

#### REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

#### **UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEN**

#### Mémoire

#### Présentée à :

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de L'Univers Département de biologie

Pour l'obtention du diplôme de :

#### **MASTER**

Spécialité: Toxicologie Industrielle et Environnemental

Par:

## HACHEMI Fatima-Zohra BOUCHENAK KHELLADI Faliha-Sanaa

Sur le thème

## Les huiles essentielles et hydrolats sur la conservation des poires et évaluation Biotoxicologique

Soutenue publiquement le 4 Juillet 2019 à Tlemcen devant le jury composé de:

Présidente	M <sup>me</sup> HADDAM Nahida	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	M <sup>me</sup> TABET ZATLA Amina	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	M <sup>me</sup> MAJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen
Invitée	M <sup>me</sup> ZAOUI Manel	MCA	Université de Quargla

#### Remerciements

Tout d'abord nous remercions dieu pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce travail.

Nos remerciements les plus profonds vont à notre encadreur Madame

\*\*TABET ZATLA Amina\*\* Maître de conférences au Département de

Chimie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de nous avoir

conseillé, encouragé et de nous avoir permis de travailler dans un cadre

très agréable.

Nous tenons à remercier très sincèrement Madame **HADDAM Nahida**Maître de conférences au Département de Biologie, Université Abou
Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir assuré notre formation et accepter de nous faire l'honneur de présider le jury.

Un grand et respectueux remerciement à Madame MAJDOUB Houria et Madame ZAOUI Manel. De nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à nos familles pour leur soutien et leur patience durant ce travail.

Toutes nos salutations à nos collègues de la promotion de Master 2 Option: Toxicologie Industrielle et Environnementale.

Enfin nos remerciements s'adressent à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

#### **Dédicace**

Avec un grand plaisir je dédie ce mémoire à:

A mes chers parents qui m'ont tant soutenu et réservé toute leur attention

A mes sœurs Chahinez et Hidayet pour leur soutien moral et leur amour

A toute ma famille A tous mes amis et collègues

BOUCHENAK KHELLADI Faliha-Sanaa

#### **Dédicace**

Je dédie ce travail

A ma chère **mère**, qui était à tout moment à mes côtés pour m'encourager, pour ses prières et son soutien infaillible tout au long de ces années.

A mes sœurs Faiza, Sabah, Aicha et avant tout Leila.

A mes frères Amine et Mohamed.

A tous qui me sont chers.

HACHEMI Fatima-Zohra

#### Sommaire

KEI	/IEKCIE	EMENTS	l
DEC	DICACE		II
LIST	F DFS	ABREVIATIONS	VII
		FIGURES	
		TABLEAUX	
LIST	E DES	HISTOGRAMMES	IX
INT	RODU	CTION	1
CH/	APITRE	1: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1.		FAMILLE DES ASTERACEES	
_		GENERALITES	
_		CLASSIFICATION TAXONOMIQUE	
		DESCRIPTION BOTANIQUE	
2.	PRE	SENTATION DES PLANTES ETUDIEES	6
2	2.1 A	ANACYCLUS VALENTINUS	
	2.1.		
	2.1.2		
	2.1.	3 Description morphologique de la plante:	6
	2.1.4	-11-7	
	2.1.	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
2	2.2 C	Carthamus caeruleus	
	2.2.	•	
	2.2.2	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	
	2.2.	, , , ,	
	2.2.4	- F	
	2.2.		
2		Chrysanthemum coronarium	
	2.3.		
	2.3.2		
	2.3.		
	2.3.4	-1 55 -11	
	2.3.		
	2.3.0	6 Utilisation traditionnelle	10
3.	LES	HUILES ESSENTIELLES	11
3	3.1 D	DEFINITION	11
		PROPRIETES PHYSIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	
3		PROPRIETE CHIMIQUE	
	3.3.		
	3	3.3.1.1 Monoterpènes	
		3.3.1.2 Sesquiterpènes	
	3.3.2	2 Composés aromatiques	12
3	3.4 A	ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	12
3	3.5 R	ROLE DES HUILES ESSENTIELLES	12
3	3.6 T	OXICITE DES HUILES ESSENTIELLES	13
	3.6.	1	
	_	3.6.1.1 L'ingestion	
		3.6.1.2 Cutané	
	3	3.6.1.3 Inhalation	14

4.	H	IYDROLATS		14
	4.1	DEFINITION		14
	4.2	COMPOSITION DES HYDROLATS		14
	4.3	UTILISATION		15
	4.4	ACTIVITES ANTIFONGIQUE		16
5.	V	/ALORISATION DES HUILES ESSENTIELLE	S ET DES HYDROLATS	16
	5.1	LE POIRIER		17
	5.2	RECOLTE ET CONSERVATION DES POIRES		17
	5.	5.2.1 Maladie de conservation		17
	5.	5.2.2 Les maladies des poiriers		20
	5.	5.2.3 Insectes ravageurs des poiriers		21
6.	н	HUILES ESSENTIELLES COMME UN MOYE	N DE LUTTE CONTRE LES MALADIES DE FRUITS DES POIRIERS 2	21
CH	IAPITI	FRE 2: MATERIEL ET METHODES		23
1.	М	//ATERIEL		23
	1.1	PROVENANCE DI I MATERIEI VEGETAL ET IDENT	IFICATION DES TROIS PLANTES	23
	1.2			
	1.3			
2.	E	EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES I	T DES HYDROLATS2	23
	2.1	EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	2	24
	2.2			
	2.3			
3.	LE	ES METHODES D'IDENTIFICATION DES F	IUILES ESSENTIELLES2	25
	3.1	ANALYSE PAR CPG/FID		25
	3.2			
	3.3			
4.	CA	CALCUL DU RENDEMENT		26
5.	A	ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES L'HUILES ES	SENTIELLES DU CHRYSANTHEMUM CORONARIUM, ANACYCLUS	
V/			UR HYDROLATS SUR LES FRUITS DU POIRIER	
	5.1	-	2	
	5.2	ACTIVITE ANTIFONGIQUE IN VIVO:		28
CH	IAPITI	FRE 3: RESULTATS ET DISCUSSIONS		30
1.			SSENTIELLES DE CHRYSANTHEMUMCORONARIUM ET	
		•		31
	1.1	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTII	ELLES DE ANACYCLUS VALENTINUS	31
	1.2		ELLES DE CHRYSANTHEMUM CORONARIUM	
2.	A	ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES HUILES ES	SENTIELLES ET DES HYDROLATS	36
	2.1	EFFET DES HUILES ESSENTIELLES ET DES HYDRO	LATS SUR L'INHIBITION DE LA CROISSANCE FONGIQUES	36
	2.	2.1.1 Effet des huiles essentielles de A	nacyclus valentinus et Chrysanthemum coronarium 3	36
	2.	2.1.2 Effet des hydrolats de Anacyclus 37	valentinus, Chrysanthemum coronarium, Carthamus caeruleus	
	2.	_		37
	2.2	, -		
	2.		réventif)	
			entielle de Anacyclus valentinus	
			entielle de <i>Chrysanthemum coronarium</i> e des huiles essentiellesde <i>Anacyclus valentinus</i> et <i>Chrysanthemum</i>	44
		coronarium 48	. des manes essentienesde Andeyelus valendillus et emysanthemam	

2.2.1.5	Hydrolat du Chrysanthemum coronarium	52
2.2.1.6	Hydrolat du Carthamus caeruleus	
2.2.1.7	Hydrolat de Anacyclus valentinus	
2.2.1.8	Le mélange des hydrolats de Anacyclus et Chrysanthemum	62
2.2.1.9	Poires contaminées par Penicillium expansum (effet protecteur)	65
2.2.1.10	Les témoins	65
2.2.1.11	Poires traitées par l'huile essentiellede Anacyclus de valentinus	67
2.2.1.12	Poires traitées par l'huile essentielle de Chrysanthemum coronarium	69
2.2.1.13	Poires traitées par le mélange des huiles essentielles de <i>Anacyclus de valence</i> et <i>Chrysanthemum</i>	
coronarium		
2.2.1.14	Hydrolat du Chrysanthemum coronarium	74
2.2.1.15	Hydrolat du Carthamus caeruleus	77
2.2.1.16	Hydrolat de Anacyclus valentinus	80
2.2.1.17	Mélange des hydrolats de <i>Anacyclus</i> et <i>Chrysanthemum</i>	83
CONCLUSION GENE	RALE	87
REFERENCES BIBLIO	GRAPHIQUES	90

#### Liste des abréviations

- CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse.
- SM : Spectrométrie de Masse.
- CPG/SM: Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.
- RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.
- H.E: Huile Essentielle.
- **H.Y**: **H**ydrolat.
- **H.D:** Hydrodistillation.
- IR: Indice de Rétention.
- **Rd**t: **R**endement.
- FID: Flamme Ionisation Detector.
- PDA: Potato Dextrose Agar.

### Liste des figures

Figure 1 : Types des fleurs des Astéracée	5
Figure 2 : Anacyclus valentinus	6
Figure 3 : Carthamus caeruleus	7
Figure 4 : Chrysanthemum coronarium	9
Figure 5 : Poire infectée par Alternariatenuis	18
Figure 6: Poire infectée par Botrytis cinerea.	18
Figure 7: Le thalle de Penicillium expansum	19
Figure 8 : Poire infectée par Penicillium expansum.	20
Figure 9 : Montage d' hydrodistillation	24
Figure 10: Souche fongique de Penicillium expansum	28
Figure 11 : Les conidies de Penicillium expansum	28

#### Liste des tableaux

Tableau II: Composition chimique de l'huile essentielle de Chrysanthemum coronarium 3:	5
Liste des histogrammes	
Histogramme I: Poires non contaminées	3
Histogramme II: Poires contaminées par Penicillium expansum	3

#### ملخص:

يهدف عملنا إلى تعزيز الزيوت الأساسية والمستخلصات المائية لنباتات العطرية للعائلة Asteraceae: قرطوفة، مرارة او رضيمة، كنجار او قرقاع التي تستخدم على نطاق واسع من قبل السكان ومصدر للمكونات جديدة و نشطة. الهدف من هذه المذكرة هو إظهار أهمية هده النباتات من خلال تقييم قوتها المضادة للفطريات على فاكهة الأجاص. الزيوت الأساسية و المستخلصات المائية تمنع نمو السلالات الفطرية مثل: Penicillium expansum. وفقًا لنتائج الاختبارات التي أجريت في الجسم الحي، أظهرت زيوتها ومستخلصاتها المائية نشاطًا مضادًا للفطريات في مكافحة أمراض الأجاص.

الكلمات المفتاحية: قرطوفة،قرطوم ، مرارة او رضيمة، كنجار او قرقاع، الزيوت العطرية ، المستخلصات المائية ، الأنشطة المضادة لفطربات.

#### Résumé:

Notre travail a pour but la valorisation des huiles essentielles et des hydrolats des plantes aromatiques de la famille Astéracées: *Anacyclus valentinus*, *Chrysanthemum coronarium*, *Carthamus caeruleus* qui sont largement utilisées par les populations et qui sont aussi une source de nouveaux composants actifs.

L'objectif de ce travail est de valoriser ses plantes par l'évaluation de leur pouvoir antifongique *in vivo* sur les poires.

Les huiles essentielles et les hydrolats inhibent la croissance des souches fongiques telles que *Penicillium expansum*. Selon les résultats des tests *in vivo*, ses huiles et hydrolats ont montré une activité antifongique très intéressante contre les maladies fongique contaminant les poires.

**Mots clés:** *Anacyclus valentinus*, *Chrysanthemum coronarium*, *Carthamus caeruleus*, huiles essentielles, hydrolats, activités antifongiques, poires.

#### Abstract:

Our work aims to promote the essential oils and hydrosols of aromatic plants of the family Asteraceae: *Anacyclus valentinus*, *Chrysanthemum coronarium*, *Carthamus caeruleus* which are widely used by the populations and are source of new active components.

The objective of this work is to show the importance of its plants by evaluating their antifungal activity power on pears.

Essential oils and hydrosols inhibit the growth of fungal strains such as *Pennicillium expansum*. According to the results of the *in vivo* tests, its oils and hydrosols have shown very interest antifungal activity against pear diseases.

**Key words:** *Anacyclus valentinus; Chrysanthemum coronarium; Carthamus caeruleus*; essential oils; hydrosols; antifungal activities; pears.

