhibition sont en fonction de nombreux facteurs, notamment la nature et la concentration de l'huile essentielle et la souche fongique étudiée. Ainsi que les différences observées entre les activités antifongiques des différentes HE étudiées peuvent être attribuées à des différences dans leurs compositions chimiques (les fractions actives).

Les HEs des feuilles sont riches en monoterpènes et celles du fruit en sesquiterpènes. Le composé majoritaire retrouvé dans les HEs des feuilles est l'eucalyptol (1,8-cinéole) à 55,9%. Des taux variant de 23,7 à 80,9% ont été rapportés par Zrira *et al.* (1994) pour les espèces du genre *Eucalyptus*. Des valeurs plus importantes ont été obtenues par d'autres études, avec une teneur en cinéole au minimum 70%.

Les travaux de Chebli *et al.* (2003) Et de Vilela *et al.* (2009) ont montré que la pulégone et le 1,8-cinéole purs provoquent une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des

concentrations plus élevées que les huiles essentielles dans leur totalité ; ainsi l'activité de l'huile essentielle est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires.

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

# **Conclusion**

## Conclusion

La valorisation des huiles essentielles dans le domaine thérapeutique passe par une étape préliminaire de détermination de leur composition chimique (pour les caractériser, et pour mettre en évidence leur éventuelle spécificité), ainsi que par l'étude de leur propriété biologique ; afin de les utiliser comme agent antifongique qui permettraient de prévenir le phénomène de croissance mycélienne d'un champignon responsable de la détérioration des palmiers dattier.

Les HEs peuvent même être utilisées comme aromatisant grâce à leur propriété odorante, ainsi que un agent antifongique et antibactérien grâce à leur pouvoir antifongique et antibactérien, ce qui leur permet de remplacer les engrais, surtout que ces derniers sont la plupart d'origine chimique synthétique, et leurs conséquences sur le palmier dattier et la santé publique sont néfastes.

L'extraction des HEs des feuilles et du fruit d'*Eucalyptus globulus* a été réalisée par hydro distillation, qui donnant un rendement le plus élevé est celui des fruits (0,93%) suivi par huile des feuilles (0,43%).

L'évaluation in vitro du pouvoir antifongique des huiles essentielles a été réalisée par deux méthodes ; méthode de contact directe et méthode de micro-atmosphère. Les HEs de *E. globulus* vis-à-vis une seule souche fongique *Mauginiella scaettae*. Ce pouvoir est relativement élevé. Le résultat en a mis en évidence la sensibilité de germe étudié aux HEs de *E. globulus* à certaines doses.

Les résultats de méthode de micro-atmosphère ont clarifié une CMI de 100µl pour les deux types des huiles, pour la méthode de contact directe la CMI de l'HE des feuilles est 300µl tandis que une CMI de 200µl pour les fruits capable de faire l'inhibition de la croissance mycélienne. Une très forte sensibilité de *Mauginiella scaettae* pour les deux huiles étudiées a été observée, ou ont observé que l'huile du fruit est la plus efficace. Une autre remarque due à la méthode de micro-atmosphère est plus efficace à cause du caractère volatil des composants majeurs de l'huile. Donc on conclut que *Mauginiella scaettae* elle exhibe une sensibilité très intéressante à l'HE des fruits à une faible CMI 100µl exactement par la méthode de micro-atmosphère.

En fin, notre résultat indique que l'HE d'*E. globulus* est douée d'une activité antifongique contre les champignons responsables de l'altération des palmiers dattier qui empêche la prolifération des germes et réduit la croissance mycélienne.

A l'issue de la présente étude, il serait intéressant de compléter ce travail par :

- ❖ Une recherche sur l'activité fongistatique et fongicide des HEs
- ❖ Une étude semblable pour les HEs des fleurs d'*E. globulus* ;
- ❖ Ces résultats méritent d'être approfondis par des tests in vivo afin de développer un moyen de lutte biologique à base de substances naturelles contre les champignons causant la pourriture des inflorescences.

