

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

جامعة غرداية

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



كلية علوم الطبيعة والحياة
وعلوم الأرض

Département des Sciences
Agronomiques

Université de Ghardaïa

قسم العلوم الفلاحية

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Master académique en Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux
Présentée par : DAHOU Fatima Zohra Cherifa

THEME

Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* L, sur
l'activité bactérienne et fongique

Membres du jury	Grade		
KEMASSI Abdellah	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaïa	Président
MEHANI Mouna	Maitre de conférences A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
SALHI Nasrine	Maitre de conférences A	U.K.M. Ouargla	Co-encadreur
BELGHIT Said	Maitre de conférences B	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Ce travail a été entièrement réalisé au laboratoire de microbiologie d'université de Ghardaia et laboratoire de Bioressources saharienne à Ouregla.

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes profondes reconnaissances et à remercier : à

Mme. MEHANI Mouna, Maître de conférences A au Département des Sciences Agronomique -Université de Ghardaïa qu'a accepté de m'encadrer, je la remercie infiniment pour son aide, ses orientations, sa patience et sa Correction sérieuse de ce travail.

Melle. SALHI Nasrine, Maîtres de conférences A au Département des Sciences Biologique Laboratoire Bioressources sahariennes-Université Kasdi Merbah -Ouargla,

Pour la co- direction, pour son aide scientifique et de ses conseils.

Mr. KAMASSI Abdellah , Maître de conférence A au Département des Sciences Biologique -Université de Ghardaïa, pour avoir accepté de présider ce jury.

Mr. BELGHIT Said, Maître de conférences B au Département des Sciences Biologique - Université de Ghardaïa, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse mes remerciements à Mme. HAMDANE Imane, pour son aide à ce travaille.

En fin je remercie tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, sans oublier les Amies et toutes les équipes du laboratoire et les étudiants de la promotion protection des Végétaux 2016/2017.

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents : Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux,

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes chères grandes mères

A ma chère sœur Meriem

A la famille Dahou et Saidi

A mon fiancé Mohamed Walid et sa famille

Ils vont trouver ici l'expression de mes sentiments de respect et de reconnaissance pour le soutien qu'ils n'ont cessé de me porter.

A tous mes professeurs : Leur générosité et leur soutien m'oblige de leurs témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

A tous mes amis et mes collègues : Affaf, Samiha, Zineb, Souad, Hadjer, Rabiha, fatima, fatiha, Sasia Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau n 01	Activités biologiques de certains composés terpéniques	09
Tableau n 02	Verreries et appareillages, milieux de culture ainsi que solvants utilisés.	12
Tableau n 03	Valeurs des dilutions utilisées	24
Tableau n 04	Diamètres (mm) des zones d'inhibition <i>d'Eucalyptus camendulensis</i> .	28

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure n 01	Formule chimique de l'isoprène	07
Figure n 02	Limite administratives de la wilaya de GHARDAIA	11
Figure n 03	Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri	17
Figure n 04	Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i>	21
Figure n 05	Protocole expérimental de l'essai d'activité antifongique d'huile essentielle D' <i>Eucalyptus camendulensis</i>	26
Figure n 06	Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> Sur la Croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i>	30
Figure n 07	Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> Sur la Croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i>	31
Figure n 08	Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> sur la croissance mycélienne finale de <i>Fusarium graminearum</i> et <i>Fusarium culmorum</i>	32
Figure n 9	Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> sur le taux d'inhibition Chez <i>Fusarium graminearum</i> et <i>Fusarium culmorum</i>	33
Figure n 10	Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulencis</i> sur la vitesse de la croissance mycélienne du <i>Fusarium graminearum</i> et <i>Fusarium culmorum</i>	35

Liste des photos

Photo	Titre	Page
Photo n 01	plante d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> à la région de Ghardaïa	13
Photo n 02	Feuilles d' <i>Eucalyptus camendulensis</i>	13
Photo n 03	Montage d'hydrodistillateur	16
Photo n 04	Boîtes pétri coulées en milieu de culture	17
Photo n 05	Inoculum des bactéries	17
Photo n 06	Méthode d'ensemencement	19
Photo n 07	Dépôt des disques	20
Photo n 08	Souche fongique <i>Fusarium graminearum</i>	20
Photo n 09	Souche fongique <i>Fusarium culmorum</i>	21
Photo n 10	Dépôts des disques mycéliens	24
Photo n 11	Morphologie de la croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i> après 07 jours d'incubation	29
Photo n 12	Morphologie de la croissance mycélienne <i>Fusarium culmorum</i> après 07 jours d'incubation	34

Liste des Abréviations

Abréviation	Signification
B	Bactérie
C°	Degré Celsius
CMI	Concentration minimal inhibition
Ec	<i>Eucalyptus camendulensis</i>
En	<i>Enterobacter cloacae</i>
Eph	Eau physiologique
h	heure
HE	Huile essentielle
IA	Indice antifongique
min	Minute
Mbp	Migabase picogramme
MH	Muller-Hinton
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PDA	Potatoes Dextrose Agar
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>
Sb	<i>Staphylococcus blanc</i>
Sv	<i>Staphylococcus vitilincus</i>
T	Témoin
TI(%)	Taux d'inhibition
VC	Vitesse de croissance

Table des Matières

Introduction	1
Chapitre I: synthèse bibliographique	
1. Plantes médicinales	3
1.1. Définitions	3
1.2. Historique.....	3
1.2.1. Dans le monde.....	3
1.2.2. En Algérie.....	4
1.3. présentation d'Eucalyptus	4
1.3.1. Systématique d'Eucalyptus.....	5
1.3.2. Description botanique d'Eucalyptus.....	5
1.3.3. Huile essentielle d'Eucalyptus.....	6
1.3.4. Propriétés biologiques d'Eucalyptus.....	6
1.3.5. Propriétés médicinales d'Eucalyptus	6
1.3.6. Propriétés pharmacologiques d'Eucalyptus.....	7
1.3.7. Usage des huiles essentielles d'Eucalyptus	7
2. Huiles essentielles	7
2.1. Définition.....	7
2.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante	7
2.3. Composition chimique des huiles essentielles.....	8
Chapitre II : Matériel et méthodes	
1. Matériels.....	11
1.1. Présentation de la région d'étude.....	11
1.2. Matériel et produits de laboratoire	12
1.3. Matériel végétale.....	12
1.3.1. Choix du matériel végétal.....	13
1.4. Matériel biologique.....	14

1.4.1. <i>Staphylococcus vitulinus</i>	14
1.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.4.3. <i>Staphylococcus blanc</i>	14
1.4.4. <i>Enterobacter cloacae</i>	15
2. Méthodes.....	15
2.1. Protocole d'extraction d'huiles essentielles.....	15
2.1.1. Extraction d'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camendulensis</i>	15
2.1.1.1. Dispositif d'extraction par hydrodistillation type Clevenger.....	15
2.1.1.2. Conservation d'huile essentielle obtenue.....	16
2.1.1.3. Détermination d'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	16
2.2. Technique en milieu solide.....	16
2.2.1. Méthode d'aromatogramme.....	16
2.2.1.1. préparation de milieu de culture MULLER-HINTON.....	17
2.2.1.2. Préparations de l'inoculum.....	18
2.2.1.3. Ensemencement.....	19
2.2.1.4. Préparation des disques.....	19
2.2.1.5. Incubation et Lecture.....	22
2.3. Teste antifongique.....	22
2.3.1. Souches fongiques étudiées.....	22
2.3.1.1. <i>Fusarium graminearum</i>	22
2.3.1.2. <i>Fusarium culmorum</i>	23
2.3.2. Activité antifongique.....	24
2.4. Expression des résultats.....	27
2.4.1. la croissance mycélienne.....	27
2.4.2. Détermination le Taux d'inhibition (%).....	27
2.4.3. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC).....	27
 Chapitre III : Résultats et Discussion	
1. Résultats.....	28

1.1. Activité antibactérien	28
1.1.1.Sensibilité des bactéries à l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i>	28
1.2. Activité antifongique	29
1.2.1. Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> sur <i>Fusarium graminearum</i>	29
1.2.2. Effet d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camendulensis</i> sur <i>Fusarium culmorum</i>	30
1.2.3. Effet de différentes concentrations des huiles essentielle sur la croissance mycélienne.	31
1.2.3.1. Taux d'inhibition (TI%).....	32
1.2.3.2. vitesse de croissance mycélienne.....	34
2. Discussion.....	35
Conclusion	38
Références bibliographiques	40
Annexes	49

Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur l'activité bactérienne et fongique

Résumé

L'objectif de notre étude est de tester l'huile essentielle des feuilles de la plante *Eucalyptus camendulensis*, extraites par la méthode d'hydrodistillation comme des biobactéricides et biofongicides.

L'efficacité d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* pour différentes concentrations (5, 2.5, 1.25 μ l), sur quatre souches bactériennes à savoir (*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc* et *Enterobacter cloacae*), et à des concentrations (60, 120, 240 μ l), sur deux souches fongiques à savoir : *Fusarium graminearum* et *Fusarium colmurum*, est estimée par la détermination du taux d'inhibition des bactéries et des champignons testés.

Les résultats montrent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* possède une faible activité contre les souches bactériennes avec les différentes concentrations, dont les diamètres d'inhibition ne dépassent pas (5mm), par contre il a un bon effet antifongique par ce qu'elle a montré une dose inhibitrice totale de 240 μ l.

Mots clés : *Eucalyptus camendulensis*, Huile essentielle, Activité antibactérienne, Activité antifongique, Extraction.

Effect the essential oil of *Eucalyptus camendulensis* on bacterial and fungal activity

Abstract

The aim of our study is to test the essential oil of the leaves of the plant *Eucalyptus camendulensis*, it was extracted by the hydrodistillation method as bio bactericides and bio fungicides.

The effectiveness of each essential oil of *Eucalyptus camendulensis* at different concentrations (5, 2.5, 1.25 μ l), on four bacterial strains belongs to : (*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc* and *Enterobacter cloacae*), and has concentrations (60, 120, 240 μ l), on two the fungal strains belongs to: (*Fusarium graminearum* et *Fusarium colmurum* was estimated by determining the rate of growth inhibition of bacteria and the fungus tested.

Our study indicates the lowliness activity of essential oil of *Eucalyptus camendulensis* against bacterial strains with all different concentrations, in which inhibition diameter do not exceed (5 mm), However a good antifungal effect manifested by the total inhibitory dose of 240 μ l.

Key Words : *Eucalyptus camendulensis*, Essential oil, Antibacterial activity, Antifungal activity, Extraction.

تأثير الزيت الأساسي لنبات الكاليتوس *camendulensis* على النشاط البكتيري و الفطري

الملخص

نهذف خلال دراستنا من استخدام الزيت الأساسي المستخلص من أوراق نبات الكاليتوس *camendulensis* بواسطة التقطير البخار إلى كيفية تأثيرها كمبيدات حيوية ضد بعض من أنواع البكتيريا والفطريات الممرضة.

تم إختبار الزيت الاساسي لنبات الكاليتوس *camendulensis* بتركيز مختلفة (1.25, 2.5, 5) على أربع سلالات بكتيرية و المتمثلة في : (*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*), (*Enterobacter cloacae*) وبتراكيز (60, 120, 240 µl) على نوعين من الفطريات و المتمثلة في : *Fusarium colmurum*, *Fusarium graminearium*. تم تقدير فعالية كل تركيز من خلال قياس النمو القطري عند نبتة الكاليتوس *camendulensis* ثم حساب نسبة تثبيط نمو كل من البكتيريا و الفطريات.

أظهرت النتائج أن الزيت الأساسي لنبتة الكاليتوس *camendulensis* لديه نشاط ضعيف ضد السلالات الأربع من البكتيريا مع جميع التراكيز المختلفة موضحة بنسبة تثبيط لا تتجاوز 5 مم، بالمقارنة مع النشاط المضاد للفطريات فنجد فعالية تامة عند التركيز 240 µl.