## Introduction

#### Introduction

Les pourritures des fruits au cours du stockage entraînent des pertes financières importantes dans de nombreux pays [1]. *Penicillium expansum* été observée comme agent responsable de la pourriture des poires aussi bien au verger qu'en conservation [2-4] et cause une pourriture beige ou bleue verte. Le contrôle de ces agents fongique est basé essentiellement sur l'usage répété des fongicides. Toutefois, malgré une intense protection phytosanitaire, ces moisissures continuent à infliger des pertes parfois importantes des poires comme des pommes en conservation.

Les produits chimiques synthétiques sont connus pour leurs propriétés cancérigènes. L'application excessive des fongicides de synthèse a été averti suite à leur toxicité et de pollution résiduelle qui en découlent. De même, l'inefficacité de la chimiothérapie peut être attribuée à l'apparition de souches résistantes au sein des populations de ces pathogènes. Pour cela, la lutte contre les microorganismes est orientée vers l'utilisation des méthodes biologiques.

Cependant, énormément de recherches ont été effectuées sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles notamment contre différentes espèces fongiques [5,6].

Pour les fruits, différentes technologies ont été utilisées dans le but de réduire l'accélération de processus de la maturation et minimiser les détériorations microbiennes après récolte, telle que l'application des rayonnements UV contre les moisissures, l'utilisation des polyamines exogènes afin de concurrencer l'éthylène, modifier l'atmosphère des lieux d'entreposage, etc. Mais il semble que ces technologies ne sont pas suffisamment efficaces.

Actuellement, les huiles essentielles représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants sont considérées comme alternative importante pour résoudre le problème d'altération post-récolte liée aux moisissures et d'éviter la perte en qualité et en quantité des fruits pendant l'entreposage [7].

Les hydrolats appelés aussi eau florale est un sous-produit issu de la distillation (hydrodistillation ou entrainement à la vapeur) des plantes aromatiques lors de l'extraction des huiles essentielles. Ses hydrolats possèdent des composés volatils en petite quantité ressemblant à ceux présents dans les huiles essentielles et des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans les huiles. Les industries pharmaceutiques de même que les industries cosmétiques utilisent certains hydrolats pour la préparation de leurs produits phytothérapeutiques afin d'objectiver leur potentiel de conservateur.

Aujourd'hui, dans le domaine de l'emballage des fruits, la recherche porte sur l'utilisation de ces composés volatils comme un moyen de base dans les emballages actifs capables de libérer lentement ces substances actives dans l'espace libre avec le temps [7].

#### Introduction

En Algérie, la flore compte 3000 espèces appartenant à la différente famille botanique [8]. Plus précisément les monts de Tlemcen connue par leur diversité végétale présentent un bon exemple d'étude.

Ce mémoire vise à tester l'activité antifongique *in vivo* des huiles essentielles et des hydrolats extraites à partir de deux plantes appartenant à la famille des Astéracées, très connues en Algérie (*Anacyclus valentinus, Chrysanthemum coronarium*) et provenant de la région de Tlemcen, contre une souche fongique appartenant aux principaux genres de moisissures causant l'altération des denrées alimentaires notamment les fruits de poires (*Pénicillium expansum*), tester aussi l'effet synergique de ces huiles essentielles et hydrolats, et de dévoiler leurs composition chimique.

Ce mémoire est structuré selon trois chapitres:

Le premier chapitre traite du contexte bibliographique consacré aux huiles essentielles (HEs), et des hydrolats (HYs) des trois plantes étudiées, en plus de leurs activités biologiques, et aux différentes maladies fongiques des fruits des poires.

Le second chapitre prend en compte le matériel et les approches méthodologiques retenus dans notre travail.

Enfin, **le dernier chapitre** expose les résultats auxquels nous sommes parvenus. Ce chapitre est suivi d'une conclusion générale portant sur les principaux points relatifs aux résultats obtenus et des perspectives.

# Chapitre 1: Synthèse bibliographique

#### 1. La famille des Astéracées

#### 1.1 Généralités

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur [8]. La famille Astéracées (ou composées) est l'une des familles les plus importantes et les plus répandues dans le règne végétal en général et dans la classe des dicotylédones en particulier. Elle comprend plus de 13 tribus, 1000 à 1300 genres environ et entre 20000 et 25000 espèces [9]. Ce qui représente environ 8 à 10% de toutes les plantes à fleurs [8].

Les genres les plus importants du point de vue nombre d'espèces sont: *Senecio* (1500 espèces), *Vernonia* (1000 espèces), *Cousinia* (600 espèces) et *Centaurea* (600 espèces).

Cette famille est économiquement importante, en fournissant:

- Graines oléagineuses (tournesol, carthame),
- Légumes racines (chicorée, salsifis, scorsonère, topinambour),
- Légumes feuilles (laitues, pissenlits, chicorées),
- Réceptacles floraux (artichauts),
- Aromates (estragon),
- Insecticides (pyréthrines),
- Edulcorant (stévioside) [12].
- Des plantes alimentaire (laitues, endives, artichauts...),
- Des plantes utilisées en thérapeutique et en cosmétologie (armoise, arnica, camomille...).
- Horticulture (chrysanthème, souci, marguerite, etc...)

En Algérie, il existe 111 genres et 638 espèces. Les plantes de la famille Astéracées poussant généralement dans les régions tempérées sont le plus souvent herbacées annuelles ou bisannuelles; des herbacées vivaces, rhizomateuses, tubéreuses ou à racine pivotante; des sous arbrisseaux et des arbustes, à feuillages persistants ou caducs. En revanche, les grands arbres, les plantes épiphytes et les plantes aquatiques sont rares.

Les Astéracées sont présentes sur une grande partie du globe; elles sont absentes des régions antarctiques et rares dans les forets tropicales humides. Ces plantes sont bien représentées dans les régions arctiques, montagneuses et alpines. Elles sont particulièrement nombreuses dans les zones méditerranéennes (Nord de l'Afrique, Asie mineure, Mexique, province du Cap), ainsi que dans les brousses, bois et prairies d'Amérique du sud et d'Australie [10-12].

#### 1.2 Classification taxonomique

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta (Plantes vasculaires)

Embranchement: Phanerogamae (Phanérogames)

Sous-embranchement: Magnoliophytina (Angiospermes)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledones)

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Asterales

Famille: Astéracées (Compositae)

#### 1.3 Description botanique

Les Astéracées sont caractérisées par une inflorescence en capitule c'est-à dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige ou entourées d'une structure formée par des bractées florales, mimant l'aspect d'une fleur unique) [10-12].

Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelé un involucre [13].

La fleur des Astéracées est très particulière: les étamines sont soudées par leurs anthères déhiscentes vers l'intérieur. Sous les stigmates sont situées des "brosses à pollen". Ceci est adapté à un mode de pollinisation «à piston».

La croissance rapide du style permet un brossage du pollen et sa récupération. Une fois que le stigmate a traversé le tube formé par les anthères, les stigmates se déplient et exposent leur face gluante au pollen. Il faut considérer qu'à ce moment-là, du nectar est sécrété.

L'inflorescence est ordinairement un compact de fleurs sessiles tubulées et/ou ligulées soustendu par un involucre de bractées disposées sur un ou plusieurs rangs (**Figure 1**)

Les bractées peuvent être herbacées, scarieuses ou épineuses. Sur le réceptacle, les bractéoles, si elles sont présentes, peuvent prendre la forme d'écailles, de soies ou de paillettes. Le capitule est entouré à la base généralement par 1 à 6 séries de bractées dont l'ensemble forme l'involucre. Les fruits sont des achaines et contenant chacun une seule graine. L'ornementation joue un rôle important dans la reconnaissance des genres et espèces. Les caractères du fruit sont généralement identiques pour les diverses espèces du même genre [14].

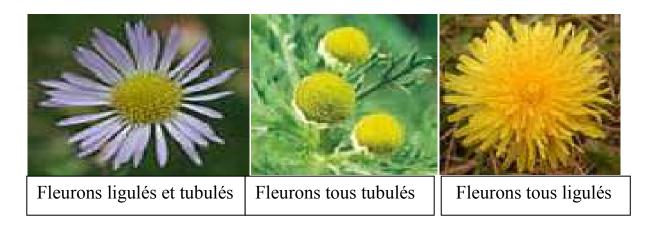


Figure 1: Types des fleurs des Astéracée

#### 1.4 Utilisation intérêt commercial, nutritionnel et pharmacologique

*L'arnica montana* est une plante vivace. Elle est décrite dans des pharmacopées européennes pour son usage dans le traitement de petits traumatismes comme les hématomes.

Cette plante est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à soulager la douleur et/ou l'inflammation des muscles et des articulations (entorses, ecchymoses, douleur articulaire) [15,16].

Les Astéracées fournissent également des insecticides: *Chrysanthemum cinerariaefolium* (L.) est une plante herbacée, cette espèce donne des fleurs qui contiennent des pyréthrines non toxique pour les animaux à sang chaud, mais très toxique pour ceux à sang froid [17].

Le guayule (*Parthenium argentatum*), seconde source de caoutchouc naturel, pourrait reprendre une place économique importante. Grace à la sélection variétale et à la stimulation de la production du caoutchouc dans la plante, les rendements à l'hectare vont approcher ceux de l'hévéa. Les procédés d'extraction du caoutchouc ont été améliorés récemment et donnent un caoutchouc identique à celui de l'hévéa [18].

Plusieurs espèces du genre *Artemisia* ont largement été utilisées en médecine traditionnelle et dans la préparation de liqueurs comme l'absinthe et le génépi [19].

#### 2. Présentation des plantes étudiées

#### 2.1 Anacyclus valentinus

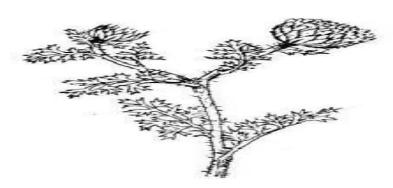


Figure 2: Anacyclus valentinus

#### 2.1.1 Classification taxonomique

Règne: Plantae

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Gamopetales

Ordre: Asterales

Famille: Astéracées

Genre: Anacyclus

Espèce: Anacyclus valentinus [20].

#### 2.1.2 Présentation de la plante et répartition géographique

Anacyclus valentinus est connu sous différentes dénomination en fonction de sa localisation

- France: Anacycle de valence

- Italie: Camomilla de valencia

-Espagne: Manzanilla corda [21].

- Algérie: Guertoufa [22].

L'Anacycle de valence est largement répandue dans le bassin méditerranéen, et sur les bords des chemins dans les Pyrénées [23].

#### 2.1.3 Description morphologique de la plante

Cette plante est caractérisée par la présence d'ailes aplaties entourant les feuilles faisant penser à des paires d'oreilles, elle comporte une tige dressée, des feuilles bipennatiséquées à lobes étroits, des fleurs jaunâtres très courtes, et une hauteur de 40 cm de hauteur.

Ce genre de Anacycles possède des espèces dont les capitules sont composés de fleurs externes ligulés et de fleurs internes tubulées.

On la trouve tout au long de l'année et sa floraison est entre Avril et Juin [24,25].

#### 2.1.4 Aspect phytochimique

Les investigations chimiques de la plante *Anacyclus valentinus* ont montrée la présence de plusieurs types de métabolites secondaires tels que tri terpènes, les stéroïdes, les coumarines, les lignines [25].

#### 2.1.5 Aspect pharmacologiques

Utilisation de *Anacyclus valentinus* est décrite dans les pharmacopées de nombreux pays du monde.

Chez les autochtones; elle est utilisée pour soulager les maux d'estomac, elle est aussi appliqué dans les préparations culinaires [24], la plante a la capacité de solubiliser le cholestérol ce qui lui a conférer un pouvoir antidiabétique [26].

#### 2.2 Carthamus caeruleus



Figure 3: Carthamus caeruleus

#### 2.2.1 Présentation de la plante

Carthamus caeruleus ou cardoncelle bleu est une plante à fleur qui a des rapports avec les chardons, vivace de 0,2 à 0,6 m de sa hauteur, sa tige est dressé et velue, ses fleurs sont bleues à corolles tubuleuse, ses feuilles glabres fortement dentées et piqueuses, sa floraison entre Avril et Juillet [27,28].

La cardoncelle bleue est une sorte de beau et rare chardon,

• Nom arabe: Gergaa, kendjar [8].

#### 2.2.2 Classification taxonomique

Règne: Plante

Embranchement: Cynarées

Sous embranchement: Centaureine

Famille: Astéracées

Sous famille: Carduoidées

Genre: Carthamus

Espèce: Carthamus caeruleus [8]

#### 2.2.3 Répartition géographique

Carthamus caeruleus est présente en Asie, en Afrique du nord, en Australie, en Amérique ainsi qu'en Europe [29]. En Algérie, retrouvé en particulier dans le Tell oranais et dans les piémonts.