# **Bibliographie**

1. Abdullah S.K., L. Asensio., E. Monfort., S. Gomez-Vidal, J. Palma-Guerrero., J. Salinas., L. V. Lopez-Llorca., H.-B. Jansson and J. Guarro.2005. Occurrence in Elx, SE Spain of Inflorescence Rot Disease of Date Palms Caused by *Mauginiella scaetiae*, pp. 153, 417–422.
2. Abdelkader A.2008. Etude de l'évolution des infestations du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* Linné, 1793) par *parlatoria blanchardi*Targ . (Homoptera diospidae Targ .1892) dans quelques biotopes de la région de Touggourt : Entomologie Applique .Thèse de magistère, Institut National Agronomique, université El-Harrach, Algérie, 89p.
3. AFNOR.2000. Huiles essentielle. Echantillonnage et méthodes d'analyse monographique relatives aux huiles essentielle, (tome 2).
4. Akin M., Aktum A., Nostro A.2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. African Journal of Biotechnology, Vol. 9 (4), pp. 531 -535.
5. Anonyme.2018. (la station météorologique de Biskra 2018).
6. Auddy B., Ferreira M., Blasina F., Lafon L., Arredondo F., Dajas F., Tripathi P.C., Seal T., Mukherjee B.(2003). Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases .Journal of Ethnopharmacology, 84:pp. 131–138.
7. Barrow S.1998. A monograph of *Phoenix* L. (Palmae : *Coryphoideae*). *Kew bulletin*, 53: pp. 513-575.
8. Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ayadi A., Ihlal M.1984. Method to study antimicrobial effects of essential oils: Application to the antifungal activity of six Moroccan essences. Journal of Food Protection (1984), 47(10), 748-752.
9. Benjilal.B. ; Tantaoui-Elara. A. ; Ismaïli-Alaou. M. ; Avadi.A.(1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie1986, Tome XX, n° 2, pp. 155-167.
10. Benziouche S E et Cheriet F. 2012. Structure et contraintes de la filière dattes en Algérie. Revus NEW MEDIT, N° 4, pp. 49-57.
11. BEY –Ould si said Z.2014. Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* Thèse magister. Université de Bejaia, 90p.
12. Bessedik M, KHenfer B.2015. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L). Université Kasdi Merbah Ourgla, 51p.
13. Bhattacharya P., Jacks G., Ahmed K M., Routh J.2002. Arsenic in Groundwater of the Bengal Delta Plain Aquifers in Bangladesh, 69(4): pp. 538-45.
14. Bontton B., Breton A., Fever M., Gauthier S., Guy Ph, Larpennt J., Reymond P., Sanglier J., Vayssier Y., Veau.1990.Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 2 Ed. Masson. 426p.
15. Bruneton J.1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales Paris, Lavoisier. 623p.

16. Boukhatem M N., Hamaidi M S., Saidi F., Hakim Y.2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens L.*) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie), 3.p37.
17. Bounaga N., Djerbi M.1990. Pathologie du palmier dattier. In: Dollé V. (ed.), Toutain G. (Ed.). *Les systèmes agricoles oasiens*. Montpellier : CIHEAM, pp. 127-132.
18. Burt S.(2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 :pp. 223– 253.
19. Chabrolin CH.1930. Les maladies du Dattier (Suite et fin). In: *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 10<sup>e</sup> année, bulletin n°108, pp. 661-671.
20. Chala F., Sellami B.2019. Etat phytosanitaire des palmeraies de la région ouest de la willaya de Biskra. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider de Biskra. 19p.
21. Chebli B., Achori M., Idrissi hassani M.L., Hamamouchi M.2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr, *J. Ethnopharmacol*, volume 89, Issue 1November,pp .165-169.
22. Cimanga K., Apers S., Bruyne T D., Van Miert S.2002. Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils of Some Aromatic Medicinal Plants Growing in the Democratic Republic of Congo,14 (5):pp 382-387.
23. Damjanović-Vratnica B ., Tatjana D ., Danijela Š., Jovanka D.2011. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus Labill.* from Montenegro, Vol. 29, 2011, No. 3: pp. 277–284.
24. Daroui M H.2012. ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES ESPECES *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolum olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* ET *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse doctorat. U.B.M., ANNABA, 197p.
25. Djenane D., Lefsih K., Yanguela., Roncalés P.2011. Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidis CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à 7 ± 1 °C, 2011, 9 : pp. 343-353.
26. Djenane D., Yangüela J., Gómez D and Roncalés P. (2012). Perspectives on the use of essential oils as antimicrobials against campylobacter jejuni cect 7572 in retail chicken meats packaged in microaerobic atmosphere. *Journal of Food Safety*, pp. 1745-4565.
27. Djerbi M.1990. Méthodes de diagnostic du bayoud du palmier dattier (1990), 5 : pp. 1365-2338.
28. DJerbi M.1994. Précis de phoéniculture, FAO. 192 p.
29. Duraffourd C, Lapraz J-C.1997. Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. Edition Phyto.2000p.
30. Dubief.1963. Travaux de L'Institut de Recherches Sahariennes, Alger.
31. Fan J J., CHen J H.1999. Inhibition of aflatoxin-producing fungi by welsh onion extracts. *J. Food protection*, 62: pp. 414-417p.
32. Fandohan P., Joachim D. G., Benoit G., Kerstin H., Walter F. O. M., Michael J. W.2004. Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in corn. *J. Agric. Food Chem*, 2004, 52, pp. 6824-6829.
33. Feldman, M. 1976. Taxonomie classification and names of wild, culandmoderne cultivated wheats. *Evolution of plants*. Ed Longman, London, pp.120-128.