الكلمات الدالة : *camendulensis* الكاليتوس، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، استخلاص

Introduction

Introduction

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

Un grand nombre de plantes (aromatiques, médicinales des plantes-épices et autres) Possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent dans divers domaines, à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et agriculture. Cependant l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine et les traditions médicinales folkloriques, ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Teixixeira, 2004).

Les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex: bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme (Khiati, 1998).

Les plantes peuvent être contaminés par nombreux pathogènes fongiques, tel que *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Fusarium*; l'origine de cette contamination est difficile de préciser (champ, transport, lieu de stockage...). Selon Molinie et Pfohl-Leskowicz, l'origine est mal connue, mais les spores disséminées par l'air peuvent provenir du champ ou de la poussière présente dans les infrastructures de stockage (Molinie *et al.*, 2013).

La médecine par les plantes est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies (Belkacem, 2009).

Le traitement à base de plante, revient au premier plan car également utilisées pour leur propriété antibactérienne et antifongique. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale (Belkacem, 2009).

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux plus anciennes civilisations : tous d'abord dans l'orient et le moyen orient et par la suite au Nord d'Afrique et en Europe (Franchomme *et al.*, 1990). Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressants en raison de son efficacité et d'application facile et pratique, l'utilisation des produits chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les moisissures nuisibles (Magan *et al.*, 2004). Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces produits a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cibles telles que la faune auxiliaire et l'apparition des microorganismes résistants. Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire l'usage de certains fongicides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche (Khelil, 1977).

Pour cela, le retour vers la nature est devenu indispensable et doit suivre certaines conditions en vue de son utilisation dans le monde vaste des anti-infectieux, qui s'élargit d'un jour à l'autre avec des substances plus puissantes, plus toxiques et plus coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle de l'activité antimicrobienne des différents extraits naturels (Benzeggouta., 2004).

Notre recherche vise à étudier l'activité biologique ainsi que l'activité fongique d'huile essentielle de la plante médicinale *Eucalyptus camendulensis* choisie en fonction de leur caractéristique thérapeutique en médecine traditionnelle. L'objectif de ce travail est de déterminer le pouvoir antimicrobien et antifongique de diverses concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur quatre espèces bactériennes et deux souches fongiques.

Notre travail est réparti en deux parties :

- Une partie relative à une synthèse bibliographique sur la plante d'*Eucalyptus camendulensis*.
- Une seconde partie sur l'étude expérimentale comprenant les méthodes et techniques utilisées puis la présentation des résultats obtenus et discussion.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Plantes médicinales

1.1. Définitions

Les plantes médicinales qui sont trouvées dans le Sahara par exemple: Vulnéraires *Panicumis turgidum*, *Antivenimeneux*, *cucumis pustulatus* et *Cleome arabica*...etc. Les parties utilisées sont respectivement les feuilles, les tiges, les fruits, les racines et les inflorescences (Ozenda., 1991).

Les plantes médicinales renferment de nombreux actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. (Institue Européenne des Substances Végétales., 2016).

1.2. Historique

1.2.1. Dans le monde

L'utilisation des plantes pour guérir les maladies ou la phytothérapie, a été connue depuis l'antiquité (Ibn khaldoun, 1958), dans son Introduction dit que «l'homme est le fils de son environnement », par conséquent l'homme serait influencé par les composantes de son environnement, cette influence s'appuie sur ses comportements, ses traditions sa culture etc... Et en plus, l'homme se trouve obligé d'utiliser les techniques et les ressources existantes autour de lui pour subvenir à ses besoins. Cependant, à l'antiquité, les techniques étaient inexistantes mais en contre partie il y en a plusieurs ressources, qui ont servi les être vivants ; seul parmi eux, l'homme a songé qu'il existe des ressources qui s'épuisent ou non renouvelables. Parmi ces derniers nous trouvons les ressources végétales (notre souci), d'où avec son intelligence assignée par ses observations et ses hypothèses, l'homme et en particulier le savant a réussi de les régir ces à son profit, Et entre autre pour ses besoins sanitaires. Tous ça avaient contribué à dresser une longue histoire d'utilisation des plantes à des fins médicinales (Ref. Elec 01).

1.2.2. En Algérie

Selon (Mokkadem, 1999), l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques.

Chaque culture a une histoire d'utilisation des plantes médicinales pour guérir les maladies. En Algérie l'usage de plantes médicinales est une tradition de mille ans. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits au IX^{ème} siècle par Ishâ-BenAmran et Abdallah-Ben-Lounès né à Oran, et qui décrit l'usage de beaucoup de plantes médicinales, mais la plus grande production de livres a été réalisée au dix-septième et au dix-huitième siècle (Mokkadem, 1999).

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962 les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie a été publié en 1942 par Fourment et Roques où ils ont mentionné décrit et étudié 200 espèces. La plupart d'entre elles étaient du Nord de l'Algérie et seulement 6 espèces ont été localisées au Sahara (Baba Aissa, 1999 ; Beloued, 2005).

L'Algérie couvre une surface de 2,381.741 km² est c'est le deuxième plus grand pays d'Afrique après le Soudan. Deux chaînes montagneuses importantes, l'Atlas Tellien au Nord et l'Atlas Saharien au Sud, séparent le pays en trois types de milieu qui se distinguent par leur relief et leur morphologie, donnant lieu à une importante diversité biologique (Baba Aissa, 1999 ; Beloued, 2005).

1.3. Présentation d'*Eucalyptus*

La famille Myrtacée est une famille des plantes dicotylédones, elle est répartie en environ trois mille espèces réparties en 134 genres environ. Le genre *Eucalyptus* est endémique en Australie et en Tasmanie. Il est cultivé de nos jours dans quelques régions subtropicales d'Afrique, d'Asie, Chine, Inde, Indonésie et d'Amérique du Sud ainsi qu'en Europe méridionale et aux États-Unis (Bouamer, 2004).

Les espèces appartenant à ce genre sont utilisées pour assécher certaines zones marécageuses et se sont acclimatées à la région méditerranéenne, Son introduction en Algérie fut par les français en 1860, Pendant les années 60 à 70, le reboisement à base d'*Eucalyptus* ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et

l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (Belkou, 2005; Goet *et al.*, 2012).

1.3.1. Systématique d'*Eucalyptus*

Règne	: Plantae
Sous-règne	: Tracheobionta
Division	: Magnoliophyta
Classe	: Dicotylédones
Ordre	: Myrtales
Famille	: Myrtaceae
Genre	: <i>Eucalyptus</i>

Le nom vernaculaire : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont utilisés dans différentes régions.

1.3.2. Description botanique d'*Eucalyptus*

Plantes ligneuses de toutes tailles, de l'arbrisseau au géant du règne végétal, pouvant atteindre 100 mètres dans leurs pays d'origine (40 m environ pour *E. globulus*, 25 m environ pour *E. radiata*) Croissance rapide (plusieurs mètres par an) Arbres au feuillage persistant (Sandrine, 2006).

Les capsules florales sont insérées à l'aisselle des feuilles, au nombre de 7 à 11 ou plus. Sa culture est très répandue en raison de sa croissance rapide et sa tolérance pour les milieux salés. Il est utilisé principalement pour le bois d'œuvre et son ombrage (Gilles M, 2008).

1.3.3. Huile essentielle d'*Eucalyptus*

La famille Myrtacées comme d'autres familles de plantes médicinales, cette famille se caractérise par la richesse en huile essentielle.

Les *Eucalyptus* sont aussi extrêmement intéressants pour leurs tanins, résines et huiles essentielles que renferment les feuilles, les tiges et même l'écorce et qui ont des applications très importantes en médecine (Bigendako, 2004).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus* contient environ 70% en eucalyptol (1,8- cinéole) et ce dernier considéré comme un composé majoritaire dans plusieurs espèces d'*Eucalyptus* (*Eucalyptus viridis* et *Eucalyptus salubris*...etc (Sroka, 2005).

1.3.4. Propriétés biologiques d'*Eucalyptus*

L'huiles essentielles d'*Eucalyptus* est un antiseptique des voies respiratoires, expectorante, analgésique (Kehrl *et al.*, 2004), en usage interne et externe, décongestionnant, hypoglycémiant, une action détoxifiante des toxines diphtérique et tétanique, antimicrobien sur les bactéries Gram⁺, antifongique, anti-inflammatoire, améliore les épreuves fonctionnelles respiratoires, mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge, tropisme broncho-pulmonaire très marqué, asséchante en forte proportion (Kehrl *et al.*, 2004).

1.3.5. Propriétés médicinales d'*Eucalyptus*

Propriétés médicinales d'*Eucalyptus* sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. S'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme (Juergens, 2003), et pour combattre le rhume (Tesche *et al.*, 2008). Cette huile possède un effet rafraîchissant indéniable sur la température du corps. Elle est utilisée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques pour ses multiples vertus sur l'arbre respiratoire. Elle Facilite la dissolution et l'élimination des glaires bronchiques (balsamique, fluidifiant), anti-infectieux vis-à-vis des bactéries et virus. Antiseptique pour les voies urinaires, elle est aussi antirhumatismale, stimulante et tonifiante (Tesche *et al.*, 2008).

1.3.6. Propriétés pharmacologiques d'*Eucalyptus*

- L'effet antiseptique bactéricide est surtout lié à la présence du 1,8-cinéole.
- L'effet de l'huile essentielle est supérieur à celui du 1,8-cinéol utilisé seul.une partie d'huile essentielle est éliminée par le rein et la voie urinaire. Elle agit sur les *Escherichiae*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*...etc.
- L'effet expectorant est dû à une stimulation directe des cellules sécrétrices de la muqueuse bronchique.

- L'effet antispasmodique se vérifie dans son action antitussive (Boukef, 1986 ; Grover *et al.*, 2002; Tohidpour *et al.*, 2010).

1.3.7. Usage des huiles essentielles d'*Eucalyptus*

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques:

- Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance).
- Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs (Ormeno, 2007;Fouché *et al.*, 2008).

L'utilisation des huiles essentielles à base de menthe, de thym et d'Eucalyptus en inhalations ou sous forme de pommade; pour soigner un rhume provoqué par des virus rhinovirus, (Sandrine, 2006).

L'Eucalyptus est parmi les plantes médicinales (la mauve, la réglisse) qui ont montré une efficacité contre la toux. Les gens utilisaient également les feuilles pour aider à soulager la fièvre et divers autres maux. Elles sont également utilisées comme bois d'œuvre et de chauffage. Leurs huiles essentielles sont utilisées dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques pour la fabrication de différents produits (Sandrine, 2006).

2. Huiles essentielles

2.1. Définition

Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (Bruneton, 1999). La définition donnée par (Afnor, 2000), est la suivante : (les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche (Afnor, 2000).

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (Yahyaoui, 2005).

2.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae), dans des poiles sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae), dans des canaux sécréteurs (Astraceae). Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (Bergamotier, Rose,..) les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus,...), les racines (Vétiver), les rhizomes (Curcuma, Gingembre,...), les fruits (Anis, Badiane,...), le bois (Bois de rose, Santal,...), ou graines (Muscade,...) (Oussala, 2006). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (Belkou, 2005).

2.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont avant tout des composés terpéniques. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène (figure n 01).

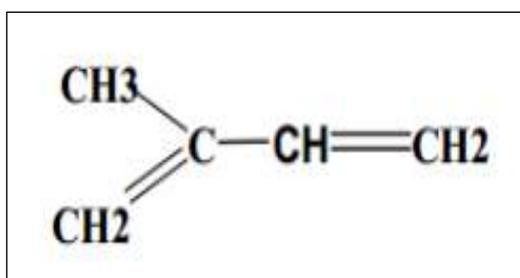


Figure n 01 : Formule chimique de l'isoprène (Benayad, 2008)

Selon le nombre de résidus isoprènes que groupent les composés terpéniques, On distingue :

- Terpènes simples, formés de deux isoprènes C₁₀H₁₆.
- Sesquiterpènes, formés de trois isoprènes C₁₅H₂₄.
- Di terpènes, formés de quatre isoprènes C₂₀H₃₂.
- Triterpènes, formés de six isoprènes C₃₀H₄₀.
- Tétraterpènes, formés de six isoprènes C₄H₄₈.