#### 2.2.4 Aspect phytochimique

L'étude phytochimique de la plante a révélé la présence de plusieurs composées bioactifs tels que le carthamine, le carthamone, le décanal qui ont été rapportées pour plusieurs activités pharmacologiques [30].

#### 2.2.5 Utilisation traditionnelle

La plante très utilisée en Kabylie pour le traitement des brulures cutanées en crème préparé à partir des rhizomes qui sont lavés et épluchés ensuite bouillit dans l'eau.

Ses racines sont appliqués sous forme de poudre ou de crème préparé avec du lait pour traiter les maladies de la peau, les inflammations articulaires et comme un cicatrisant [30].

#### 2.3 Chrysanthemum coronarium



Figure 4: Chrysanthemum coronarium

#### 2.3.1 Présentation de la plante

C'est une plante comestible (feuilles et fleurs), mellifère, gélive, annuelle ornementale, glabre, de 30 à 60 cm [8], [31].

• Exposition: soleil à mi-ombre

• Semis: de mars sous abri à mai et l'été en pleine terre

• Plantation: printemps

• Floraison: Février jusqu'à le mois de Juin [32].

• Enracinement: racines

• Zone de culture: 5 à 10

• Feuillage: caduc

• Port: touffe et tige érigée

Il forme de belles touffes vigoureuses à feuilles découpées, variables, très aromatiques et riches en vitamines se consomment crues en salades ou même cuites. Il est très facile à cultiver [8]. Chrysanthemum coronarium, a été transféré dans le genre Glebionis, créé en 1826 par Alexandre de Cassini, devenu Glebioniscoronaria, mais ce nom générique a été récemment revenu en utilisation après la conservation de Chrysanthemum [33].

Il existe deux variétés de l'espèce *Chrysanthemum coronarium*: la différence entre eux est que la variété *coronarium* est caractérisée par des fleurs uniformément jaunes [34], et la variété *discolorée* par des fleurs périphériques à ligules blanchâtres à base jaune [35].

#### 2.3.2 Classification taxonomique

• Règne: Plantae

• Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

• Sous-classe: Asteridae

• Ordre: Asterales

• Famille: Astéracées

• Genre: *Chrysanthemum* 

• Espèce: Chrysanthemum coronarium [8]

#### 2.3.3 Noms vernaculaire

• En Français: marguerite jaune, fleur dorée, chrysanthème à couronne, Chrysanthème des jardins.

• En Allemand: kronenwucherblume, Gold blume, Gartenchrysanth.

• En Flamand: Gekroonde Ganzebloem

• En Italien: Fior d'oro, Matricalegiallo, Bambegelle.

• En Anglais: Golden chrysanthemum, Crown-daisy [12].

• En Arabe: Mourara ou Rezaïma [8].

#### 2.3.4 Répartition géographique

On la trouve en France, en Europe méridionale.

Hors d'Europe: Chypre, Asie Mineure, Nord de l'Afrique depuis l'Egypte jusqu'aux iles des Açores, Madère et Canaries [31].

#### 2.3.5 Aspect phytochimique

**Principe actif:** Huile essentielle, flavonoïdes (apigénine,...), alcaloïdes (stachydrine), choline, bétaine, lactones, vitamineB<sub>1</sub>, substance antibiotique [9].

#### 2.3.6 Utilisation traditionnelle

Chrysanthemum coronarium est fréquemment utilisée dans l'industrie alimentaire dans les pays asiatiques, comme le Japon et la Chine, comme antioxydant, antibactérien et additif alimentaire antifongique [36]. En Jordanie, les fleurs de la plante sont utilisées comme pansements pour les maladies dermiques et comme vermifuge [37]. Cette plante est indiquée pour abaisser la tension comme un hypotenseur.

➤ On l'utilise en infusion: verser un litre d'eau bouillante dans un récipient contenant 40grs de feuilles séchées laissé reposer 20 à 30mn et filtrer, prendre 2 à 3 tasses par jour avant les repas [9].

La plante est émolliente; les fleurs ont été employées contre l'ictère [31].

#### 3. Les huiles essentielles

#### 3.1 Définition

Les huiles essentielles ou essences sont des produits volatils, huileux, de composition généralement assez complexe d'odeur et de saveur fortes, extraite à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques par les méthodes de distillation, par enfleurage par expression, par solvant ou par d'autres méthodes [29].

#### 3.2 Propriétés physique des huiles essentielles

La majorité des huiles essentielles ont une densité inferieur à celle de l'eau et sont entrainable à la vapeur de l'eau. Elles sont douées de pouvoir rotatoires et présente un indice de rétractation souvent élevée [38-40].

La lumière provoquent leur oxydation et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps leurs odeurs se modifient [39].

A température ambiante les HEs s'évaporent et se volatilisent, elles sont très peu soluble dans l'eau, soluble dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques [39,42].

#### 3.3 Propriété chimique

Les constituants des huiles essentielles appartiennent exclusivement à deux groupes distincts: les terpènes (mono et sesquiterpènes) et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [41].

#### 3.3.1 Composés terpéniques

Etant très répandus dans le règne végétal, les terpènes sont prépondérants dans la plupart des Essences. Ils sont formés par des unités d'isoprène qui est à son tour formé par la combinaison de cinq atomes de carbone. Ayant un faible poids moléculaire, les terpènes présents dans les huiles essentielles leur confèrent un caractère volatil et des propriétés olfactives. Ils sont classés selon leur fonction (alcools, aldéhydes, cétones, esters, cétoneoxydes) et leur structure linéaire ou cyclique [42].

#### 3.3.1.1 Monoterpènes

Ce sont les plus simples constituants des terpènes, formant 90% des HEs et comportant deux unités d'isoprène. Selon le mode de couplage des unités, ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques [42].

#### 3.3.1.2 Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes résultent de l'assemblage de trois unités d'isoprène ( $C_{15}H_{22}$ ), mais leurs structures et leurs fonctions restent similaires à celle des monoterpènes. Ils constituent la classe la plus diversifiée des terpènes avec des structures acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques. En général, ces composés sont sous forme d'hydrocarbures ou hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature [42].

#### C. Diterpènes

Ils sont composés de quatre unités d'isoprène et contiennent donc 20 atomes de carbone dans leurs squelettes de base [43].

#### 3.3.2 Composés aromatiques

Moins fréquents que les terpènes, les composés aromatiques dérivés du phénylpropane constituent une autre classe des substances volatiles présentes dans les HEs. Cette classe comporte des composés odorants connus (la vanilline, l'eugénol, l'anéthole et l'estragole) [41].

#### 3.4 Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées dans divers domaine:

Les agriculteurs utilisent les HEs comme agent de protection contre le microorganisme envahissant les denrées alimentaire [44].

Divers industries utilisent les huiles essentielles pour la fabrication des produits cosmétiques des adhésifs (colle; scotch) aussi pour aromatiser certains produits. (Gâteaux, chewing-gum ....) [42].

En phytothérapie, elles ont un pouvoir thérapeutique par leur efficacité contre les agents infectieux.

#### 3.5 Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles contenant dans la plante possèdent plusieurs fonctions et parmi eux, les HEs sont des résidus du processus du métabolisme de la plante.

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps pour la protection de la plante par leur propriété antibactérienne, antifongique, insecticide et antivirale.

C'est un moyen de protection de la plante contre le microorganisme (insectes, herbivores ...) qui les empêche de s'approcher par leurs odeurs qui est très forte.

Les HEs possèdent une activité antioxydante pour prévenir contre le stress phytoxydatif qui détruit la plante [45].

#### 3.6 Toxicité des huiles essentielles

L'origine naturelle des huiles essentielles les font souvent considérer, à tort, comme inoffensives. Les huiles essentielles sont des préparations très concentrées et peuvent provoquer des symptômes d'intoxication en cas de surdosage. Elles sont résorbées par inhalation, ingestion ou contact cutané.

Les symptômes et la gravité d'une intoxication par les huiles essentielles varient suivant le type d'exposition (ingestion, contact oculaire,...), le type d'huile en cause, la concentration du produit (l'intoxication par les huiles essentielles pures est la plus problématique), la quantité ingérée (1 goutte, 1 gorgée,...) [46].

Certaines huiles essentielles (riches en **thymol** ou en **carvacrol**) sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant, allergènes telles que les huiles riches en **cinnamaldéhyde** ou **phototoxiques** (huiles de *citrus* contenant des **furocoumarines**) [47].

D'autres HEs ont un effet neurotoxique. **Les cétones**, comme **l'α-thujone**, sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux. L'huile essentielle de *M. pulegium* L. Est également fort suspecté d'être hépatotoxique. Elle a été responsable d'accidents mortels. La toxicité essentiellement hépatique est liée à la **pulégone** et à ses métabolites comme le **menthofuran** qui sont responsables de la nécrose des tissus **[41]**. Cette huile est fréquemment citée comme étant dangereuse pendant la grossesse **[48]**.

Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés, tels que les dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (Sassafras albidum), l'estragole (Artemisia dracunculus), la j3-asarone (Acorus calamus) et le méthyl-eugénol, sont capables de provoquer des cancers [48].

#### 3.6.1 Toxicocinétique

#### 3.6.1.1 L'ingestion

L'ingestion de certaines huiles essentielles peut également provoquer des troubles de la conscience ou des convulsions exemple: huile essentielle de l'absinthe et de la sauge officinale qui sont neurotoxiques, des problèmes respiratoires, et plus rarement, une atteinte du foie ou des reins [49,50].

#### 3.6.1.2 Cutané

Les huiles essentielles provoquent des allergies et des irritations surtout pour les gens qui utilisent les produits cosmétiques contenant ses huiles c'est le cas par exemple des HEs de thym d'origan et de la cannelle [50].

#### 3.6.1.3 Inhalation

Inhalation des huiles essentielles peut provoquer des allergies respiratoires et asthme [50].

#### 4. Hydrolats

#### 4.1 Définition

On l'appelle: eau florale, eau de distillation, eau de rose ou eau de fleur d'oranger.

L'hydrolat est obtenu lors de la distillation à la vapeur d'eau, d'une plante aromatique, pour obtenir une huile essentielle. La vapeur entraine des molécules aromatiques dans l'alambic. Cette vapeur se refroidit et redevient liquide, se séparant de l'huile essentielle. Dans la plupart des cas, l'huile essentielle flotte sur le dessus de cette eau qui est maintenant un hydrolat.

On recueille l'huile et l'eau aromatisée est aussi conservée. Cette eau a subi une transformation et garde en elle les molécules solubles de l'huile essentielle.

Donc les huiles essentielles ne sont pas solubles dans l'eau puisque les composantes de l'essence aromatique qui étaient solubles n'y sont plus, elles sont dans l'hydrolat.

Cette eau florale contient un pourcentage plus ou moins élevé d'éléments actifs. Ce qui lui confère un effet thérapeutique particulier [51].

#### 4.2 Composition des hydrolats

Un hydrolat obtenu en début de distillation sera nettement plus chargé en principes actifs qu'un hydrolat récupéré en fin de distillation, puisqu'il sera plus dilué.

Les hydrolats contiennent toute la fraction moléculaire hydrosoluble de la plante, mais ne contiennent en moyenne que 0,1 à 2% de molécules aromatiques, et ces chiffres varient d'une source à l'autre. Ces molécules peuvent être les mêmes que celles de l'huile essentielle correspondante ou alors totalement différentes, on l'explique par la composition de la molécule cette fois-ci, par les groupes fonctionnels qu'elle contient. Ils peuvent par conséquent être complémentaires, et là ça devient très intéressant. Il est très difficile de quantifier les molécules présentes dans un hydrolat. D'autre part parce que les bases de données se font assez rares sur ce type de produit. Généralement, le chémotype des hydrolats se réfère donc à l'huile essentielle correspondante.

Dans la nature, il existe des molécules polaires et apolaires. Cette polarité se définit par la répartition des charges positives et négatives au sein de la molécule, et est régie par la géométrie de la molécule et l'électronégativité des atomes. Deux molécules polaires vont s'attirer très fortement, comme c'est le cas pour deux molécules apolaires. L'eau est un solvant polaire, du coup il va beaucoup plus attirer les molécules polaires, contrairement aux huiles essentielles [52].