34. Foudil C Y.1991. Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus* Labill. Et *camaldulensis*. Thèse magister. U.S.T.H.B., Alger, 159p.
35. Ghomari F. 2009. Moyens de luttés chimique et biologique contre le *Fusarium Oxysporum f .sp .albedinis* Agent Causal du Bayoud Chez le palmier dattier *Phoenix dactylifera L* : phytopathologie, microbiologie appliquée. Thèse de magistère, Université D'oran Es-Senia, p131.
36. Govaerts R, Dransfield J.2009. World checklist of palms. Kew, Royal Botanic Gardens, 240 p.
37. Gutierrez J.; Barry-Ryan C.; Bourke P.(2008) The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. Journal of Food Microbiology, 124,pp . 91–97.
38. Henderson A.2009. *Palms of Southern Asia*. (Princeton Field Guides series) University Press. 65(1): pp. 127-128.
39. Juergens UR, Dethlesen U. 2003. Anti-inflammatory activity of a 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. Respire. Med, 97:pp. 250, 256.
40. Kehrl W, Sonnemann U. Dethlefsen U 2004. Therapy for acute nonpurulent with cineole rhinosinuitis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Laryngoscope, 114 (4): pp. 738-742.
41. Khalid EL M. 2013. Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Marrakech, 16p.
42. Laghchimi A ., Znini M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A.2014. Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme (Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida* essential oil on mycelial growth of fungi responsible for the rot of apple), 5(6), pp. 1770-1780.
43. Makhloufi A.2010. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens (Desf.)* et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, P 64, 65, 66, 67,74.
44. Mendes S., Simone Y., Fábio S M., Gustavo F., Francisco A., Marques., Tomoe N.2011. Essential Oils from Different Plant Parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a Source of 1,8-Cineole and Their Bioactivities, 4(12), pp. 1535-1550.
45. Metro A.2009. Les *eucalyptus* dans le monde méditerranéen Ed.masson et cie. Paris, p513.
46. Modeste Lambert Sameza., Marie Ampere Bedine Boat., Séverin Tchameni Nguemezi., Lile Christere Nguemnang Mabou., Pierre Michel Jazet Dongmo., Fabrice Fekam Boyom et Chantal Menut. 2004.
47. Moldao-Martins M., Gabriela Bernardo-Gil M., Luisa Beirao de Costa M.2002. Sensory and chemical evaluation of *Thymus zygis L.* essential oil and compressed CO2 extracts. *Eur Food Res Technol.*214, p. 207-211.