On trouve aussi les polyterpènes (n isoprènes) qui comprennent par exemple le caoutchouc et la gutta-percha (Benayad, 2008).

Les trois premiers groupes sont à l'origine de très nombreuses essences qui sont dotées de certaines activités résumées dans le tableau n 01 :

Tableau n 01 : Activités biologiques de certains composés terpéniques (Bekhechi, 2008).

Familles	Exemples	Propriétés
Hydrocarbure Aliphatique Mono terpènes	Limonène (carvi, pin), α et β -pinène (sapin)	Fongistatique Bactériostatique Insecticide Nématicide Antimutagenique Herbicide Stimulation général
Sesquiterpènes	Bisabolème, alpha humulème, bita-Caryophyllène (pin)	Calmants Anti-inflammatoire Antiallergique Antibactériens et antifongique
Phénols	Thymol (thym), Carvacrol (origan), Eugénol (clou de girofle)	Antioxydant Stimulantes Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Antivirale Antiparasitaires Irritantes
Alcool	Linalol (bois de rose), Gerniol (palmarosa)	Anti-inflammatoire Antiseptiques Bactéricides Fongicides
	Monoterpéniques,	Antivirale

Antiallergique	Menthol (menthe poivrée), Citronellol (citronnelle)	Immunostimulants Neurotoxiques
Alcool sesquiterpéniques	Bisabolol (matricaire), Viridiflorol (niaouli), Cadrol (cyprés)	Toniques et stimulants Généraux Décongestionnants veineux et lymphatiques
Aldéhydes Terpéniques	Citral (mélisse citronnée), Citronellal (citronnelle Eucalyptus citronne), Géraniale (verveine Citronnée)	Antifongique Sporicidas Insecticide Anti hypertensifs Anti-inflammatoire
Cétones	Carvone (carvi), Menthone (menthe poivrée), Camphre (romarin), Thuyone (sauge)	Calmantes Antivirales Antifongiques Neurotoxiques Antiépileptique Dépresseurs à dose élevées

(Bekhechi, 2008)

Chapitre II
Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

L'objectif de ce travail est de tester l'activité biologique de la plante *Eucalyptus camendulensis* sur des souches bactériennes et fongiques pathogènes.

1. Matériels

1.1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Ghardaïa à issue du dernier découpage administratif, est située à 600 km au Sud de la capitale d'Alger, (figure n 02) et s'intègre dans la partie septentrionale de la plateforme Saharienne aux portes du désert à 32° 30' de latitude Nord et à 3° 45' de longitude. (Agence Nationale de Ressources Hydrique, 2007).

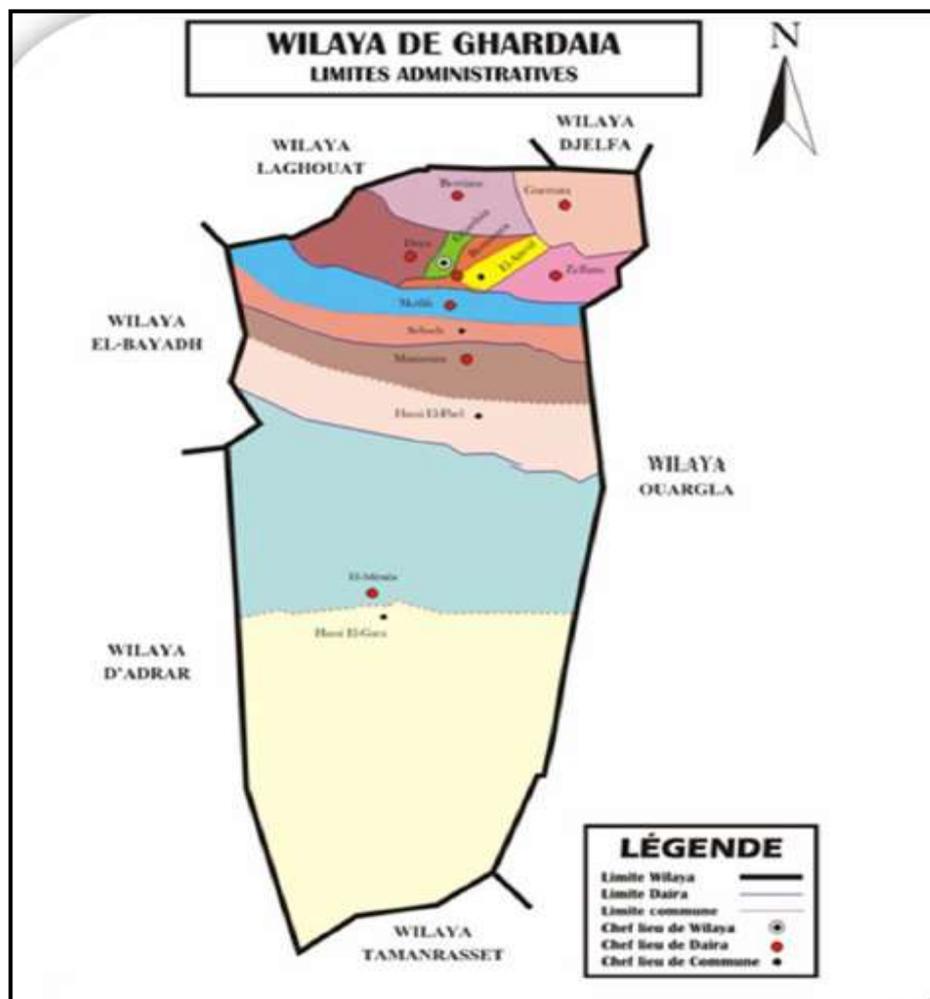


Figure n 02 : Limite administratives de la wilaya de Ghardaia (ATLAS, 2005).

Le territoire de la wilaya de Ghardaïa abrite 309.740 habitants répartis sur 86.560 Km² de surface, elle compte 9 daïras et 13 communes (Agence Nationale de Ressources Hydrique., 2007). Ses principales agglomérations sont Berriane, Guerrara, Ghardaïa, Zelfana, Metlili, Hassi F'Hel et El-Goléa (Zergoun, 1994). La wilaya du Ghardaïa est appelée le rôle de jonction entre la zone des hauts plateaux et le grand Sud (Ben Semaoune, 2008).

1.2. Matériel et produits du laboratoire

Les verreries et l'appareillage, les milieux de culture ainsi que le solvant utilisé au cours de la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau n 02 :

Tableau n 02 : verreries et 'appareillage, milieux de culture, solvants utilisés au laboratoire

verreries et appareillage	milieux de culture	solvant utilisés
Ampoule à décanter Autoclave Ance stérile Balance analytique Béchers Boîtes de pétri Erlenmeyer Epindrofes stériles Etuve de 37°C et 25°C Hydrodistillateur Hotte Pipettes pasteur Pince à platine Réfrigérateur Tubes à essai	Gélose Mueller Hinton (MH) Gélose pomme de terre glucosée et gélosée (PDA)	Eau distillée Eau physiologique

1.3. Matériel végétale

Pour la présente étude, il est utilisé comme matériel végétal l'*Eucalyptus camendulensis* récoltés à Ghardaïa, en date 2017, l'âge des arbres est presque 14 ans.

L'identification de cette essence a été réalisée à l'Institut National de Recherche Forestière de Bainem (INRF) Algérie. Les échantillons de l'essence forestière ont été cueillis au printemps, durant les mois Mars et Avril. La récolte a été réalisée le matin, elle concerne seulement les feuillettes d'arbre adultes choisis au hasard.

Les feuilles fraîchement récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante du laboratoire de recherche Génie des Procédés à la faculté des sciences de la technologie et sciences de la matière à l'université de Kasdi Merbah Ouargla. Elles sont conservées dans des sacs propres pour éliminer toutes impuretés.



Photo n 01 : plante d'*Eucalyptus camendulensis* à la région de Ghardaïa

1.2.1. Choix du matériel végétal

Le matériel ou l'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par les feuilles sèches d'*Eucalyptus camendulensis*. Parmi les critères de choix de cette plante, figurent leur utilisation déjà dans l'assaisonnement de certains aliments et médicaments (donc non toxiques) d'une part et le manque de travaux de recherche sur les propriétés biologiques en particulier et les propriétés physiques et chimiques de leurs huiles essentielles d'autre part.



Photo n 02 : Feuilles d'*Eucalyptus camendulensis*

1.3. Matériel biologique

Les souches microbiennes utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaines, et proviennent l'isolement, purification et identification de la plante de fraisier au laboratoire de microbiologie de l'université de Porto. Et autres souches bactériennes ont été proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital du Sidi- abaz à Ghardaia le 13 février.

Ces bactéries font partie de deux groupes de microorganismes. Les tests de l'activité biologique ont été réalisés au niveau de laboratoire de l'université de Ghardaia, dont nous avons retenu les espèces suivantes :

1.3.1. *Staphylococcus vitulinus*

Staphylococcus vitulinus est un staphylocoque coagulase-négatif dans la famille Staphylococcaceae. Ce rapport décrit la séquence du génome de *Staphylococcus vitulinus* F1028, qui a été isolée d'un aliment de soja coréen traditionnel (meju). Cette séquence de génome de 2,56 Mbp est le premier génome de *Staphylococcus vitulinus* d'une souche isolée à partir d'un produit de soja fermenté (Ref. Elec 02).

1.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylocoques sont des cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tien une place très importante dans les infections communautaires (Cambers, 1997). *Staphylococcus aureus* est un germe aérobie-anaérobie facultatif (Avril, 2000).

1.3.3. *Staphylococcus blanc*

Staphylocoque blanc ou albus est une bactérie à coque de la famille des Staphylocoques. Contrairement au *Staphylococcus aureus*, il présente une coagulase négative. Il est naturellement présent sur la peau de l'être humain (presque 100% des individus en sont porteurs) où il fait partie de la flore naturelle. Cependant, en cas de déficit immunitaire ou d'implantation d'un matériel (prothèse chirurgicale, cardiaque...), il peut devenir dangereux et provoquer des infections dites opportunistes (Peirrick Horde, 2014).

1.3.4. *Enterobacter cloacae*

Bacille à gram négatif de famille Enterobacteraceae, mobiles non sporulés présent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux, responsable de l'infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverses et l'infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre (Danielle, 2011).

2. Méthodes

2.1. Protocole d'extraction d'huiles essentielles

L'extraction d'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus est réalisée au sein du laboratoire de recherche Génie des Procédés à la faculté des sciences de la technologie et sciences de la matière à l'université de Kasdi Merbah Ouargla. Le laboratoire s'occupe de l'extraction, la caractérisation et l'analyse des huiles essentielles et extraits végétaux des plantes aromatiques ainsi que la détermination de l'activité biologique.

Cependant, l'étude de l'activité antibactérienne qui a été réalisée au laboratoire de Microbiologie du département des sciences de la vie et de la nature d'université de Ghardaïa. Pour s'assurer du bon déroulement des tests expérimentaux, les essais sont répétés plusieurs fois. En outre, l'activité antifongique a été réalisée au sien de laboratoire de de Bioresseursse saharienne à Ouargla.

2.1.1. Extraction d'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis*

2.1.1.1. Dispositif d'extraction par hydrodistillation type Clevenger

L'extraction de l'huile essentielle (HE) des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis* au laboratoire de recherche Génie des Procédés a été faite par un hydrodistillateur de type Clevenger (1928). Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon de capacité de 2 L où nous plaçons 200 g du matériel végétal et de l'eau, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement de ballon une ampoule à décanter qui reçoit les extraits de la distillation et d'un thermomètre pour contrôler la température et éviter le surchauffage (photo n 03).



(Source : Dahou, 2017)

Photo n 03: Montage d'hydrodistillateur (Clevenger, 1928)

2.1.1.2. Conservation d'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous les avons conservées à une température voisine de 4 °C, dans un tube en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (Burt, 2004).

2.1.1.3. Détermination d'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les techniques de détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles, a une grande influence sur les résultats. Les difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (Bousbia, 2004).