Les molécules que l'on peut retrouver dans les hydrolats:

- Les acides: de par leur fonction carbonyle et alcool
- Les phénols: le carvacrol, le thymol et l'eugénol
- Les alcools: partiellement pour certains comme le linalool, l'alpha terpinéol ou le géraniol, totalement pour d'autres comme le lavandulol
- Les coumarines
- Les cétones: comme le camphre, la verbénone, la thujone etc.
- Les aldéhydes: aromatiques et terpéniques
- Le 1,8 cinéole: (aussi appelé eucalyptol)
- L'acétatedelinalyle et quelques éthers comme le méthyl chavicol ou l'anéthol.

On peut également y retrouver des principes actifs de la plante, tels que **des minéraux** ou des **oligo-éléments**.

Ils ont également une action au niveau psycho-émotionnel et énergétique grâce à leur dimension vibratoire. Les hydrolats seraient capables de retenir toute l'information de la plante, toute sa force [51].

#### 4.3 Utilisation

- a. Usage externe: en esthétique pour les soins du visage et de la peau. Il est possible d'en vaporiser directement sur la peau après être démaquillé ou même au réveil pour amorcer une journée du bon pied. Lorsqu'on prépare un masque pour le visage, au lieu de mettre de l'eau, on prendra un hydrolat dont l'effet correspondra à notre type de peau. Il est aussi possible d'en vaporiser sur une plaie pour la nettoyer et activer la cicatrisation. Une peau enflammée par un coup de soleil sera grandement soulagée par la vaporisation d'un mélange d'hydrolats de lavande vraie, de rose de damas et de menthe poivrée. Cette même formule pourrait être appliquée en compresse sur le coup de soleil.
- b. **Usage interne:** On les utilisera sous formes de cures pour soutenir le travail du foie, des intestins ou de la circulation. Il est possible de se faire une petite recette calmante

pour faciliter le sommeil, en remplacement d'un substitut chimique. Pour ceux qui craignent les effets secondaires des rince-bouche commerciaux, il très simple de se fabriquer un rince-bouche très efficace en utilisant des hydrolats comme base. On peut même remplacer les gouttes pour les yeux par une préparation d'hydrolats [52].

#### 4.4 Activités antifongique

L'activité antifongique des hydrolats de cinq épices (romarin, cumin, sarriette, echinophore et basilic) a été évaluée *in-vitro* sur des espèces de champignons phytopathogènes (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*f. Sptulipae, *Botrytis cinerea* et *Alternaria citri*) [53].

L'hydrolat de sarriette (*Saturejahortensis*) a montré l'activité antifongique la plus intéressante sur l'ensemble des champignons testés suivi de l'hydrolat d'echinophore (*Echinophora tenuifolia*) puis de cumin (*Cuminum cyminum*). Les chercheurs, dans une seconde étude, se sont penchés plus précisément sur l'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes (*Aiternaria*mali Roberts et *Botrytis cinerea*) en présence de l'hydrolat de sarriette [53,54] ont également étudié l'effet antifongique de plusieurs hydrolats contre les formes filamenteuses et les levures de *C. albicans*.

Les hydrolats de thym, de cumin noir, de la sauge, du romarin et de la feuille de laurier pourraient être utilisés comme des désinfectants pratiques pour les fruits fraîchement récoltés et les légumes [55].

Récemment, l'utilisation de certains hydrolats comme agents naturels de lutte contre les champignons et de prévention de la détérioration des produits alimentaires [56].

Les hydrolats issus de fruits frais de *C. aurantifolia*, des feuilles séchées de *C. citratus* et des feuilles fraîches d'*O. Gratissimum* étaient capables d'inhiber les champignons de *Candida albicans* et *Bacillus subtilis* alors que celui extrait à partir des feuilles séchées d'*O. Gratissimum* ont été capables d'inhiber les organismes de *Candida albicans et Enterococcus faecali* [57].

Ces études suggèrent que ces hydrolats pourraient être exploités dans certains secteurs comme l'agro-alimentaire ou la cosmétique comme agents antifongiques naturels.

#### 5. Valorisation des huiles essentielles et des hydrolats

Les huiles essentielles et même les hydrolats ont beaucoup d'intérêt comme source potentielle De molécules naturelles bioactives qui servent d'agents de conservation alimentaire, ou approuvés comme additifs alimentaires [58].

L'hydrolat est un sous-produit de l'huile essentielle. Il s'agit d'un mélange complexe de composés hydrosolubles, contenant des traces d'huile essentielle. L'attention a été attirée par leur impact sur la croissance des bactéries et sur la croissance des champignons [59,60].

#### 5.1 Le poirier

Un des rois du verger, le poirier est l'un des fruitiers les plus courants de nos vergers.

Le poirier, réputé pour sa durée de vie très élevée (parfois près de 200 ans), est un arbre originaire d'Europe et d'Asie.

Il est en générale de taille moyenne, mais il peut atteindre dans certains cas une quinzaine de mètres. Le poirier fleurit dès le mois d'Avril et donne de superbes petites fleurs blanches parfois rosées qu'affectionnent les abeilles au printemps.

On peut le trouver aussi bien à l'état sauvage, dans nos jardins, ou en culture pour la production de poires [61].

Nom: Pyrus cummunis

Famille: Rosacées

Type: Arbre fruitier

Hauteur: 5 à 15 m

Sol: Ordinaire

Exposition: Ensoleillée

Feuillage: Caduc

Récolte: Automne [61]

#### 5.2 Récolte et conservation des poires

Il faut s'avoir qu'il ne faut pas attendre qu'elles tombent pour les récolter.

Ensuite, lorsque vous effectuez un ¼ de tour avec la queue et qu'elles viennent sans forcer, alors vous savez que c'est le bon moment pour récolter les poires.

Une fois la cueillette des poires effectuée, il s'agit de les conserver dans les meilleures conditions pour les garder le plus longtemps possible [61].

#### **5.2.1** Maladie de conservation

Parmi les problèmes majeurs en arboricultures fruitières les maladies de conservation entrainent des pertes très importantes. Il a été montré en France que plus de 40 espèces de champignons susceptible de provoquer des pourritures sur les poires pendant la période de conservation [62].

• Alternariatenuis: affectent les poires et cause l'Alternariose [62].



Figure 5: Poire infectée par Alternariatenuis

#### • Botrytis cinerea

Le *Botrytis cinerea* est à la fois un parasite latent et un parasite de blessure, il est présent sur de nombreux débris végétaux (chancres, feuilles desséchés, fruits) et la contamination à lieu au verger.

*Botrytis cinerea* mycotoxine très pathogène responsable de la pourriture grise en provoquant une destruction partielle ou totale du fruit.

À la floraison, la dissémination du champignon est assurée par la pluie et le vent. La germination du parasite à lieu en présence d'eau au niveau des étamines ou sur les cicatrices florales, provoquant l'infection oculaire [63].



Figure 6: Poire infectée par Botrytis cinerea

• Penicillium expansum: c'est un champignon filamenteux.



Figure 7: Le thalle de *Penicillium expansum* 

Taxonomie: Le thalle est vert

Royaume: Champignons

Division: Ascomycota

Classe: Eurotiomycètes

Ordre: Eurotiales

Famille: Trichocomaceae

Genre: Penicillium

Espèce: P. expansum [63]

*Penicillium expansum* parasite de blessure qui infecte les fruits dans les locaux de conservation. Cette espèce qui fructifie facilement en l'absence de lumière, sporule abondamment sur les débris végétaux.

L'évolution du champignon est rapide et les fruits pourris sont à l'origine de nouvelles infections dont la propagation dans les chambres froides est facilitée par le brassage de l'air.

Penicillium expansum donne des pourritures humides de forme généralement circulaire, une moisissure d'abord blanche puis vert bleuâtre apparait à la surface du fruit [64].



Figure 8: Poire infectée par Penicillium expansum

#### 5.2.2 Les maladies des poiriers

Le poirier, est sujet à quelques maladies courantes, notamment des champignons.

L'une des maladies du poirier les plus courantes est la tavelure.

• Tavelure du poirier: (Venturia pirina).

C'est une maladie cryptogamique.

Taches brunes sur face inférieur des feuilles, les jeunes taches sont de couleur vert olive, d'aspect huileux. Elles se dessèchent, se craquèlent et virent au gris-noir en vieillissant.la chute des feuilles est possible en cas d'attaque sévère. Sur les fruits, des taches brunes en relief apparaissent, et la partie touchée se développe moins rapidement, ce qui déforme la poire [61].

• Pourriture des poires, la moniliose:

La pourriture des fruits, du nom de moniliose. Ce champignon peut provoquer des dégâts importants qu'il est préférable d'éviter en préventif [61].

L'oïdium: (Podosphaeraleucotricha).

Maladie du blanc est causée par un champignon. On remarque son attaque par l'apparition d'une poudre blanche à la surface des feuilles, tiges, fleurs et parfois fruits.

C'est une maladie extrêmement contagieuse [65].

La rouille grillagée:(Gymnosporangiumsabinae). Il s'agit d'un champignon s'installant sur les feuilles au début de l'été [65].

Le genévrier: (juniperus) [65].

Chancre type Pseudomonas: une tache brune apparait et s'étend rapidement, sur le tronc ou sur les branches.

Bactériose: petites taches circulaires noires.

Feu bactérien: (Erwinia amylovora)

Sur poirier, bouquets floraux et jeunes pousses noircissent et se dessèchent comme s'ils avaient été passés au feu [66].

Pourridié, Cloque, Rouille [66].

#### 5.2.3 Insectes ravageurs des poiriers

Insectes et parasites : pucerons, cochenilles...

Les feuilles de poirier s'enroulent et deviennent collante [61].

Psylles: (psyllapyri L.)[67].

Carpocapses: (Cydiapomonella ou Laspeyresiapomonella) [65].

Acarien rouge: (Panonychus ulmi koch) [67].

L'anthonome du poirier: (Anthonomuspyrikollar) [68].

Thrips du poirier: (Taeniothripsinconsequens) (Uzel) [69].

La zeuzère du poirier: (Zeuzerapyrina) [70].

L'agrile du poirier: (Agrilus sinuatus) [71].

La cécidomyie des feuilles du poirier et sa larve blanche

La cicadelle

Bostryche disparate [72].

## 6. Huiles essentielles comme un moyen de lutte contre les maladies de fruits des poiriers

Les huiles essentielles ont un pouvoir antifongique puissant contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes qui s'attaquent à la denrée alimentaires. Ils sont connus pour ne pas nuire à l'environnement et à la santé humaine.

La propriété de ses huiles essentielles désigne la capacité de traiter les infections provoquées par les champignons microscopique par leur action spécifique sur ses microorganismes à conditions de bien respecter les précautions d'emploi [73].

La concentration des hydrolats est très faible et ils contiennent un nombre de molécules aromatiques très inférieur à celui d'une huile essentielle. Cependant, ils sont considérés comme un recours précieux à chaque fois que l'utilisation des huiles essentielles se révèle délicate.

Les terpénoïdes sont des composants majeurs des huiles essentielles végétales. Ils constituent

Principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes et sont supposés être responsables de nombreuses activités biologiques telles que les activités antifongiques et antimicrobiennes [74,75].

Les hydrolats sont des composés précieux non seulement pour les industries cosmétiques, mais aussi pour l'agriculture biologique contre les champignons et peuvent être utilisés pour la fertilisation des sols [76].

## Chapitre 2: Matériel et Méthodes

### 1. Matériel

### 1.1 Provenance du matériel végétal et identification des trois plantes

- Le matériel végétal de *Anacyclus valentinus* a été récolté dans la localité de Terny, Tlemcen.
- Le matériel végétal de *Chrysanthemum coronarium* a été récolté dans la localité de Saf Saf, Tlemcen.
- ➤ Le matériel végétal de *Carthamus caeruleus* a été récolté dans la localité de Beni Snous, Tlemcen.

L'identification des trois plantes: *Chrysanthemum coronarium, Anacyclus valentinus* et *Carthamus caeruleus* a été faite par Monsieur *Choukri KAZI TANI* Maître de conférences à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie.

### 1.2 Date de récolte

Les trois plantes ont été récoltées durant les mois de Mai, Mars et Avril 2018, respectivement. Après la récolte les plantes sont transférées dans un endroit bien aère, à une température ambiante. Les parties aériennes fraîchement récoltées, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant environ une semaine à 15 jours. Devenues sèches, elles sont récupérées dans des sacs propres pour servir ultérieurement à l'extraction de l'huile essentielle.