48. Mondello F., Antonietta G., Maria S., Maria L.2009. Determination of *Legionella pneumophila* susceptibility to *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil by an improved broth micro-dilution method under vapour controlled conditions. *Journal of Microbiological Methods*,77(2),pp. 243-248.
49. Munier P.1973. Note sur le palmier des Canaries, *Phoenix canariensis* Hort. (Chabaud). *Fruits*, 28 (7). 8. p. 559.
50. Nguyen H., Francesca V., Nader E., Manfred F.2007. *Drosophila* mind bomb2 is required for maintaining muscle integrity and survival. *J. Cell Biol*, 179(2): pp. 219-227.
51. Pal Singh H.,Kaur S.,Negi K.,Kumari S.,Saini V.,Batish R D.,Kumar Kohli R.(2012). Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemonscented *Eucalypt*; *Myrtaceae*) and its major constituents. *LWT - Food Science and Technology*, 48: pp. 23-241
52. Pattnaik., Subramanyam V., Chittaranjan K.1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86: pp. 237-246.
53. Pereira S.,Freire S.R.C., Neto P., Silvestre J. D., and Silva M.S.A. 2005. Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal. *Flavour and fragrance journal* flavour fragr. J, 20: pp. 407–409.
54. Peyron G. 2000. Guide illustré de formation: Cultiver le Palmier Dattier. Éd. CIRAD. Montpellier,109 p.
55. Pintaud J-C., Salwa Z., Thomas L P C., Barrow S.2010. Species Delimitation in the Genus *Phoenix* (Arecaceae) Based on SSR Markers, with Emphasis on the Identity of the Date Palm (*Phoenix dactylifera*) Tunisia. 28:pp. 1439-1454.
56. Raho B, Ghalem M , Benali M.2008. Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 2(10), pp. 211-215.
57. Remmal A.,\_Bouchikhi T., Rhayour kh., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A.1993. Improve method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *j.ess .oils res*, pp.179-184.
58. Satrani B., Farah A., Fechtal M.,Blaghen M., Chaouch A .2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha et Satureja alpina* du maroc. *ann. Fais. exp. Chim*, pp.241-250.
59. Schultz T.P. & D.D. Nicholas, 2000.- Naturally durable heartwood: evidence for the proposed dual defensive function of the extractives. *Phytochemistry*, 54, pp. 47-52.
60. Stefanakis M.K., Touloupakis E., Anastasopoulos E., Ghanotakis D., Katerinopoulos. H.E.,Makridis P.2013. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food Control*, 34: pp. 539-546.
61. Tesche S, Metternich F.2008. The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomized, controlled trial. *Arch. Otorhinolaryngo*, 1265 (11): pp. 1355-1359.
62. Toutah Dj.2007. Etude comparative de l'activité antifongique de trois huiles essentielles et d'un traitement antimycosique de synthèse vis-à-vis de quelques dermatophytes. Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou, 59p.

63. Touzi, A. (2007). Algerian experience in preserving fragile ecosystems from desertification, a paper presented at “Fifteenth OSCE Economic and Environmental Forum - Part 2: “Key challenges to ensure environmental security and sustainable development in the OSCE area: Land degradation, soil contamination and water management”, pp. 21 – 23.
64. Vilela G R., Gustavo S., Marisa A., Sebastião C., Sônia M., José O., Fátima D., Sebastião C., Sônia M., Maria A., Eduardo M G. 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare, *J. Stored Prod. Res.*, 45: pp. 108-111.
65. Zaitlin, B., Susan B W., Jeff R., Trevor S., Dennis P. 2003. Actinomycetes in Lake Ontario : Habitat and Geosmin and MIB Production. *Jour. AWWA*, 95: 2: 113p.
66. Zira S., Benjlali B., Fechtal M., Richard H. 1991. Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. *J. ess. oil res.*, 3: 117-119.
67. Zira S., Benjlali B., Fechtal M., Richard H. 1991. Essential Oils of Twenty-seven Eucalyptus Species Grown in Morocco. *Journal of Essential Oil Res.* 4: pp. 259-264.
68. Zira S., Benjlali B., Fechtal M., Richard H. 1992. Essential Oils of Twenty-seven Eucalyptus Species Grown in Morocco. *Journal of Essential Oil Res.* 4: pp. 259-264.
69. Zira S., El khiran F, Benjlal B. 1994. Huiles essentielles de six espèces xérophytes d'*Eucalyptus*: effet du milieu sur les rendements et la composition-chimique. *Actes Inst. Agron. Veto (Maroc)*, Vol. 14 (1): pp. 5-9.

# Annexe

Annexe n<sup>o</sup> 1 : la préparation de milieu de culture PDA

Nous l'avons préparé selon le protocole suivant :

- Faire cuire 200 g de pommes de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans 1L d'eau pendant 20 minutes.
- Filtrer le liquide avec une passoire dans une bouteille en verre et on ajoute 20 g de glucose et 17 g de l'agar agar et on complète jusqu'à 1L si nécessaire.
- on doit autoclave pendant 30 min à 110 °C.
- Dispenser 20 ml de milieu dans chaque boîtes de Pétri stériles, Une fois le milieu solidifié, les boîtes sont mises à l'étuve réglée à une température de 25°C .