2.2. Technique en milieu solide

2.2.1. Méthode d'aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antiogramme , (Satrani *et al.*, 2007 ; Benjilali, 1986). Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes (Pibiri, 2005).

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne d'huile essentielle de plantes recensée, en présence des germes testés. Des disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité d'huile essentielle et disposés sur une gélose inoculée avec les souches.

La diffusion d'huile essentielle dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition (figure n 03).

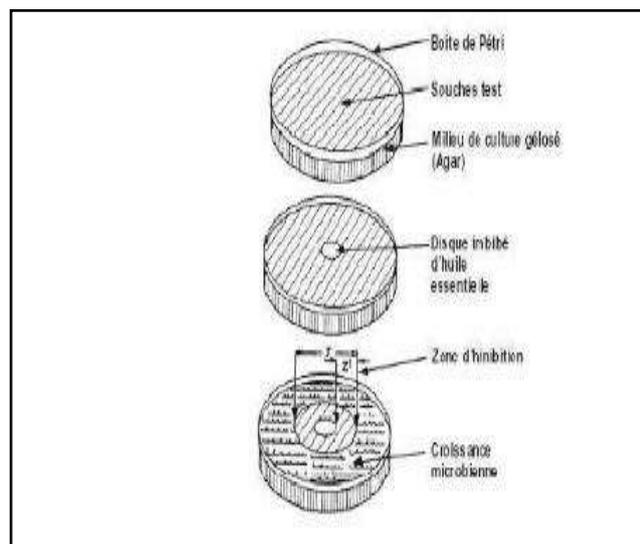


Figure n 03 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (Zaika, 1988)

2.2.1.1. Préparation de Milieu de culture MULLER-HINTON

Nous avons utilisé un milieu de culture Mueller Hinton qui un milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. C'est une Gélose riche en composés d'infusion de viande de bœuf, hydrolysate acide de caséine et amidon de maïs (Mayachiew *et al.*, 2008).

2.2.1.2. Préparations de l'inoculum

A partir des boîtes contenant les germes testés, nous préparons des suspensions microbiennes de Chacune (Photo n 04). Pour cela nous prenons avec une pipette pasteur une ou deux colonies et les mettrons dans un tube stérile contenant 9 ml d'eau physiologique, nous l'agitons et nous le laissons pendant 30 minutes pour les utiliser lors de l'ensemencement par inondation des boîtes qui hébergeront les disques imbibés dans des différents extraits ainsi obtenus (Photo n 05).

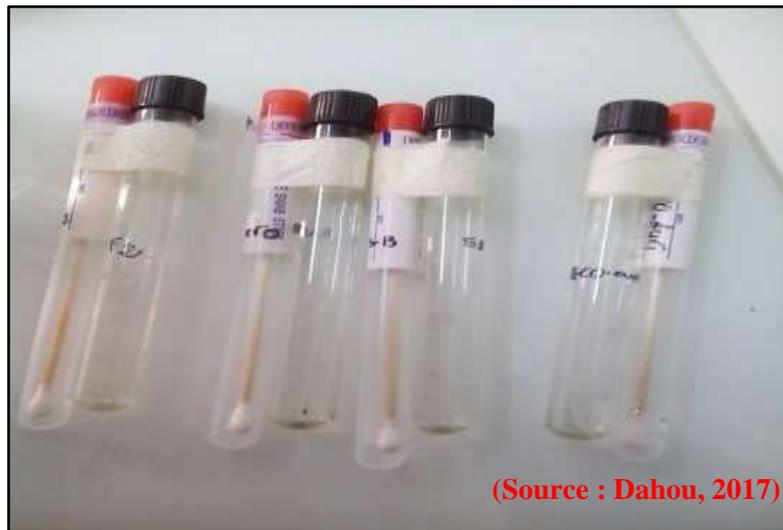


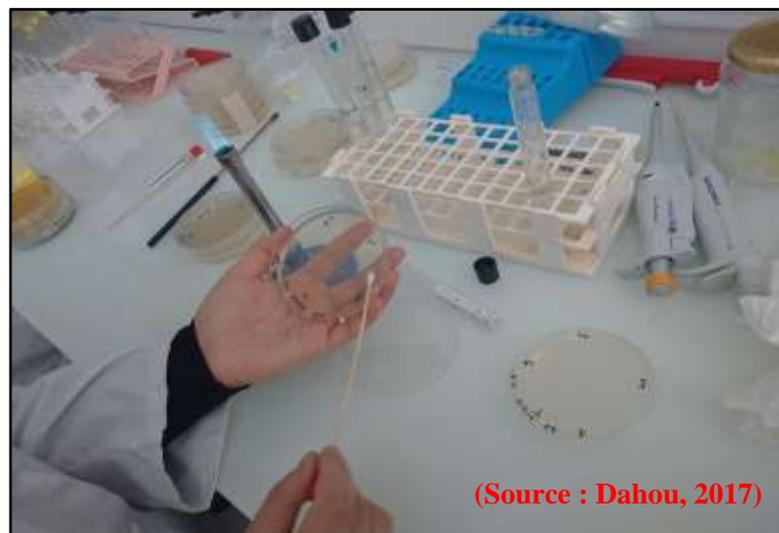
Photo n 04 : Inoculum des bactéries



Photo n 05 : Boites pétri coulées par milieu de culture

2.2.1.3. Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. La suspension microbienne préparée a été coulée sur gélose de Muller-Hinton par les écouvillons (photo n 06). Les boites ainsi ensemencées ont été mises à sécher pendant 5 min.



Photos n 06 : Méthode d'ensemencement

2.2.1.4. Préparation des disques

Les disques sont fabriqués à partir du papier filtre, ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave. Une fois le gélose Mueller – Hinton sont collés dans les boîtes, on a prélevé des différentes concentrations d'huile essentielle (HE) d'*Eucalyptus camendulensis* à savoir (5, 2.5, 1.25 μ l).

Les disques imbibés chaque fois à déférente concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen (photo n 07).

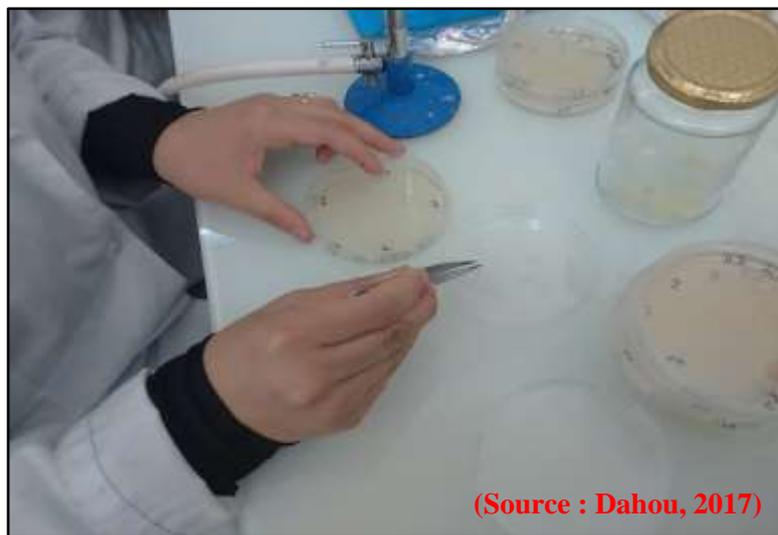


Photo n 07 : Dépôt des disques

Notre travaille sur l'activité d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur les quatres souches bactériennes a savoir : *Sataphylococcus vitulinus*, *Sataphylococcus aureus*, *Sataphylococcus blanc* et *Enterobacter cloacae*, sont résumées selon le protocole expérimental suivant (figure n 04) :

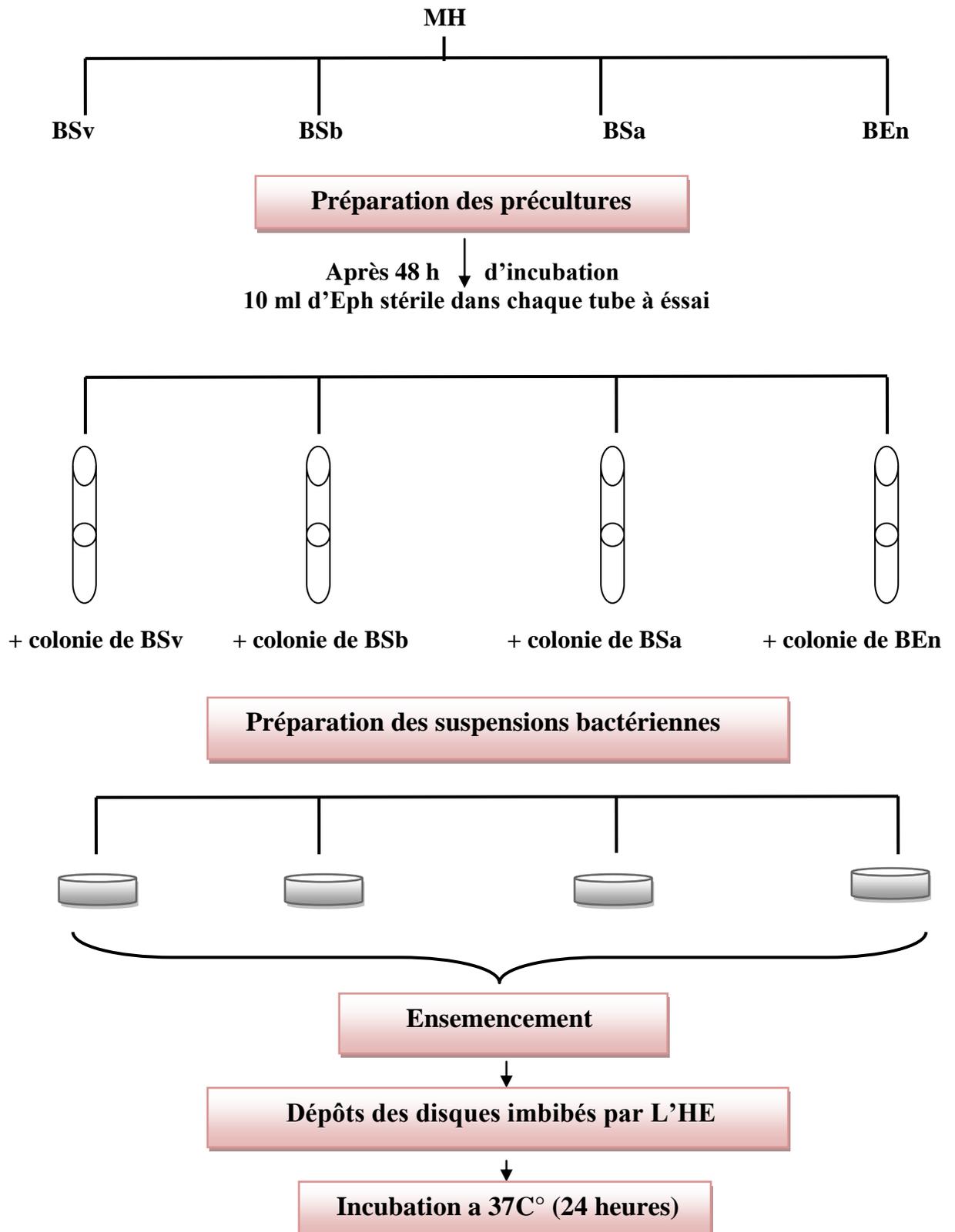


Figure n 04 : Protocole expérimentale de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*

B : Bactérie, **Sv** : *Staphylococcus vitilincus*, **Sb** : *Staphylococcus aureus*,
Sa : *Staphylococcus blanc*, **En** : *Enterobacter cloacae*, **Eph** : Eau physiologique

2.2.1.5. Incubation et Lecture

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre) pour les boîtes qui contiennent des disques imbibés des huiles essentielles. Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition.

Selon (Remdane, 2009), le résultat s'effectue par la mesure des diamètres d'inhibition comme suivant :

- Diamètre < 5mm: absence d'activité biologique ;
- Diamètre entre 5 et 10 mm: activité biologique faible ;
- Diamètre entre 10 et 16 mm: activité biologique moyenne ;
- Diamètre > 16 mm: activité biologique très forte.