### 1.3 Matériels utilisés au laboratoire

- 1- Ethanol 70%
- 2- Pipette pasteur
- 3- Boite de pétrie
- 4- Pro-pipette
- 5- PDA (Ph = 4.5 à 5)
- 6- Acide lactique 25%
- 7- Eau distillée
- 8- Eprouvette graduée
- 9- Plaque chauffante Agitatrice
- 10- Papier absorbant
- 11-Boites fermées
- 12-Bécher
- 13-Bec bunsen
- 14- Autoclave
- 15-Spatule

### 2. Extraction des huiles essentielles et des hydrolats

Pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques plusieurs méthodes ont été utilisées. Chaque méthode possède plusieurs variantes technologiques en fonction du matériel végétal à traiter.

La procédure réalisée au niveau de notre laboratoire est hydrodistillation ou la méthode de Clevenger [58].

#### 2.1 Extraction des huiles essentielles

- Pour l'extraction des huiles essentielles des trois plantes Anacyclus valentinus, Chrysanthemum coronarium, Carthamus caeruleus nous avons utilisé la méthode d'hydrodistillation ou entrainement à la vapeur qui est très ancienne (remonte à l'antiquité) et facile à mettre en ouvre.
- Le principe de cette technique est: dans un ballon ou un alambic, le matériel végétal intact ou broyer est en contact direct avec l'eau.
- L'eau est chauffée et la matière végétale devient molle. De cette façon, les molécules d'huile sont libérées plus facilement.
- Les vapeurs obtenues après ébullition se condensent et l'huile essentielle se sépare de l'eau et ce parce qu'il ya une différence de densité
- Après séchage sur du sulfate de magnésium. L'huile essentielle est conservée dans des piluliers en verre ambré à 4°C jusqu'à analyse.
- Le rendement est calculé par rapport à la masse de matière végétale sèche [77].



Figure 9: Montage d' hydrodistillation

### 2.2 Extraction des hydrolats

Les hydrolats sont riches en composés oxygénés. On y trouve souvent de petits acides organiques volatils, ce qui implique que les hydrolats sont habituellement à pH acide.

Cette valeur peut également être contrôlée pour la comparaison des lots de fruit de poires, puis évaporé en donnant une huile évaporée. Il faut en outre savoir que l'analyse des hydrolats est assez inferieur comparativement à celle des huiles essentielles, et qu'il est donc plus probablement d'y retrouver des molécules inconnues qui ne sont pas incluses dans des bases de données scientifiques ou des publications.

Généralement, tout composé fortement hydrosoluble retrouvé à l'état de traces dans les huiles essentielles mais beaucoup plus abondant dans un milieu aqueux pourrait produire un tel résultat. Ainsi, le pourcentage d'identification des composés volatils totaux est généralement plus faible pour un hydrolat que pour une huile essentielle.

Pour un volume donné d'hydrolat, la quantité de composés organiques volatils est très petite comparativement à une huile essentielle pure. L'analyse d'hydrolat implique donc la plupart du temps une étape de pré-concentration. La solution aqueuse est mise en contact avec un solvant organique non-miscible. La plupart des composés organiques de l'hydrolat ont plus d'affinité pour le liquide organique, et quittent l'eau pendant cette extraction liquide-liquide. Le solvant est ensuite évaporé doucement, voir à basse pression, laissant un « concentré » d'hydrolat dépourvu d'eau.

Les extraits d'hydrolats peuvent être analysés presque de la même manière que les huiles essentielles.

Il existe cependant une grande différence entre une huile essentielle pure et un extrait d'hydrolat: ce dernier est résultant d'une solution aqueuse. Cela implique quelques précautions spécifiques pour son analyse en Chromatographie en phase gaz [78].

### 2.3 Préparation des hydrolats

Après l'hydrodistillation, l'hydrolat est placé dans une ampoule à décanter, on ajoute 200ml d'éther diéthylique et on agite. On répète cette opération 3 fois, après décantation on obtient l'extrait d'hydrolat.

La phase organique a été séché sur du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, puis évaporé en donnant une huile jaunâtre. Ce mode opératoire est utilisé pour les trois plantes; *Anacyclus valentinus, Chrysanthemum coronarium, Carthamus caeruleus*.

### 3. Les méthodes d'identification des huiles essentielles

La méthode d'identification des huiles essentielles s'effectue par le couplage de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec la spectrométrie de masse (SM) [79].

### 3.1 Analyse par CPG/FID

Pour l'analyse la CPG est la technique utilisée, cette dernière est effectuée avec l'appareil de Perkin Elmer Clarus 600 GC qui est doté d'un système d'ionisation à double flamme (FID) et de deux colonnes capillaires de silice fondu. La température du four était fixé à 230° c pour 35 min par contre l'injecteur et le détecteur à 280°C

Concernant les échantillons, ils ont était injecté en petite dose 1/50 et comme gaz porteur 1ml/min hélium), le volume d'injection était de 0,2 µl. Les indices de rétentions (IR) des composés ont été déterminés à partir du logiciel Perkin-Elmer.

### 3.2 Couplage CPG/Spectrométrie de masse

- L'appareil Perkin-Elmer Turbo Mass, associé avec un Perkin-Elmer Auto system XL, contenant 2 colonnes capillaires de silice fondu (60 m x 0,22 mm d.i. Epaisseur du film: 0,25 μm), polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), contrôle les échantillons
- On a obtenu les spectres de masse dans les conditions suivantes:
- Plage de masse 35-350 Da (temps de balayage: 1s).
- Ionisation énergétique 70 eV
- Température de la source ionique 150 °C

### 3.3 Méthodologie d'analyse

Pour l'utilisation des huiles essentielles dans n'importe quel domaine; il est indispensable d'avoir une connaissance approfondie sur leur composition chimique.

L'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification de ses composants reste une étape importante basée sur l'utilisation conjointe de la CPG/Ir et de la CPG/SM.

L'association de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie masse (CPG/SM) permet la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe, il existe deux méthodes d'ionisation CPG/Ir et CPG/SM-IE.

Le résultat est d'arriver à l'ionisation et fragmentation des substances en les bombardant par un faisceau d'électrons Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé qui va être comparés avec des produits de références (NIST/EPA/NIH MASS SPECTRAL LIBRARY)

### 4. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$Rdt\% = (M_1/M_0) *100$$

- Rdt: rendement en huile essentielle
- M<sub>1</sub>: masse en gramme d'huile essentielle
- M<sub>0</sub>: masse en gramme de la matière végétale [80].
- 5. Activité antifongique des huiles essentielles de *Chrysanthemum* coronarium, Anacyclus valentinus, Carthamus caeruleus et de leurs hydrolats sur les fruits de poirier

### 5.1 Isolement des agents pathogènes

### Souche fongique

La souche fongique nous a été fournie par le laboratoire de la faculté SNV Tlemcen.

L'espèce fongique *Penicillium expansum* est obtenue à partir des fruits, responsable de la pourriture des poires.

Maintenue dans un milieu de culture PDA (Potatoes Dextrose Agar) et conservé à l'étuve à 23°C pendant 15 jours à l'obscurité. Ces isolats ont été purifiés. Les souches de champignons en voie de développement ont été identifiées sur la base de leurs caractères morphologiques et microscopiques. Les conidies récupéré de la surface de la gélose, ont été déposé dans 5 ml la solution obtenu a été filtré pour éliminer les fragments mycélium.

Le nombre de spores a été calculé avec un compteur de cellules automatisé (Bio-Rad's TC20), Cellometer vision, concentration des spores a été ajustée à 1 x 10<sup>6</sup> spores /ml à l'aide d'un hémocytomètre avant usage.

Chapitre 2: Matériel et méthodes



Figure 10: Souche fongique de Penicillium expansum

### Les conidies

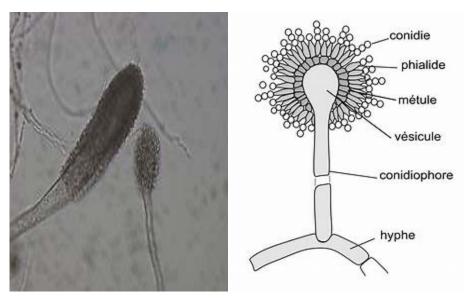


Figure 11: Les conidies de Penicillium expansum

### 5.2. Activité antifongique in vivo:

La méthode de TABET et coll. [80] a été utilisée pour déterminer les effets des huiles essentielles et des hydrolats sur des blessures inoculés des fruits de poires (activité protectrice) et sur des fruits de poires non inoculés (activité préventive).

Nous avons réalisé ces tests de l'activité antifongique directement sur les poires, en utilisant d'une part les hydrolats de: *Chrysanthemum coronarium, Anacyclus valentinus* et *Carthamus caeruleus* et le mélange des deux hydrolats: *Chrysanthemum coronarium* et *Anacyclus valentinus* pour les deux effets protecteur et préventif. Et d'autre part l'huile essentielle de *Chrysanthemum coronarium, Anacyclus valentinus* ainsi que le mélange des deux huiles: *Chrysanthemum coronarium* et *Anacyclus valentinus*.

### Protocole expérimental

Choisir les fruits de la même taille autant que possible.

Chapitre 2: Matériel et méthodes

Désinfecter leurs surfaces par une immersion pendant 2 min dans une solution

éthanolique à 70%.

Rincer deux fois par une immersion à l'eau distillée stérile pendant 10 minutes, laissé

sécher 3 min dans un endroit sec.

Laisser sécher dans un endroit sec et stérile

Pour l'étude de l'effet protecteur: il faut inoculer la suspension fongique (50µl) dans le

trou, et pour l'effet préventif, les poires ne sont pas inoculer.

Pour ne pas dénaturer le goût et l'odeur des poires, une concentration de 0,02 mL/L

des huiles extraite des deux plantes Chrysanthemum coronarium et Anacyclus

valentinus a été utilisé, et appliquée sur des disques de papier filtre de quatre cm de

diamètre et placé dans une boite de volume d'1 L, pour atteindre la concentration

finale de 0,02 mL/L d'air sans utiliser de solvant. Il en est de même pour l'effet

synergique, un mélange d'huile avec les même proportions 0,02 / 0,02 mL/L de chaque

huile (un rapport 50/50).

Pour l'hydrolat, les poires ont été lavées directement avec les trois hydrolats des

plantes étudiées (0,1 mL/L) pendant 5 minets placés dans des boîtes. et pour le

mélange un rapport de 50/50 des deux hydrolats de Chrysanthemum coronarium et

Anacyclus valentinus est utilisé.

Mettre dans des boites en mettant un bécher rempli d'eau distillée stérile pour

humidifier le milieu.

Mesurer le diamètre des moisissures

Des expériences de contrôle ont été effectuées sans traitement d'huile essentielle et d'hydrolat.

Le pourcentage d'indice de maladie d'infection sur les fruits de poires a été déterminé en

utilisant la formule:

DI(%) = (TNI/N) 100

TNI: nombre total de fruits de pommes infectés

N: nombre total de fruits de pommes évalués.

29

# Chapitre 3: Résultats et discussions

# 1. Compositions chimique des huiles essentielles de *Chrysanthemum* coronarium et *Anacyclus valentinus*

Dans cette partie de notre travail, nous avons mis en évidence l'analyse chimique des huiles essentielles de *Anacyclus valentinus*, *Chrysanthemum coronarium* par CPG et CPG-SM.

### 1.1 Composition chimique des huiles essentielles de *Anacyclus valentinus*

L'huile essentielle de *Anacyclus valentinus* de la région de Tlemcen a révélé la présence de 27 composés volatils. Ces constituants représentent environ **92,99** % de l'huile essentielle de la plante (**Tableau I**).