**Figure.** Le milieu PDA

**Tableau 14.** La croissance mycélienne et le taux d'inhibition d'HE des fruits d'*Eucalyptus globuleux*

	Méthode de contact direct		Aromatogramme en micro atmosphère	
	Evaluation (cm) Après 10 jours	Taux d'inhibition (%)	Evaluation (cm) Après 10 jours	Taux d'inhibition (%)
<b>0 ( témoin )</b>	<b>2,175</b>	<b>/</b>	<b>1,85</b>	<b>/</b>
<b>100</b>	<b>0,105</b>	<b>64,47</b>	<b>0</b>	<b>88,10</b>
<b>200</b>	<b>-0,002</b>	<b>93,87</b>	<b>0</b>	<b>88,10</b>
<b>300</b>	<b>0,045</b>	<b>89,07</b>	<b>-0,005</b>	<b>93</b>

**Tableau 15.** la croissance mycélienne et le taux d'inhibition d'HE des feuilles d' *Eucalyptus globuleux*

	Méthode de contact direct		Aromatogramme en micro atmosphère	
	Evaluation (cm) Après 10 jours	Taux d'inhibition (%)	Evaluation (cm) Après 10 jours	Taux d'inhibition (%)
<b>0 ( témoin )</b>	<b>2,5</b>	<b>/</b>	<b>2,425</b>	<b>/</b>
<b>100</b>	<b>1,695</b>	<b>29,27</b>	<b>-0,026</b>	<b>91,65</b>
<b>200</b>	<b>0,723</b>	<b>76,55</b>	<b>0</b>	<b>78,45</b>
<b>300</b>	<b>0</b>	<b>93,90</b>	<b>0</b>	<b>84,38</b>

# ملخص

لغرض البحث عن وسائل المكافحة البيولوجية للفطر المسؤول عن تعفن شمرايح نخيل التمر. تم استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي بجهاز من نوع (Clevenger 1928) ، مما سمح لنا بالحصول على المرودود (0.93%) لثمار الكاليتوس ، يليه مرودود زيت الأوراق المقدر ب 0.43%. تمت دراسة القوة المضادة للفطريات لهذه الزيوت مقابل فطر *Mauginiells scaettae* من خلال تقنيات الغلاف الجوي الدقيق و الاتصال المباشر. ثم يتم تقديرها من خلال تحديد معدل تثبيط نمو الفطريات المختبرة. في الواقع، تتميز طريقة الغلاف الجوي الدقيقة بأقوى الإمكانيات المضادة للفطريات مع تركيز مثبط أدنى قدره 100 ميكرو لتر / مل للزيتين الأساسيين للكاليتوس. وأظهر الزيت العطري للثمار تأثيراً جيداً مضاداً للفطريات حيث أظهر أقل تركيز مثبط يبدأ من 200 ميكرو لتر / مل ، ثم زيت الأوراق عند 300 ميكرو لتر / مل.

الكلمات المفتاحية : كاليتوس، زيت أساسي، المكافحة الحيوية، التعفن الفطري لأزهار نخيل التمر. *Mauginiells scaettae*.

# Résumé

Pour le but de recherche des moyens de lutte biologique contre le champignon responsable de la pourriture d'inflorescence du palmier dattier. L'extraction a été réalisé par hydro distillation avec un appareil de type Clevenger (1928), nous a permis d'obtenir un rendement, dont le plus élevé est celui des fruits d'*Eucalyptus globulus* (0,93%) suivi par huile des feuilles (0,43%). Le pouvoir antifongique de ces huiles a été étudié vis-à-vis de *Mauginiells scaettae* par les techniques de micro atmosphère et de contact directe. Puis, il est estimé par la détermination du taux d'inhibition de la croissance de champignon testé. En effet, la méthode de micro atmosphère est le plus fort potentiel antifongique avec une concentration minimale inhibitrice de 100 µl / ml pour les deux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*. L'huile essentielle des fruits a révèlé un bon effet antifongique par ce qu'elle a montré une concentration minimale inhibitrice à partir de 200 µl / ml, puis l'huile des feuilles à 300 µl / ml.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, Activité antifongique, inflorescence du palmier dattier, *Mauginiells scaettae*.

# Abstract

For the purpose of researching means of biological control against the fungus responsible for the inflorescence rot of the date palm. The extraction of essentials oils was carried out by hydro distillation with a Clevenger type apparatus (1928), allowed us to obtain a yield, the highest of which is that of the fruits of *Eucalyptus globulus* (0.93%) followed by oil of leaves (0.43%). The antifungal power of these oils has been studied vis-à-vis *Mauginiells scaettae* by micro atmosphere and direct contact techniques. Then, it is estimated by determining the rate of inhibition of the growth of the tested fungus. Indeed, the micro atmosphere method has the strongest antifungal potential with a minimum inhibitory concentration of 100 µl / ml for the two essential oils of *Eucalyptus globulus*. The essential oil of the fruits revealed a good antifungal effect in that it showed a minimum inhibitory concentration from 200 µl / ml, then the leaf oil at 300 µl / ml.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, essential oil, Antifungal activity, date palm inflorescence, *Mauginiells scaettae*.