2.3. Test Antifongique

2.3.1. Souches fongiques étudiées

Les souches fongiques utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations, et proviennent du laboratoire de l'Institut de l'Entomologie et Pathologie végétale, Université Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, Italie. Dans notre travail nous avons retenu les souches suivantes : *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

2.3.1.1. *Fusarium graminearum* ITEM 6477

Le nom de *Fusarium* vient de *fusus* latin, qui signifie une broche, *Fusarium* est un grand genre de champignons filamenteux largement distribués dans le sol et en association avec des plantes. La plupart des espèces sont saprobes inoffensives, et sont membres relativement abondantes de la communauté microbienne du sol. Certaines espèces produisent des mycotoxines dans les cultures de céréales qui peuvent affecter la santé humaine et animale si elles entrent dans la chaîne alimentaire (Mehani, 2015).

Fusarium graminearum infecte couramment l'orge s'il y a une pluie en fin de saison. Qu'il est de l'impact économique de l'industrie de brassicole, ainsi que l'orge fourragère. La contamination de *Fusarium* dans l'orge peut se provoquer en épi, et les contaminations extrêmes, de l'orge peut apparaître rose (Mehani, 2015).



(Source : (Dahou, 2017))

Photo n 08 : Souche fongique *Fusarium graminearum*

2.3.1.2. *Fusarium culmorum* MPVP/71\V

Fusarium culmorum est une espèce de champignons ascomycètes de blé famille des Nectriaceae. . C'est un agent phytopathogène, responsable de divers symptômes tels que fonte des semis, pourriture racinaire, fusariose de l'épi, pourriture de la tige etc..., chez de nombreuses espèces de plantes dicotylédones, en particulier chez les céréales. C'est l'un des champignons responsables de la pourriture sèche du tubercule de la pomme de terre (Elec 03).



Photo n 09 : Souche fongique *Fusarium culmorum*

Pour effectuer le test antifongique, nous avons adopté la méthode de contact direct. Ce test est réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté de microbiologie. Pour évaluer l'activité antifongique, nous avons préparé le milieu PDA (Potato Dextrose Agar ou pomme de Terre glucosée et gélosée): 39g de poudre PDA dans un 1L d'eau, stérilisé à l'autoclave à 120° C pendant 15 min (Terzi *et al.*, 2014).

2.3.2. Activité antifongique

Pour la réalisation de l'activité antifongique on a adopté la méthode de contact direct. Pour préparer les différentes concentrations on a prélevé des différentes concentrations D'huile essentielle (HE) d'Eucalyptus à savoir (0, 60, 120, 240 μ l) et ajuster a 60 ml par PDA puis on agite pendant 5 minute pour homogénéiser le milieu de PDA avec l'huile essentielles (Tableau n 03).

Tableau n03 : Valeurs des dilutions utilisées

HE μ l /50ml PDA	0	1	2	4
Concentrations d'HE (μ l)	0	60	120	240

7ml de mélange (PDA + HE+ Tween a 0,5%) a été coulé dans des boîtes de Pétri, Après le refroidissement et la solidification de ce mélange sur la paillasse des disques mycéliens de diamètre de 8mm de diamètre issue de la marge d'une culture âgée de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* ont été prélevé avec un emporte pièce et inoculé au Centre de chaque boîte (1disque/boîte) (Photo n 10). Chaque concentration est répétée trois fois. Les boîtes sont incubées dans l'obscurité à température de $25 \pm 2C^{\circ}$; Les témoins (PDA + *Fusarium* et PDA + Tween a 0,5% + *Fusarium*) sont réalisés dans les mêmes conditions sans huile essentielle et les mesures sont prélevées après 72 h d'incubation (Terzi *et al.*, 2014).

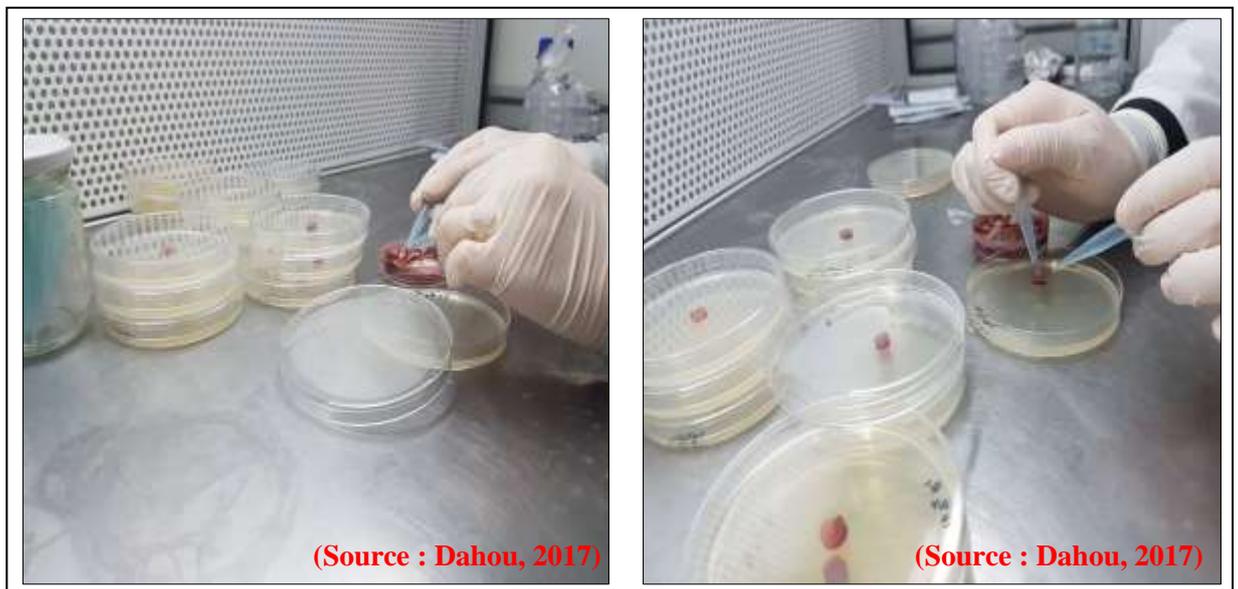


Photo n 10 : Dépôts des disques mycéliens

Notre travaille sur l'activité d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendensis* sur les deux souches fongiques soit *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* sont résumées selon le protocole suivant (figure n 05) :

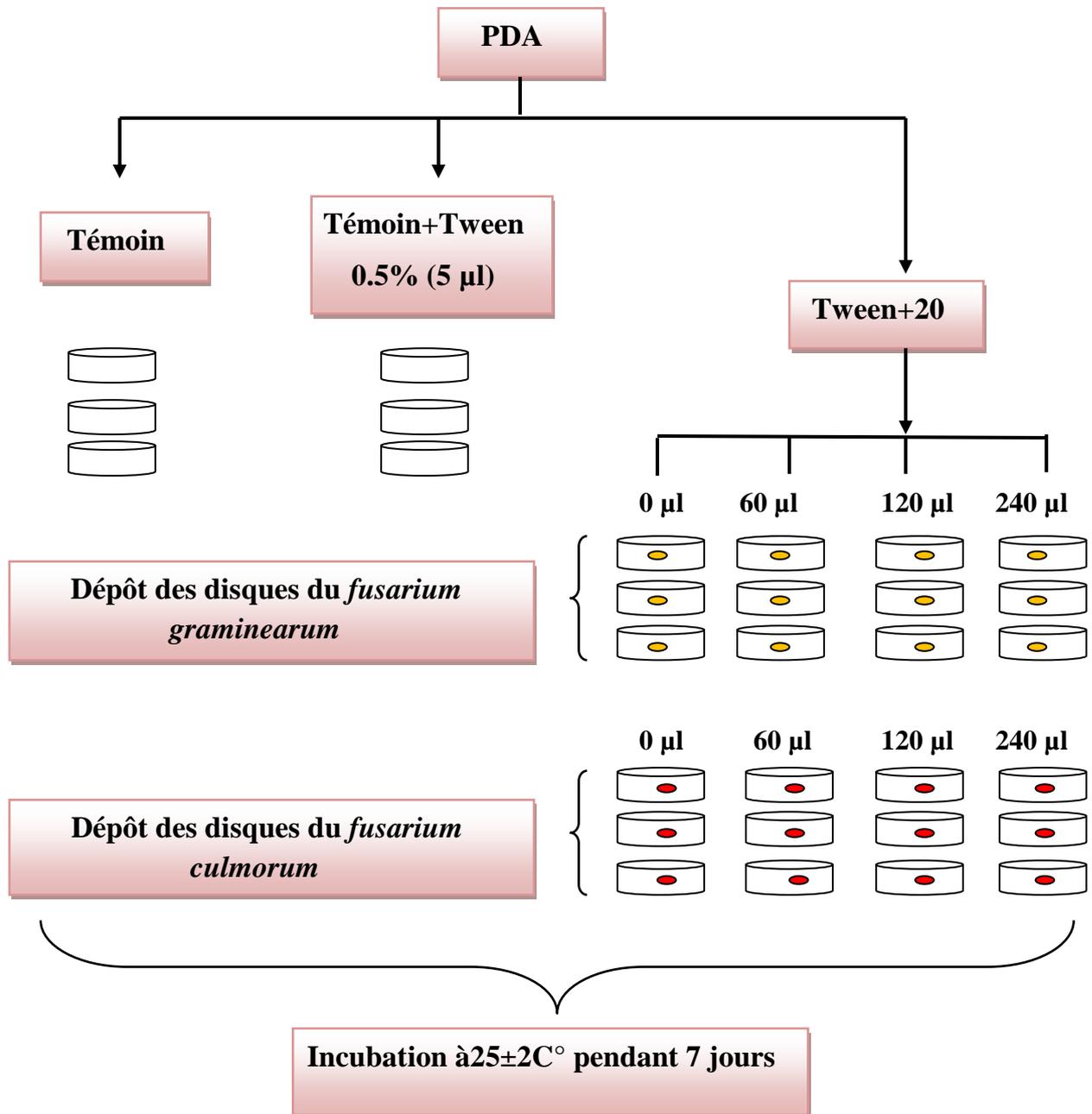


Figure n 05 : Protocole expérimental de l'activité antifongique d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*

2.4. Expression des résultats

2.4.1. Croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience, à savoir au bout de 168 h (7 jours) d'incubation, en mesurant la moyenne de trois diamètres sans prendre en compte le diamètre du disque. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins ayant démarré le même jour et dans les mêmes conditions (Benouaer, 2016)

2.4.2. Détermination de Taux d'inhibition

Pour cette méthode, la technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation (Kordali *et al.*, 2003).

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

TI(%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC : Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins »

dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

2.4.3. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

Selon (Cahagnier *et al.*, 1998), la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule suivante :

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

VC : Vitesse de croissance mycélienne exprimée en mm/h

D: Diamètre de la zone de croissance du chaque jour.

Te: Jour d'incubation.

Chapitre III
Résultats et discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

1. Résultats

Dans ce travail, nous avons effectué l'extraction d'huile essentielle de la partie aérienne d'*eucalyptus camendulensis* dont le rendement en huile essentielle est de bonne qualité qui dépend de plusieurs facteurs tels que : l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction...etc. Nous avons appliqué l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur les germes utilisées à partir de la méthode de l'aromatogramme pour les bactéries et par la méthode de contact direct pour les champignons.

1.1. Activité antibactérien

1.1.1. Sensibilité des bactéries à l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir Antibactérien d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* vis-à-vis de quatre bactéries Qui sont présentés dans le tableau n 04 suivant :

Tableau n 04 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'*Eucalyptus camendulensis*

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité à l'huile essentielle d'<i>Eucalyptus Camendulensis</i> (5,2.5,1.25 µl)
<i>Stahpylococcus vitilincus</i>	5mm	-
<i>Stahpylococcus aureus</i>	5mm	-
<i>Stahpylococcus blanc</i>	5mm	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	5mm	-

(++) : Très sensible, (+) : sensible, (-) : résistant

A l'issue des résultats mentionnés dans le tableau n 04, nous constatons que les différentes souches bactériennes étudiées réagissent de même réaction avec les différentes concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* testé, qui enregistrent un diamètre de zone d'inhibition qui ne dépassent pas 5mm.