Tableau I: Composition chimique de l'huile essentielle de Anacyclus valentinus

N°	Composés	Riab	HE	Identification i		
1	Linalool	1098	0,4	RI, MS		
2	α-Thujone	1114	tr	RI, MS		
3	α-Copaène	1375	0,8	RI, MS		
4	eta-Elemène	1391	0,36	RI, MS		
5	α-Humulène	1451	0,44	RI, MS		
6	E-β-Farnesène	1456	12,34	RI, MS		
7	4-Epialphaacoradiene	1465	0,3	RI, MS		
8	τ-Muurolol	1475	0,38	RI, MS		
9	Germacrène-D	1480	8,86	RI, MS		
10	β-Eudesmol	1485	1,5	RI, MS		
11	α-Bergamotène	1493	0,9	RI, MS		
12	α-Farnesène	1508	2,54	RI, MS		
13	β-Sesquiphellandrène	1523	4,43	RI, MS		
14	Elémol	1547	6,2	RI, MS		
15	Spathulènol	1576	7,7	RI, MS		
16	Caryophyllène oxyde	1580	12,58	RI, MS		
17	Salvial-4(14)-en-1-one	1590	2,54	RI, MS		
18	γ-Eudesmol	1630	6,5	RI, MS		
19	α-Cadinol	1640	3,3	RI, MS		
20	(Z, Z)-Farnésal	1649	8,24	RI, MS		
21	(1R,7S)-Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1beta-ol	1690	4,54	RI, MS		
22	β-Bisabolène	1744	3,46	RI, MS		
23	(Z)-Déca-8-en-4,6-diyn-1-yl 3-methylbutanoate	1828	0,72	RI, MS		
24	Kaur-16-ène	2034	1,52	RI, MS		
25	Phytol	2112	1,34	RI, MS		
26	Heicosane	2309	0,4	RI, MS		
27	Triacontane	2503	0,7	RI, MS		
	Taux d'identification %		92,99			

La combinaison en composés volatils de cette espèce est variable, en termes de diversité et de concentration. L'huile essentielle de *A. Valentinus* comprend des sesquiterpènes (l'E-B-

Farnesène **12,34%**), des alcools sesquiterpéniques (Spathulènol **7,7%**) et des hydrocarbures sesquiterpéniques (Germacrène-D **8,86%**), des alcools terpénique (linalool **0,4%**), des alcools diterpéniques (Phytol **1,34%**), des hydrocarbures (triacontane **0,7%**), des cétones monoterpénes (α-Thujone **tr**) et des esters.

Le rendement d'extraction de cette huile essentielle par hydrodistillation est de 0,4%.

### 1.2 Composition chimique des huiles essentielles de Chrysanthemum coronarium

L'huile essentielle de *Chrysanthemum coronarium* aussi de la région de Tlemcen a révélé la présence de 56 constituants avec un pourcentage de **88,25%** (**tableau II**).

Tableau II: Composition chimique de l'huile essentielle de Chrysanthemum coronarium

N°	Composés		Ria <sup>b</sup>	Ria <sup>p</sup>	HE	Identification i
1	Pinène		934	934	0,22	RI, MS
2	Mycène		982	982	0,61	RI, MS
3	Octén-3-one		985	985	0,37	RI, MS
4	Limonène		1021	1021	0,7	RI, MS
5	Linalool		1081	1081	0,8	RI, MS
6	Camphre		1120	1120	10,15	RI, MS
7	Citronellal		1133	1133	0,16	RI, MS
8	Pinocarvone		1139	1139	5,47	RI, MS
9	Isomenthone		1140	1140	1,94	RI, MS
10	Bornéol		1148	1148	0,9	RI, MS
11	Lyratol		1159	1159	0,21	RI, MS
12	Terpinén-4-ol		1163	1163	0,17	RI, MS
13	Cymén-8-ol		1169	1169	0,42	RI, MS
14	Terpinéol		1177	1177	0,22	RI, MS
15	Géranyl isovalérate		1202	1202	0,1	RI, MS
16	Pulégone		1212	1212	0,14	RI, MS
17	Trans chrysanthényl acétate		1240	1240	3,11	RI, MS
18	Cis chrysanthényl acétate		1247	1247	4,75	RI, MS
19	Lyratyl acétate		1259	1259	3,5	RI, MS
20	Bornyl acétate		1264	1264	1,13	RI, MS
21	Lavandulol acétate		1270	1270	0,22	RI, MS
22	Myrtényl acétate		1326	1326	0,48	RI, MS
23	Gurjunéne		1351	1351	0,33	RI, MS
24	Verbénone	33	1358	1358	0,69	RI, MS
25	Caryophyllène		1380	1380	2,94	RI, MS

26	6,8-Nonadién-2-one, 6-méthyl-5-(1-méthyl	1404	1404	1,09	RI, MS
	éthyldiéne)-				
27	Bergamoténe	1414	1414	0,44	RI, MS
28	E-β-Farnesène	1446	1446	6,21	RI, MS
29	E-α-Farnesène	1459	1459	1,51	RI, MS
30	Isovalérate de lyratyle	1472	1472	4,39	RI, MS
31	Germacrène-D	1476	1476	5,13	RI, MS
32	Muroléne	1490	1490	0,43	RI, MS
33	β-Sesquiphellandrène	1516	1516	2,99	RI, MS
34	Bisaboléne	1532	1532	0,36	RI, MS
35	α-Cadinène	1535	1535	0,63	RI, MS
36	Z-α-Farnesène	1548	1548	0,22	RI, MS
37	Nrolidol	1552	1552	0,26	RI, MS
38	Cis-3-Hexenylénzoate	1559	1559	5,32	RI, MS
39	Spathulénol	1566	1566	1,1	RI, MS
40	Pinocarvéol	1571	1571	0,74	RI, MS
41	Caryophyllène oxyde	1579	1579	2,86	RI, MS
42	Shyobunol	1586	1586	0,23	RI, MS
43	Isoaromadendréne	1590	1590	0,24	RI, MS
44	Viridiflorol	1598	1598	0,75	RI, MS
45	Acorénol	1610	1610	0,28	RI, MS
46	Epi-cis-sesquisabinéne hydrate	1622	1622	2,12	RI, MS
47	τ-Cadinol	1636	1636	1,26	RI, MS
48	α-Cadinol	1643	1643	0,63	RI, MS
49	Bisabolol	1670	1670	1,92	RI, MS
50	2-Méthyléne cholestan-3-ol	1913	1913	0,65	RI, MS
51	Géranyl-alpha-terpinéne	1957	1957	0,84	RI, MS
52	Linoléique acide méthyl ester	2106	2106	0,25	RI, MS
53	Phytol	2131	2131	1,72	RI, MS
54	Tricosane	2302	2302	0,3	RI, MS
55	Héptacosane	2504	2504	0,52	RI, MS
56	1-Héptatriacotanol	2512	2512	3,13	RI, MS
	Taux d'identification %			88,25	

L'huile essentielle de *C. coronarium* comprend des sesquiterpènes (E-B-Farnesène **6,21%**), des hydrocarbures sesquiterpéniques (Bergamoténe **0,44%**), des alcools sesquiterpéniques (Bisabolol **1,92%**), des monoterpénes (Pulégone **0,14%**), des alcools monoterpéniques (Terpinén-4-ol **0,17%**), des cétones monoterpéniques (Camphre **10,15%**), des alcools diterpéniques (Pinocarvéol **0,74%**), des cétones aliphatiques (Octén-3-one **0,37%**) et des esters (Linoléique acide méthyl ester **0,25%**).

Le rendement d'extraction de cette huile essentielle par hydro distillation est de 0,08%.

### 2. Activité antifongique des huiles essentielles et des hydrolats

Les huiles essentielles sont reconnues par leurs composants naturels, comme les monoterpènes, diterpènes, sesquiterpènes et les hydrocarbures avec des groupes fonctionnels divers. Dans les années 1990, Muanza et ses collaborateurs ont recherchés des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les moisissures [81].

Depuis, beaucoup d'autres chercheurs ont rapporté l'effet antifongique des huiles essentielles dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines [82-86].

Cette présente étude a été faite dans le but d'examiner l'activité antifongique des l'huiles essentielles des plantes *Anacyclus valentinus*, *Chrysanthemum coronarium*, leur mélange, leur hydrolats et leur mélanges ainsi que l'hydrolat de *Carthamus caeruleus* contre un champignon phytopathogènes (*Penicillium expansum*) responsable de la pourritures des poires.

Par ailleurs, nos résultats prouvent l'existence de cette activité antifongique par:

- ➤ Une importante inhibition de la croissance mycélienne.
- ➤ Une dégradation radiale des souches *Penicillium expansum*.

# 2.1 Effet des huiles essentielles et des hydrolats sur l'inhibition de la croissance fongiques

# 2.1.1 Effet des huiles essentielles de Anacyclus valentinus et Chrysanthemum coronarium

Les résultats du test de la pourriture des poires par ces huiles essentielles montrent un pouvoir réducteur de la croissance fongique de *Penicillium expansum*.

Il faut noter que les HEs ont montré une activité antifongiques intéressante jusqu'aux 30<sup>ème</sup> jours par rapport aux témoins.

Après étude du potentiel antifongique des huiles essentielles, les auteurs n'ont pu arriver à comprendre et déterminer leur mécanisme d'action, pour cela des suppositions ont été donné selon leurs observations.

En effet, l'activité antifongique des HEs est attribué principalement à leur composition chimique, la nature et la proportion des différents constituants (majoritaires et minoritaires), les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et possible l'effet synergiques entre les composants [87].

# 2.1.2 Effet des hydrolats de Anacyclus valentinus, Chrysanthemum coronarium, Carthamus caeruleus

À partir du processus d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation on a récupéré nos hydrolats, Les résultats montrent une forte inhibition de la croissance mycélienne de *Penicillium expansum* jusqu'au 45<sup>ème</sup> jours pour les hydrolats de *Anacyclus valentinus* et *Carthamus caeruleus* et au 40<sup>ème</sup> jours pour l'hydrolat de *Chrysanthemum coronarium* par rapport aux témoins.

### 2.1.3 Synergisme

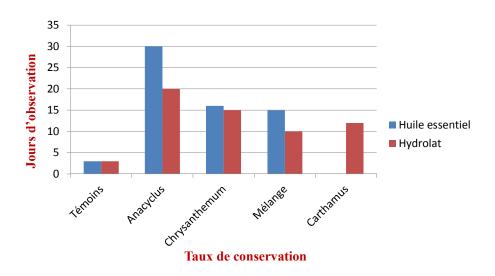
Une autre partie importante de ce présent travail dans la quelle, nous avons mis en évidence le synergisme antifongique des deux huiles essentielles et des deux hydrolats des deux plantes *Anacyclus valentinus* et *Chrysanthemum coronarium*.

Les huiles essentielles des plantes sont des mélanges complexes par leur nature. Étant un mélange cela présente un potentiel pour les développements synergétique.

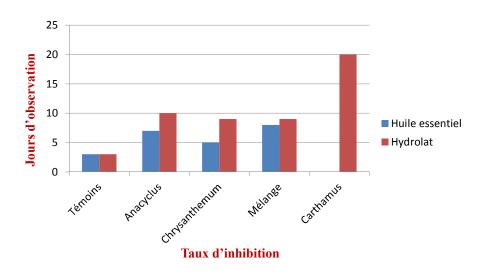
Nos résultats ont permis de constater que le mélanges des HEs présentent une activité antifongique intéressante et un pouvoir réducteur de croissance fongique jusqu'au  $25^{\text{ème}}$ jours par rapport aux témoins.

Le mélange d'hydrolats montre une activité antifongique intéressante jusqu'au 9<sup>ème</sup> jours par rapport aux témoins.

Nos études prouvent que la souche fongique *Penicillium expansum* responsable de la pourriture des poires est fortement sensible aux hydrolats qu'aux huiles essentielles ceci résulte que notre hydrolat est un antifongique naturel puissant.