1.2. Activité antifongique

L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne pour les différentes concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* et les deux souches fongiques *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Les résultats indiquent que la croissance mycélienne journalière pour le témoin est importante mais avec des diamètres différents qui dépendent du temps d'incubation.

1.2.1. Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur *Fusarium graminearum*

La croissance mycélienne final a été mesurée après 168 h (7ème jour) d'incubation et les résultats sont maintenus dans la Figure n 06 :

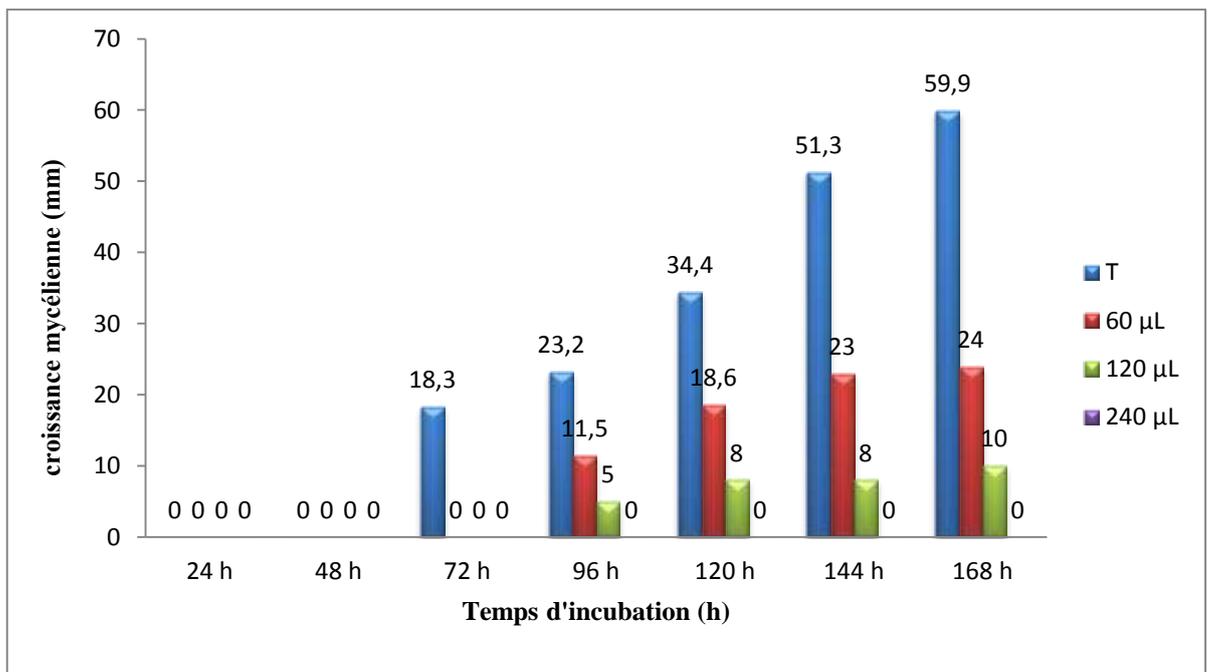


Figure n 06 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la Croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*

La figure n 06 présente l'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la Croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*, nous constatons que cette dernière a été démarrée après 72 h d'incubation dont le témoin négatif enregistre un diamètre de 18.3 mm jusqu'à 59.9 mm après 168 h. En outre, nous remarquons que l'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* à 60 µl enregistre un diamètre de 11.5 mm à 96 h jusqu'à 24

mm après 168 h et à 120 μl enregistre un diamètre de 5 à 10 mm après 168 h. Par contre aucun effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la Croissance mycélienne à 240 μl .

1.2.2. Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur *Fusarium culmorum*

Les résultats de l'effet Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* sont présentés dans le Figure n 07.

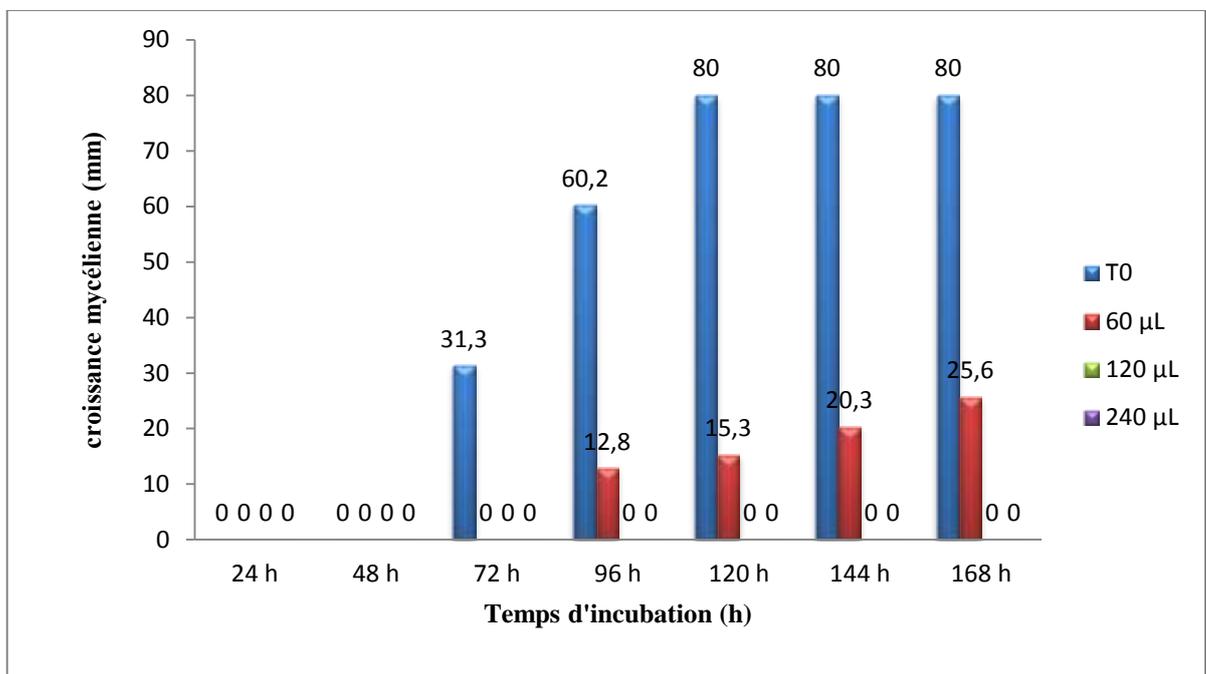


Figure n 07 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*

La figure n 08 présente effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*, nous constatons que cette dernière à été démarrée après 72 h d'incubation dont le témoin à 0 μl enregistre un diamètre de 31.1 mm jusqu'à 80 mm après 168h. En outre, nous remarquons que l'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* à 60 μl enregistre un diamètre de 12.6 mm à 96 h jusqu'à 25.8 mm après 168 h. Par contre aucun effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne à 120 μl et 240 μl .

1.2.3. Effet de différentes concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne

Les résultats de l'effet de différentes concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne finale de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* sont présentés dans le Figure n 08.

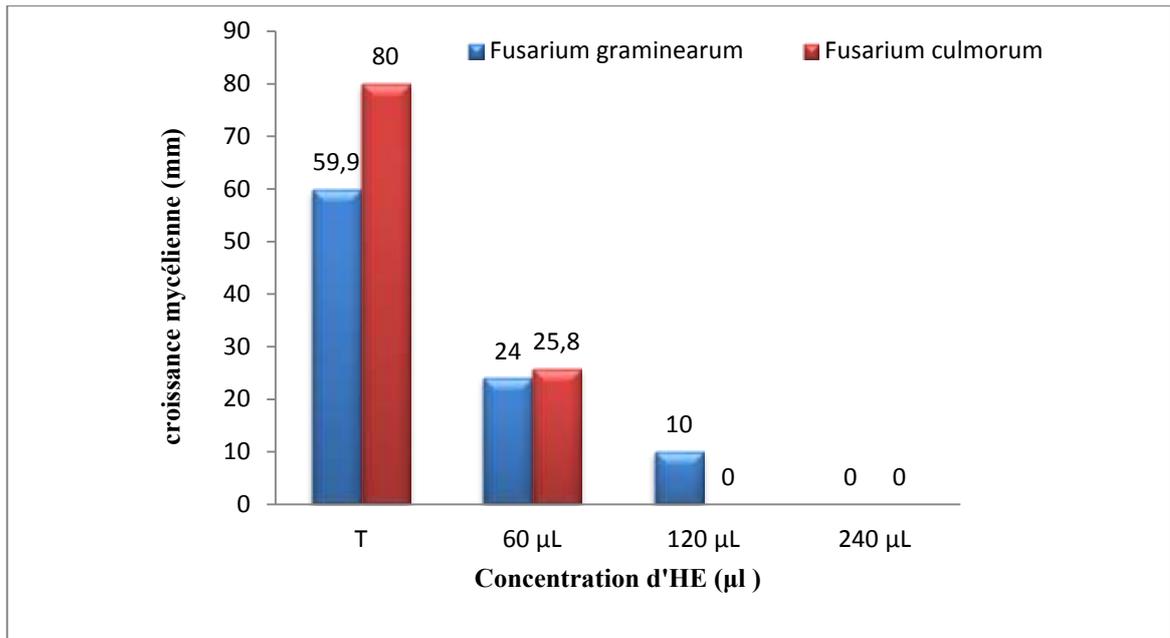


Figure n 08 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne finale de *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*

Les résultats de l'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la croissance mycélienne finale (après 168 h), présente que le plus grand diamètre de croissance mycélienne a été enregistré dans le témoin (sans traitement) à 59.9 mm pour *Fusarium graminearum* et à 80mm pour *Fusarium culmorum*. En outre, nous remarquons à la concentration 60 µl le diamètre de croissance mycélienne a été de 24mm et 25.8mm pour *Fusarium graminearum* et le *Fusarium culmorum* successivement.

L'effet d'huile essentielle à la concentration de 120 µl a été très efficace pour inhiber la souche fongique *Fusarium culmorum*. Par contre chez la souche fongique *Fusarium graminearum* qui enregistre un diamètre de 10 mm. En outre, nous remarquons que l'effet

inhibiteur d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* a été observé chez les deux souches testées à la concentration 240 μl par rapport au témoin.

Les croissances mycéliennes sont réduites avec l'augmentation de la concentration d'*Eucalyptus camendulensis* par rapport au témoin 0 μl . A partir de 60 μl , on note un début d'efficacité notamment pour le *Fusarium graminearum* avec une légère reprise de croissance mycélienne après 96 h à 120 μl et à 240 μl on note que l'absence totale c'est pour *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

1.2.3.1. Taux d'inhibition (TI%)

Le taux d'inhibition d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* chez les souches fongiques présenté dans la figure n 09.

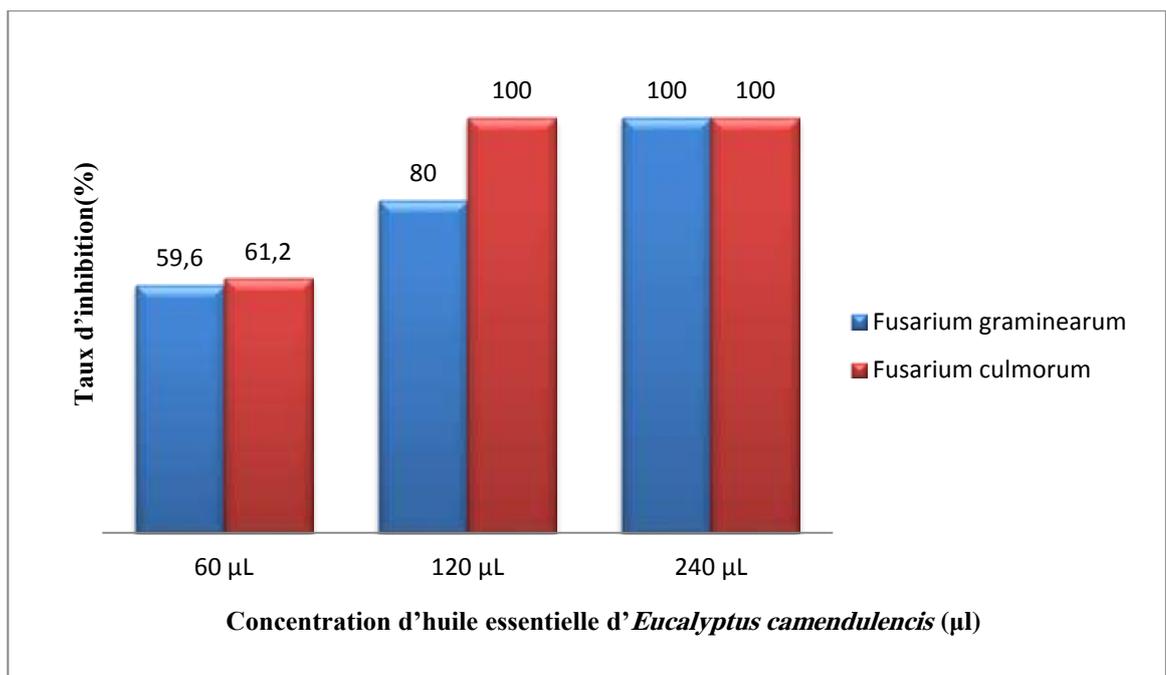


Figure n 09 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur le taux d'inhibition chez *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*

La figure n 09 montre que l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*, présente une activité inhibitrice différente, dont l'effet fongicide est de 100% (une inhibition totale) qui a été marquée par l'application d'une concentration de 240 μl contre les deux souches fongiques testées à savoir *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Selon les résultats enregistrés dans la figure n 09, nous trouvons que la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'*Eucalyptus camendulensis* est entre $> 60 \mu\text{l} < 120 \mu\text{l}$ pour le *Fusarium graminearum*, et entre $>120 \mu\text{l} < 240 \mu\text{l}$ pour le *Fusarium culmorum*.

La Photo n 11 et la photo n 12 montrent qu'il y'a une différence et modifications morphologiques et un changement de couleur. Par contre Chez les deux souches fongique testés pour le témoin (sans traitement), la couleur est rouge orangé. Pour la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* à $60 \mu\text{l}$ est de couleur blanche, ainsi que remarquable chez *Fusarium graminearum* à $120 \mu\text{l}$. En outre, à la concentration $240 \mu\text{l}$, nous remarquons l'absence de coloration qu'est due à l'absence de croissance mycélienne chez les deux souches fongiques testés *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

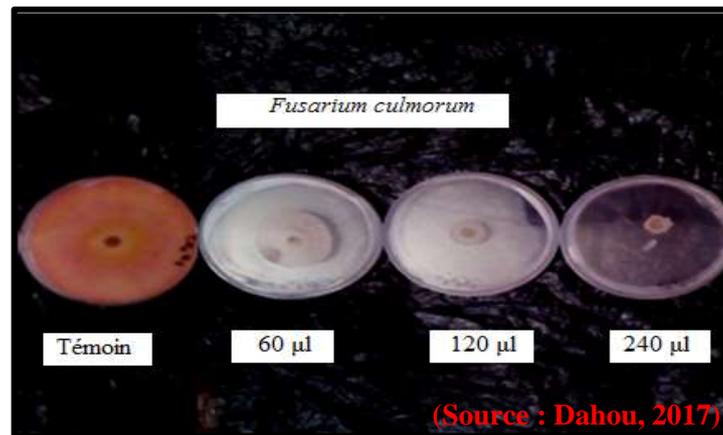


Photo n 12: Morphologie de la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum* après 07 jours d'incubation

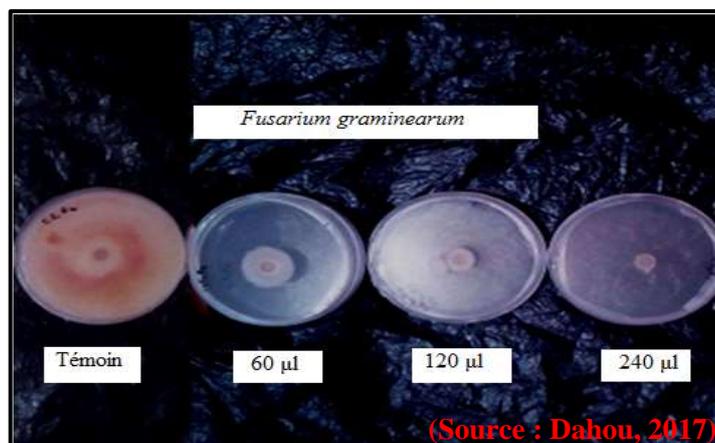


Photo n 13 : Morphologie de la croissance mycélienne du *Fusarium culmorum* après 07 jours d'incubation

1.2.3.2. Vitesse de croissance mycélienne

Les résultats d'Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*, sont présentés dans le Figure n 10.

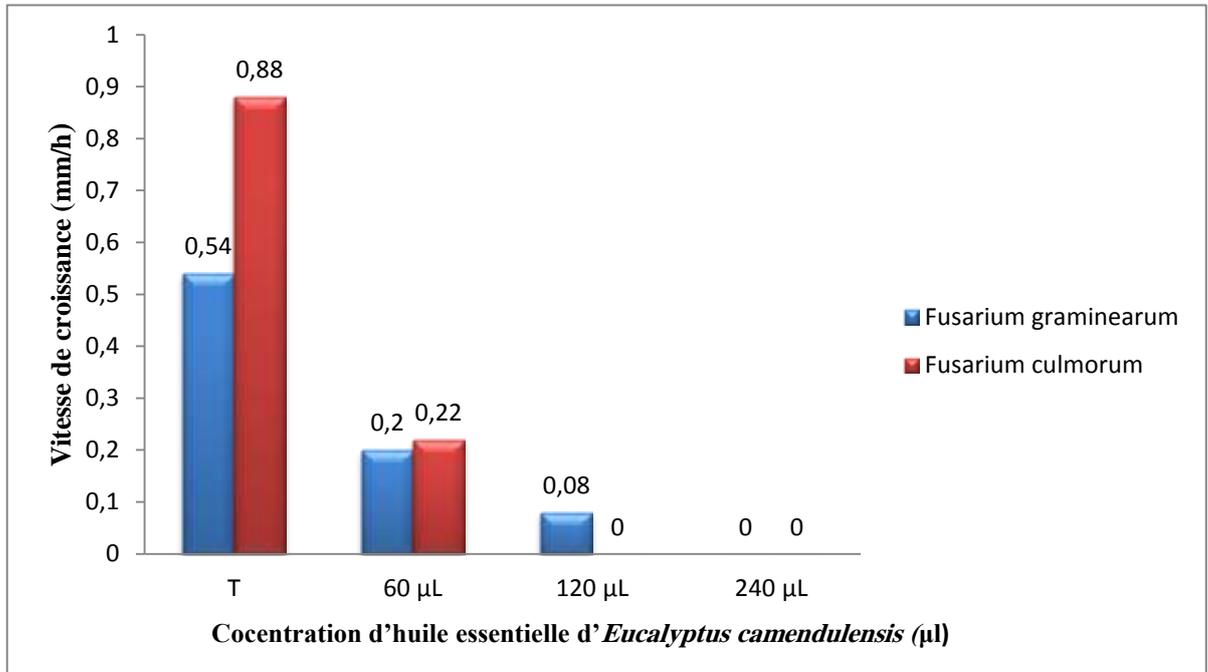


Figure n 10 : Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur la vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*

La figure n 10 présente la vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* en fonction de la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*, nous remarquons que la plus haute vitesse de croissance mycélienne est enregistrée en absence d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* (témoin) chez les deux souches fongiques avec une vitesse de 0.54 mm/h pour *Fusarium graminearum* et 0.88 mm/h pour *Fusarium culmorum*. La vitesse de la croissance mycélienne diminue avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle *Eucalyptus camendulensis* jusqu'à 0.08 mm/h pour *Fusarium graminearum* et 0.22mm/h pour *Fusarium culmorum*.

2. Discussions

En effet, le contrôle biologique à travers l'usage d'alternatives naturelles a donné beaucoup d'intérêt. Beaucoup de chercheurs ont noté que la possibilité d'utiliser l'huile essentielle de la plante comme une alternative naturelle efficace.

Dans la présente d'étude, nous avons testé uniquement l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*. Généralement, les huiles essentielles sont médiocrement solubles dans l'eau, ce qui pose beaucoup de problèmes pour étudier leur activité antibactérienne, ceci a été déjà rapporté par (Southwell *et al.*, 1993).

La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* vis-à-vis des bactéries testées. Les mesures du diamètre d'inhibition de notre huile essentielle ont effectuées à l'aide d'une règle ; la souche est dite sensible, lorsqu'une la zone d'inhibition circulaire se forme autour du disque, si la souche est résistante, le diamètre de cette zone diminuera jusqu'à une valeur nulle où nous pouvons remarquer une poussée de germes entourant le disque. Le résultat peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis d'huile essentielle (Ponce *et al.*, 2003).

Les données indiquent que les 4 souches présentent une résistance très forte vis-à-vis a cette huile essentielle avec un diamètre d'inhibition qui ne dépasse pas 5mm

Des résultats similaires ont été rapportés par (Mehani, 2015). Montre que chez les souches bactériennes : *P.aeruginosa* et *P.microsilis* ont une sensibilité vis à vis de l'huile essentielle d'Eucalyptus avec des valeurs égale à 11 et 12 mm. En outre, *E.coli*, *E.feacalis*, *E.cloaceai* et *K.pneumoni* marquent des valeurs proches avec une zone d'inhibition respectivement égale à 7, 8 et 9 mm, et ces souches n'ont pas une grande action inhibitrice (peu sensible) sur l'huile essentielle d'Eucalyptus. Par contre, notre huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* a un effet très faible qui est de (5mm) sur les souches bactériennes étudiées. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus blanc* sont .A partir de ces comparaisons on peut dire que notre huile essentiel à une activité très faible.

La recherche des effets antifongiques sur les souches rencontrées dans les champs de céréales a révélé une efficacité des huiles essentielles des plantes sur les souches fongiques testées à savoir *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*, ce qui confirme que les substances bioactives des plantes sont considérées comme des composés potentiellement efficaces contre les champignons pathogènes (Prabavathy *et al.*, 2006 ; Chang *et al.*, 2008).

D'après (Goudjil *et al.*, 2016), montrent que l'activité antifongique d'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* and *Stemphylium solani* est révélée par l'absence ou présence de croissance mycélienne. L'augmentation de la croissance mycélienne était signe dans les concentrations qui correspondent l'absence d'huile essentielle (témoin), par contre la croissance mycélienne elle est diminuée lorsque la concentration de huile essentielle augmente jusqu'à l'inhibition totale dans la concentration 0.75%. Par contre, dans notre expérience nous remarquons que l'inhibition totale d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur *Fusarium graminearum* à la concentration de 240 µl par contre chez le *Fusarium culmorum* est dans la concentration 120 µl.

Notre étude sur les souches fongiques d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* montre que la vitesse de la croissance de mycélium s'augmente avec l'absence d'huile essentielle (témoin), par contre la croissance mycélienne elle se diminue lorsque la concentration d'huile essentielle s'augmente jusqu'à l'inhibition totale à une concentration de 240 µl chez les deux souches fongiques testées.

D'après les résultats ont été rapportés par (Mehani, 2015). Montre que le diamètre de l'activité antifongique d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*, elle est de 55 mm (y compris le diamètre de disque), chez le *Fusarium sporotrichioides* qu'il a été remarqué par l'application d'une concentration de d'huile essentielle de 10 µl. Par contre, dans notre travail sur *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* elle est de 59.9 et 80 mm (y compris le diamètre de disque), qu'il a été remarqué par l'application d'une concentration de 60 µl d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*.