Histogramme I: Poires non contaminées



Histogramme II: Poires contaminées par Penicillium expansum

- 2.2 Les photos de poires contrôlées
- 2.2.1 Poires non contaminées (effet préventif)

### 2.2.1.1 Les témoins



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j9



Contrôle j12



Contrôle j16

## 2.2.1.2 Poires traitées par l'huile essentielle de Anacyclus valentinus



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j9



Contrôle j10



Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j45



Contrôle j50

## 2.2.1.3 Poires traitées par l'huile essentielle de Chrysanthemum coronarium



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j9



Contrôle j11



Contrôle j15



Contrôle 17



Contrôle j20



Contrôle j26



Contrôle j23



Contrôle j30



Contrôle j33



Contrôle j35



Contrôle j40

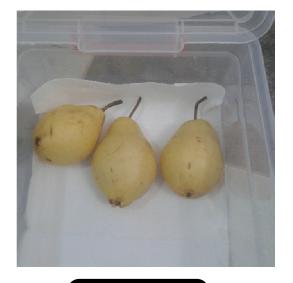


Contrôle j45

2.2.1.4 Poires traitées par le mélange des huiles essentielles de *Anacyclus valentinus* et Chrysanthemum coronarium



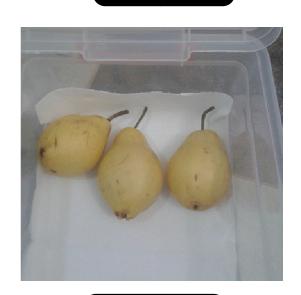
Contrôle j1



Contrôle j5



Contrôle j3



Contrôle j7



Contrôle j9



Contrôle j11



Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j23



Contrôle j25



Contrôle j27



Contrôle j30



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40

## 2.2.1.5 Hydrolat du Chrysanthemum coronarium



Contrôle j1



Contrôle j3



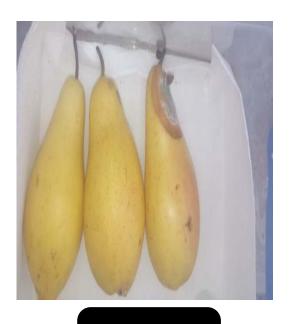
Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j11



Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40



Contrôle j45



Contrôle j50

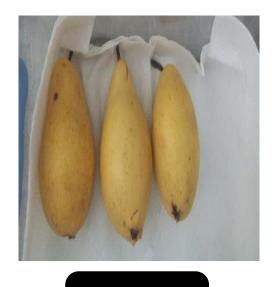
## 2.2.1.6 Hydrolat du Carthamus caeruleus



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j12



Contrôle j9



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40



Contrôle j45



Contrôle j50

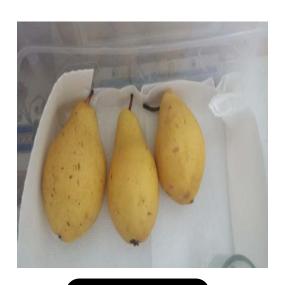
## 2.2.1.7 Hydrolat de Anacyclus valentinus



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j11



Contrôle j13



Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35







Contrôle j45

## 2.2.1.8 Le mélange des hydrolats de AnacyclusetChrysanthemum



Contrôle j1



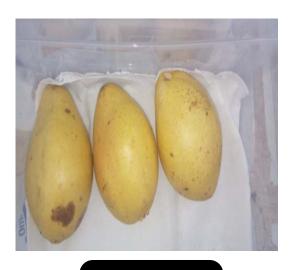
Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j10



Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35







Contrôle j45

#### 2.2.1.9 Poires contaminées par Penicillium expansum (effet protecteur)

#### **2.2.1.10** Les témoins



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j10



Contrôle j14

# 2.2.1.11 Poires traitées par l'huile essentielle de Anacyclus de valentinus



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j7



Contrôle j10



Contrôle j13



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j23



Contrôle j25

## 2.2.1.12 Poires traitées par l'huile essentielle de Chrysanthemum coronarium



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j9



Contrôle j13



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j23



Contrôle j25



Contrôle j30

2.2.1.13 Poires traitées par le mélange des huiles essentielles de *Anacyclus valentinus* et *Chrysanthemum coronarium* 



Contrôle j1



Contrôle j5



Contrôle j3



Contrôle j8



Contrôle j10



Contrôle j13



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j23



Contrôle j25

2.2.1.14 Hydrolat du Chrysanthemum coronarium



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



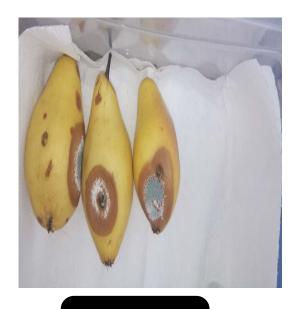
Contrôle j9



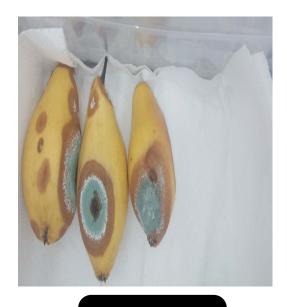
Contrôle j13



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35

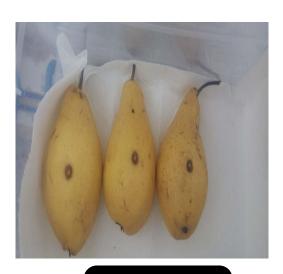


Contrôle j40

2.2.1.15 Hydrolat du Carthamus caeruleus



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j10



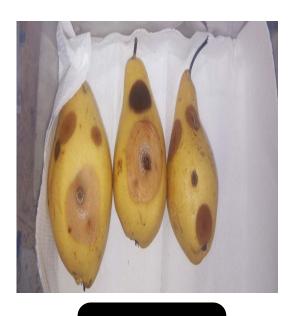
Contrôle j15



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40

Contrôle j45

2.2.1.16 Hydrolat de *Anacyclus valentinus* 



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j5



Contrôle j7



Contrôle j10



Contrôle j15



Contrôle j20



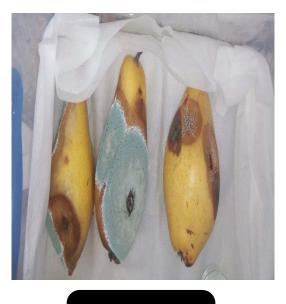
Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40



Contrôle j45

#### 2.2.1.17 Mélange des hydrolats de Anacyclus et Chrysanthemum



Contrôle j1



Contrôle j3



Contrôle j6



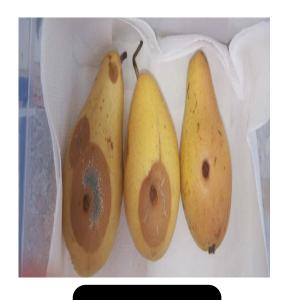
Contrôle j9



Contrôle j13



Contrôle j16



Contrôle j20



Contrôle j25



Contrôle j30



Contrôle j35



Contrôle j40



Contrôle j45

# Conclusion générale

Le travail présenté dans ce mémoire constitue une contribution à l'étude de la composition chimique et des activités antifongiques *in vivo* sur les fruits de poires, des huiles essentielles et des hydrolats de trois plantes médicinales de la famille des *Astéracées*, provenant de l'Ouest Algérien: *Anacyclus valentinus*, *Carthamuscaereleus*, *Chrysanthemum coronarium*, ainsi qu'l'évaluation de leurs effets synergique. Ces plantes sont connues pour leurs multiples effets et traditionnellement utilisées pour traiter les affections courantes.

L'objectif principal de ce présent travail est d'évaluer la capacité de ces trois extraits d'huiles essentielles et des hydrolats des plantes étudiées afin de limiter les maladies causées par les champignons. Nous avons choisi *Penicillium expansum*, souche fongique qui infecte généralement les fruits dans les locaux de conservation.

À cet effet, nous avons effectué une quantification et une identification des constituants contenus dans les métabolites secondaires des deux espèces *Anacyclus valentinus* et *Chrysanthemum coronarium*. En effet, la caractérisation chimique des parties aériennes de *Chrysanthemum coronarium* a révélé la présence desprincipaux composants des huiles essentielles de type Camphre, E-β-Farnesène, Cis-3-Hexenylénzoate, Germacrène-D. Quant à *Anacyclus valentinus*, la partie aérienne de cette plante est très riche en E-β-Farnesène, Caryophyllène oxyde, (Z, Z)-Farnésal.

Le suivi biologique des fruits de poires contaminées (effet protecteur) et des poires non contaminées (effet préventif) a montré que les extraits agissent variablement et positivement sur les moisissures.

Toutefois, l'évaluation des résultats obtenus a révélé que les extraits des huiles essentielles de Anacyclus valentinus et Chrysanthemum coronarium, et leur effets synergiques c'est à dire le mélange des deux extraits d'huile avec un rapport 50/50, indique une très importante activités antifongique vis à vis de la maladies des fruits de poires causées par la souche Penicillium expansum lors de la conservation; tandis que les hydrolats des trois plantes étudiées Anacyclus valentinus, Chrysanthemum coronarium et Carthamus caereleus, ainsi que le mélange des deux hydrolats Anacyclus valentinus et Chrysanthemum coronarium toujours avec un rapport 50/50, ont montré une plus forte activité antifongique par rapport à celles des huiles essentielles pour les poires contaminé (effet protecteur) et surtout l'hydrolat de Carthamus caereleus. Ainsi une conservation intéressante aussi pour les poires non contaminées mais faible par rapport aux huiles essentielles.

Nous avons donc tourné un regard vers une gestion naturelle post-récolte des fruits de poires en utilisant les huiles essentielles et les hydrolats des plantes médicinales, dans l'objectif d'une synergie c'est-à-dire de pouvoir augmenter l'effet antifongique de ces extraits afin de

trouver une solution face au grand problème de résistance. Ce résultat s'est avéré positif car nous avons bel et bien obtenue cette synergie.

Bien que l'ensemble des résultats obtenus nous aient permis de contribuer à la valorisation des trois plantes: *Anacyclus valentinus* et *Chrysanthemum coronarium*, *Carthamus caereleus* il serait intéressant de détailler ce travail par :

- ➤ Une étude approfondie, pour appliquer ces résultats à l'échelle industrielle comme les industries agro-alimentaire vue les résultats très intéressant obtenues.
- ➤ Il serait aussi intéressant de faire un fractionnement des huiles essentielles et des extraits des hydrolats les plus actives pour déterminer le ou les constituants responsables de cette activité.
- L'étude de toxicité de ces huiles et hydrolats permettrait, également, déterminer l'indexe de toxicité de ceux-ci, afin d'avoir une vision complète sur la possibilité de leur utilisation entant que fongicide naturelle.
- Evaluation du synergisme antifongique des huiles essentielles et des hydrolats des deux plantes *Anacyclus valentinus* et *Chrysanthemum coronarium* avec d'autres proportions.

# Références bibliographiques

- [1]. Palazón, I. Palazón, C. Robert, P. Escudero, I. Munôz, M. Palazón, M. Estudio de los problèmes de la conservación de peras y manzanas en la provincia de Zaragoza. *Diputación Provincia IZaragoza Publicitaión no. 990, Institución Fernando El Católico.*, **1984**, (68).
- [2]. Bondoux, P. Maladies de conservation des fruits à pépins : pommes et poires. Paris : INRA, PHM, Rev. Hortic., 1991, (173).
- [3]. El Hassani, N. Influence des traitements chimiques au Drencher surl'incidence des pourritures à *Penicillium expansum* sur poires enconservation : Mémoire 3e cycle agronomie (option phytopathologie), I A V H, Rabat., **1992**, (176).
- [4]. Maouni, A. Lamarti, A. Douira, A. Badoc, A. Effet des dérivéscalciques sur le développement de moisissures lors de la conservation des poires. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 2001,(140), 79-88.
- [5]. Adebayo, C. O.Aderiye, B. L.Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods: Research Journal of Microbiology.,2010,(5), 1070-1082.
- [6]. Nagendra Prasad, M. N.Shankara Bhat, S. E.T. Sreenivasa, M. Y. Antifungal activity of essential oils against *Phomopsis azadirachtae*: the causative agent of die-back disease of neem: Journal of Agricultural Technology., **2010**, (6), 127-133.
- [7]. Serrano, M. A. Martı'nezRomero, D.Guille'n, F.Valverde, J. M. Zapata, P.J. Castillo, S. Valero, D.The addition of essential oils to MAPas a tool to maintain the overall quality of fruits: Trends in Food Science & Technology., **2008**, (19), 464-471.
- [8]. Quezel, P. Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales: Centre national de la recherche scientifique : France 2. 1963.
- [9]. Bekkouche, A. Etude ethnobotanique et chimique d'une plante médicinale *xanthium* strumarium. 2007.
- [10]. Gaussen, L. Précis de botanique Végétaux supérieurs: Elsevier, Masson., 1983.
- [11]. Benguerba, A.Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espece *inula crithmoides*, L. Algérie., 2008.
- [12]. Van Agtmael, M. A. Eggelte, T. A. Van Boxtel, C. J. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication: *Trends Pharmacol*, *Sci.*, 1999, (20), 199-205.
- [13]. Barkely, T. M. Brouillet, L. Strother, J.L. Flora of North America: *Asteraceae*. 2006, (19), 3-69.
- [14]. Ozenda, P. Flore ET végétation du Sahara: 3ème édition, CNRS, Paris.1991, (626).

- [15]. ESCOP Monographs. The scientific foundation for herbal medicinal products: 2 ème édition, Thieme: Exeter and London UK., 2003.
- [16]. Grieve, M.A. Modern Herbal: Dover Publications, Inc, a New York.1979.
- [17].Polo sky, Z.21st Century Homestead: Biological Pest Control: 1st Edition, Lulu. 2015, (176).
- [18]. Sérier, J. B.Le guayule *Parthenium argentatum*: son intérêt économique, sa culture, l'extraction et les propriétés de son caoutchouc. Revue Générale du Caoutchouc et des Plastiques., 1979, (56),75-85.
- [19]. Gaussen, H. Leroy, F. Précis de botanique (Végétaux supérieurs) : 2ème édition. 1982, 424-426.
- [20]. Fournier, P.Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Ed, LE CHEVALIER., 1947,176-178.
- [21]. Jean François Léger. Noms vernaculaire des taxons de la BDTFX. In: *Téla Botanica*: Fiche de la Flore d'*Anacyclus valentinus*. 2007.
- [22]. Maiza, K. Brac de la perrière, R. A. Hammiche, V. Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. In: Schroder, E. Balansard, G. Cabalion, p. Fleurentin, j. Mazars, G. Médicaments et aliments: L'approche ethno pharmacologique. Actes du 2<sup>ème</sup> colloque Européen d'Ethnopharmacologie et de la 11 éme conférence internationale d'Ethnomédecine. Heidelberg., 1993, 169-171.
- [23]. Julve, P.H.Ff Baseflor: Index botanique, écologique et chronologique de la Flore de France., 2015.
- [24]. Hamzi, Belhadj. Contribution a l'étude de l'activité antifongique des polyphénols extraits d'une plante médicinale (*Anacyclus valentinus*) ph. 2008.
- [25]. Harald, G.Comparative phytochemistry and systematics of *Anacyclus*: Biochemical systematics and ecology. 1978, (6), 11-17.
- [26]. Hacheimi, I. Kadi, O. Effet de l'extrait aqueux de l'Anacyclus valentinus sur le cholesterol.2009.
- [27]. Bowles, V.G. Mayerhofer, R. Davis, C. Good, A.G. Hall, J.C.A. Phylogenetic investigation of *Carthamus* combining sequence and microsatellite data: Plant systematics and evolution. 2010, (287), 85-97.
- [28]. Boullard, B.Plantes médicinales du monde (réalité et croyances). ESTEM, ISBN., 2001, 515-516.
- [29]. Miolane. Encyclopédie universelle de 15000 plantes et fleurs de jardin: Larousse ISBN., 2004.

- [30]. Hammadi, F. Boudif, K. Djouab, A. Allane, T. Benmounah, A.
- Benamara, S. Phytothérapie clinique : caractérisation d'une préparation semi solide traditionnelle anti brulure. Phytothérapie, France., **2014**, 1-7.
- [31]. Supertoinette.com.https://www.supertoinette.com, Santé, régime : propriétés du Chrysanthème., 2001-2019.
- [32]. Miller, P.H. Dictionnaire des jardiniers. Volume 4, Guillot, Paris. 1785, (439).
- [33]. Flann, C. Greuter, W. Hind, D. J. N. Cassini's Compositae genera: A nomenclatural and taxonomic assessment; Taxon. 2010, (59), 1206–1244.
- [34]. Sell, P. Murrell, G. Flora of Great Britain and Ireland, *Campunulaceae- Asteraceae*., 2006.
- [35]. Beniston, NT.WS. Fleurs d'Algérie., 1984.
- [36]. Zheng, C. H. Kim, T. H. Kim, K. H. Leem, Y. H. Lee, H. J. Characterization of potent aroma compounds in *Chrysanthemum coronarium L*: (Garland) using aroma extract dilution analysis. *Flavour Fragr. J.* **2004**, (19), 401-405.
- [37]. Bardaweel, S. K.Hudaib, M. M.Tawaha, K. A.Bashatwah, R. M. Studies on the *in vitro*antiproliferative, antimicrobial, antioxidant, and acetylcholinesterase inhibition activities associated with *chrysanthemum coronarium* essential oil. *Evid Based Complement; Altern. Med. ECAM.*, 2015.
- [38]. Paris, M. Hurabielle, M. Abrégé de matière médicale (pharmacognosies) Tome. Ed. Masson. 1981, (339).
- [39]. Durraffourd, C. D'Hervicourt, L. Lapraz, J. C. Cahiers de phytothérapie clinique.1. Examens de laboratoires galéniques: Eléments thérapeutiques synergiques. 2 ème éd. Masson, Paris., 1990.
- [40]. Salle, J.L. Pelletier, J. les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction a la sympathicothérapie. Ed. Frison Roche., 1991, 19-45.
- [41]. Bruneton, J. pharmacognosie, phytochimie, plantes, plantes médicinales: 3 éme édition, Ed. TEC ET DOC; Paris. 1999.
- [42]. Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. Idaomar, M. Biological effects of essential oils a review: Food Chem. Toxicol., 2008, (46), 446–475.
- [43]. Sivropoulo, A. Kokkini, S. Lanaras, T & Arsenakis, M. Antimicrobial Activity of Mint Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, **1995**, (43), 2384-2388.
- [44]. Mangena, T. Muyima, N. Y. O.Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils:Lett. Appl. Microbiol., 1999,(28), 291-29.

- [45]. Butterfield, D. Lauderback, C. Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide, associated free radical oxidative stress Free Radic. Biol. Med., 2002, (32), 1050-1060.
- [46]. Khattabi, A. Rhalem, N. Chabat, A. Skali, S. § Soulaymani Bencheich, R. Plantes toxiques: définition et classification toxicologique Maroc. 2010, (2), 3-4.
- [47]. Smith, C. K. Moore, C. A. Alahi, E.N. Smart, Â.T. Hotchkiss, S.A. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol; ToxicoS. Appl. Pharmacol., 2000, (168), 189-99.
- [48]. Wang, G. Li, X. Huang, F. Zhao, H. Ding, H. Cunningham, C. Coad, J. E. Fiynn, D.C. Reed, E. Li, Q.Q. Antitumor effect of p-elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic ceil death. Cell. Mol. Life Sci.,2005, (62), 881-893.
- [49]. Franchomme, P. Phénoel, D. L'aromathérapie exactement .R. J. Editeur. Limoges., 1999.
- [50]. Couic Marinier, F. Lobstein, A. les huiles essentielles gagnant du terrain a l'officine, actualités pharmaceutiques.2013, (52), 18-21.
- [51]. Price, L. Price, S. Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy. *Churchill Livingstone.*, **2004**, (294).
- [52]. L'équipe d'experts en aromathérapie de la compagnie des sens. <a href="https://www.compagniedes-sens.fr">https://www.compagniedes-sens.fr</a>.
- [53]. Boyraz, N. Ozcan, M. Antifungal effect of some spice hydrosols; Fitoterapia. 2005. (76), 661–665.
- [54]. Inouye, S. Takizawa, T. & Yawamagushi, H. Antibacterial activity of essential oils and their majors constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact: *J. Antimicrob; Chemother.*, 2001, (47), 565-573.
- [55]. Tornuk, F.Cankurt, H. Ozturk, O. Sagdic, O. Bayram, O. Yetim, H.Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli O*157:H7 and *Salmonella Typhimurium*on fresh cut carrots and apples: *Int. J. Food Microbiol.* **2011**, (148), 30-35.
- [56]. Wojcik stopczynska, B. Jakoweinko, P. The estimation of antifungal activity of essential oil and hydrosol obtained from wrinkled-leaf mint (*Menthacrispa* L) *Herbapolonica*.**2012**, (1), 6-15.
- [57]. Acheampong, A.Borquaye, L. S.Acquaah, S. O. Osei-Owusu, J. Tuani, G. K. Antimicrobial Activities of Some Leaves and Fruit Peels Hydrosols. *Internation Journal of Chemical and Biomolecular Science.*, 2015, (3), 158-162.

- **[58].** Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review: *International Journal of Food Microbiol.* **2004**,(94), 223-253.
- [59]. Sagdic, O. Ozcan, M. Antibacterial Activity of Turkish Spice Hydrosols; *Journal of Food Contro.* 2003, (14), 141-43.
- **[60].** Aydin, S. Seker, E. Effect of an aqueous distillate of *Origanum onites* L on isolated rat fundus, *duodenum* and *ileum*: Evidence for the role of oxygenated

Monoterpenes. *Pharmazie*. **2005**, (60), 147-150.

- [61]. Philippe,K. Jean Pierre, M. Laurence, D. Le monde mystérieux des cochenilles. 1998, 201-206.
- [62]. Bondoux, P. Bompeix, G. Morgat, F. Viard, P.Les principales pourritures des pommes et des poires en conservation. INVUFLC., 1969, (76).
- [63]. Cardoso, P.G. Queiroz, M.V. Pereira, O.L.Araùjo, E.F. *Journal brésilien de microbiologie*. **2007**, 38(1),71-77.
- **[64].** Andersen, B.Smedsgaard, J.Frisvad, J.C.*Penicillium expansum*: production constant de patuline, de chaétoglobosines et d'autres metabolites secondaires en culture et leur presence naturelle dans les produits à base de fruits.**2004**, (52), 2421-8.
- [65]. Xavier, G. Tavelure: pommier, poirier. www.gerbeaud.com. 2018.
- [66]. Poirson, C. lateur, M. Rondia, A. (CRA-W) & Brunehaut, G. (CRRG). Les principales maladies et ravageurs des arbres fruitiers. 2003.
- [67]. Guy, F. Pierre, A. Didier, C. François, F. A. Etude de l'évolution des insectes auxiliaires et de leurs relations avec le psylle du poirier et l'acarien rouge dans deux vergers du Sud-Est de la France., 1981, (815).
- [68]. Groupement des Agriculteurs Biologiques du Nord Pas-de-Calais. Mieux connaitre l'anthonome du poirier, un ravageur atypique.2002.
- [69]. Service canadien des forêts. Thrips du poirier. 2015, (20).
- [70]. Elisabeth, K. Livre « Es environnement ». 2014, (480).
- [71]. Maude le Corre. Réussir Fruits & légumes, Le bupreste du poirier (www.reussir.fr).2017.
- [72]. Mario, Clotilde, Alexis. Les maladies du poirier. www.cmonjardinier.fr.2004.
- [73].Lis Balchin, Lavender. The genus lavandula: Taylor and Francis, London. 2002, (37), 155-200.
- [74]. Croteau, R. Ketchum, R. E. Long, R.M.Kaspera, R.Wildung, M. R. Taxol biosynthesis and molecular genetics. *Phytochem. Rev.* **2006**, (5), 75-97.

- [75]. Kordali, S. Cakir, A. Akcin, T. A. Mete, E. Akcin, A.A ydin, T. Kilic, H. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor and *Achillea biebersteinii* Afan: (*Asteraceae*). *Ind. Crop Prod.* **2009**, (29), 562-570.
- [76]. Kilani, S.Bouhlel, I. Ben Ammar, R. Ben SghairSkandrani, I. Boubaker, J. Mahmoud, A.Dijoux Franca, M.G.Ghedira, K.ChekirGhedira, L. Chemical investigation of different extracts and essential oil from the tubers of (Tunisian) *Cyperusrotundus*: Correlation with their antiradical and antimutagenic properties.
- Ann. Microbiol. 2007,(57), 657-664.
- [77]. Clevenger, J.F. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, Vol. **1928**, (17), 336-341.
- [78]. St-Gelais M. S. A. Les-analyses-par-GC-partie-VIII-l'analyse- d'hydrolats. 2015.
- [79]. Salzer, U.J. The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings, acritical review .C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and nutrition. 1977, (9), 345-373.
- [80]. Tabet Zatla, A. Dib, M.A. Djabou, N. Ilias, F. Costa, J. & Muselli, A. Antifungal activities of essential oils and hydrosol extracts of Daucus carota subsp. Sativus for the control of fungal pathogens, in particular gray rot of strawberry during storage, *Journal of Essential Oil Research*. 2017, (29), 391-399.
- [81]. Muanza. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège., Vol. 2012, (81), 4-21.
- [82]. Muller-Riebau, F. Berger, B.Yegen, O. "Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995, (43), 2262–2266.
- [83]. Adam, K. Sivropoulou, A. Kokkini, S. Lanaras, T. Arsenakis, M. Antifungal activities of *Origanum vulgar* subsp. *Hirtum, Mentha spicata, Lavandula angustifolia* and *Salvia fruiticosa* essential oil against human pathogenic fungi, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1998, (46), 1739–1745.
- [84]. Moretti, M.D. Peana, A.T. Franceschini, A. Carta, C. *In vivo* activity of Salvia officinalis oil against *Botrytis cinerea*: *Journal of Essential Oil Research*. 1998, (10), 157–160.
- [85]. Deferera, D.J. Ziogas, B.N. Polissiou, M.G. "GC-MS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Pennicillium digitatum*", *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **2000**, (48), 2576–2581.
- [86]. Rakotonirainy, M.S. Lavedrine, B. "Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas", *International Biodeterioration and Biodegradation*. **2005**, (55), 141–147.

[87]. Dorman, H.J.D. Deans, S.G. antimicrobial agent s from plants: Antibactérial Activity of plant volatile oils, *J Appl Microbiol.* **2000**, (88), 308-316.