D'après Mohammedi *et al.*, 2005. l'huile essentielle de *Ciste* a été testée contre sept moisissures: *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*, montré que cette huile est très active sur toutes les souches. Cependant cette activité dépend de la concentration d'huile et de la souche fongique. L'huile essentielle a

manifesté un bon pouvoir antifongique. Les souches fongiques ont montré une sensibilité accrue à l'augmentation du volume de l'huile dans leur milieu de culture où le diamètre de la colonie se réduit à chaque fois qu'on augmente la dose de l'huile jusqu'à une inhibition totale où aucune croissance est observée.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail est de tester l'activité biologique et l'activité antifongique de la plante *Eucalyptus camendulensis* sur des souches bactériennes et fongiques pathogènes.

A l'issue de ce travail, visant à vérifier expérimentalement le bien fondé de l'extraction d'huile essentielle de la plante étudiée *Eucalyptus camendulensis* a été réalisée dans le présent travail une seule méthode est préconisée hydrodistillation. C'est la méthode la plus utilisée et la plus simple.

D'après les résultats trouvés, nous constatons que l'activité biologique de notre huile essentielle d'*Eucalyptus Camendulensis* vis-à-vis de quatre souches bactériennes est faible. *Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc* et *Enterobacter cloacae*, sont relativement résistants avec des zones d'inhibition ne dépassent pas le diamètre de 5mm.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle d'*eucalyptus camendulensis* vis-à-vis des souches fongiques à savoir : *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

A partir de nos résultats enregistrés, nous trouvons que la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'*Eucalyptus camendulensis* est entre $> 60 \mu\text{l} < 120 \mu\text{l}$ pour le *Fusarium graminearum*, et entre $>120 \mu\text{l} < 240 \mu\text{l}$ pour le *Fusarium culmorum*.

L'activité antifongique d'huile essentielle de la plante étudiée est avéré un agent antifongique efficace contre les deux souches. Cette activité antifongique peut être attribuée à la composition chimique d'huile essentielle.

L'activité antifongique croit au fur et à mesure avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle ce qui induit à la régression de la croissance mycélienne. Ceci a été observé à l'œil nu par une diminution des diamètres.

Nous avons noté que l'effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* est très efficace contre les souches fongiques testées au contraire qu'il y a une activité faible chez les souches bactériennes.

Enfin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle étudiée d'*Eucalyptus camendulensis* montre de bonnes activités antifongiques, capable de réduire la croissance mycélienne responsable d'altérations chez le blé. Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies (tests antioxydants, rendements, détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches fongiques, mode d'application, coût, essai sur d'autres souches microbiennes, etc...).

En perspectives pour l'avenir, cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'exploitation d'huile essentielle dans un projet d'utilisation de « Biofongicides » en agriculture en vue de préserver la santé humaine et contribuer à la protection de l'environnement.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- AMRAOUI K, 2014.** Etude *in vitro* de l'activité des huiles essentielles de quelques plantes Spontanées sur la croissance des moisissures associées aux graines des céréales.
- A.N.A.R.H., 2007.** Agence Nationale de Ressources Hydrique Afnor, (2000).
- AFNOR, 2000.** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles.
- ANONYME., 2008.** Toutes céréales, détection et identification des espèces de *fusarium* spp, et *microdochium nivale* sur grains de cereales par isolement mycologique semi-selectif et etude microbiologique. p : 28.
- ATLAS., 2005.** D.P.A.T.
- AVRIL J.L., DABERNAT, H., DENIS, F., MONTEIL, H. 2000.** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition Ellipses (Ed) Paris, 602 p.
- BABA AISSA F, 1999.** Encyclopedie des plantes Utiles. (ed.).edas. Pp. VIII, 12, 27, 48, 56,14. bactériologie Hygiène Toulouse.1-2.
- BEKHECHI C, ATIK-BEKKARA F, ABDELOUAHID D.E, 2008.** Composition et activités antibacterienne des huiles essentielles d'*origanum glandulosum* d'algerie phytothérapie.6 :p 153-159.
- BELKACEM S., 2009.** Investigation phytochimique de la phase n-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de *centaurea parviflora* (compositae). Mémoire magister, Université Mentouri – Constantine, pages1.
- BELKOU., BEYOUD E, et TALEBBAH MEDZ, 2005.** Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*mentha spicata* Z) dans la région d'Ouargla. Univ , Ouargla.
- BELOUED A, 2005.** Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger,p124.

BEN SEMAOUNE., 2008. Les parcours Sahariens dans la nouvelle dynamique spatiale. Contribution à la mise en place d'un schéma d'aménagements et de gestion de l'espèce (S.A.G.E)-cas de la région de Ghardaïa. Thèse. Mag. UIV, Ouargla, 69 p.

BENAYAD N, 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair, département de chimie , faculté des sciences de rabat.

BENJILALI B, 1986. Etude de trois plantes aromatiques et médicinales du Maroc: armoises, thym et origan. Chimie de leurs huiles essentielles, chimiotaxonomie et propriétés antimicrobiennes. Doctorat ès-Sciences Agronomiques IAV Hassan II. Rabat – Maroc.

BENOUAER M, 2016. L'activité antifongique des extraits aqueux et des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur des champignons potentiellement mycotoxigéniques du blé dur (*Triticum durum* var VITRON). Mas. UIV, Ouargla.

BENZEGGOUTA N, 2004. Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Thèse présentée en vue de l'obtention.

BESSEDIK M., LARBI K B., 2015. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmiers dattier (*Phoenix dactylifera* L).

BIGENDA KO J, 2004. Identification et zonage des *Eucalyptus globulus* au rwanda.chemonics international inc. projet adar. p01.

BOUAMER A, BELLAGHIT M ET MOLLAY AMERA, 2004. Etude comparative entre l'huile essentielle de la Menthe vert et la Menthe poivrée de la région d'ouargla, mémoire des unive -d'ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.

BOUAMER A., BELLAGHIT M., MOULAY O, 2005. Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L) dans la région d'ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla, p41.

BOUGUELMOUNA F., 2014. Extraction et Etude biologique de trois plantes : *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*.

BOUKEF K, 1986. Les Plantes Dans La Médecine Traditionnelle Tunisienne. Agence de Coopération Culturelle Et Technique, Paris.

BOUKHARI N., 2014. Etude Microbiologique de deux plantes spontanées de Sahara Septentrional : *Cotula cinerea Del. Et Chamomilla recutita L*.

BOUSBIA N. 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles nigelle.

BRUNETON, J. 1999. Pharmacognosie- phytochimie- plantes medicinales. 3e édition.

BURT S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology 94.p:223-253.

CAHAGNIER B. & RICHARD-MOLARD D., 1998. Moisissures des aliments peu-hydratés, les moisissures. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Ed. : Lavoisier. p : 39 -41.

CAMBERS, G. 1997. Planning for coastline change. Guidelines for construction setbacks in the eastern Caribbean islands. CSI info 4, UNESCO, Paris, 14 pp.

CHANG, S.T., WANG, S.Y., WU, C.L., SU, Y.C, KUO, Y.H. 1999. Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania (Taiwania cryptomerioides Hayata)* heartwood. *Holzforschung*, pp:53-487-490.

CLEVINGER J.F., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 17,345-349. coriandre, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antimicrobiennes. Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, Institut National Agronomique, Alger (Algérie).

DANIELLE C., 2011. Fiche technique bacterologie : enterobacter cloacae.laboratoire de du diplôme de magister en pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine. P5.

FOUCHE J.G; MARQUET A; .HAMBUCKERS A, 2008. Les Plantes Médicinales de la plante Au médicament conception et Réalisation.

- FRANCHOMME P et PENOEL D, 1990.** Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R. Jollois Edit., Limoge, 446p.
- GHEDAIRI N, 2015.** Contribution à l'étude de l'effet antifongique ed l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana*.
- GILLES M, 2008.** Isolement et caractérisation chez l'Eucalyptus de gènes codant les facteurs de transcription CBF impliqués dans la réponse au froid, université de toulouse.
- GOUDJIL M.B, LADJEL S, BENCHEIKH S.D, HAMMOYA F, BENSASI M.B, ZIGHMI S, MEHANI M, 2016.** Bioactivity of *Artemisia Herba-alba* essential oil against plant pathogenic fungi. CODEN (USA): PCHHAX. Der Pharma Chemica, 2016, 8(3):46-52.
- GOUMNI Z., SALHI A., 2013.** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurus Nobilis L.* Université de kasdi Merbah Ouaregla. P : 18.
- GROVER JK, YADAV S, VATS V, 2002.** Medicinal Plants Of India With Anti-Diabetic Potential. Journal Of Ethnopharmacology. 81(1): 81-100. Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41; pp. 1153-1159.
- INSTITUE EUROPEENNE DES SUBSTANCES VEGETALES, 2016.**les plantes médicinales p3.
- JOHNSON AW., 2003.** Invitation à la chimie organique. Editions De Boeck, Paris. .
- KHELIL M. A., 1977.** Influence de la chaleur utilisée comme moyenne de lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. These Ing. Agr. INA, 77p.
- KHIATI M., 1998.** Guide des maladies infectieuses et parasitaires. O PU, Alger.
- KORDALI S., CAKIR A., ZENGIN H.& DURU M. E,2003.** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*. 74 p: 164-167.**MAGAN et al**
OLSEN., 2004.

MAYACHIEW P., DEVAHASTIN S., 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*41; pp. 1153-1159

MEHANI M, 2015. Utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique, université de Kasdi Merbah Ouargla.

MOHAMMEDI Z., 2005. Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Magistère. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. P : 105.

MOHAMMEDI Z., 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. P 84

MOKKADEM A, 1999. Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. In *Revue Vie et Nature* n 7 1999. pp.24 – 26.

MORCIA C et TERZI V., 2011. Plant essential oils and their components for the control of phytopathogen and mycotoxigenic fungi in crops. In: A. Mendez-Vilas editor. *Science and Technology Against Microbial Pathogens. Research, Development and Evaluation.* 2011. 13: 114-117.

ORMENO E, FERNANDEZ C, MEVY J.P. 2007. Plant coexistence Alters terpene emission and content of Mediterranean Species-*Phytochemistry*.68 : 840-852.

OUSSALA M; CAILLET S; SAUCIER L. 2006. Lacroix m-antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a pseudomonas putida strain isolated from meat-*meat science*.73 : 236-244

OZENDA P., 1991. Flore et végétation du Sahara. In : CNRS (Ed.), Paris.p.9- 13.

PFOHLN-LESZHOWICZ, A., 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque. Lavoisier, collection Tec et Doc, 1999.478 pages. Pibiri, 2005).

PONCE A.G., FRITZ R., DE LVALLE C. ET ROURA S.I., 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, 36 :pp679-684.

PRABAVATHY V.R., MATHIVANAN N., SAGADEVAN E., MURUGESAN K., LALITHAKUMAN D., 2006 : Self-fusion of protoplasts enhances chitinase production and biocontrol activity in *Trichoderma harzianum*. *Bioresour. Technol* 97, 2330-2334.

REMDANE F, 2009. Analyse et caractérisations de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius graveolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de Magister, Université KASDI Merbah d'Ouargla p 16.88.

SALHI N., GOUMNI Z., SALHI A., MEHANI M., TERZI V., 2005. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus Nobilis L.* sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide*. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes Vol.8 n2* (2015) : 34-44.

SANDRINE, 2006. Warot préparatrice en pharmacie. Les Eucalyptus utilisés en aromathérapie, Mémoire de fin de formation en phyto-aromathérapie.P3-8-9.

SATRANI B., FOUGRACH H., BOURKHISS B., BOUSTA D., et TALBI M., 2007. « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* ». *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, pp : 85-96Southwell *et al.*, 1993).

SROKA Z, 2005. Antioxidative and Antiradical properties of plant phenolics. *Z.naturforsch C* 60, (11-12): 833-843.Technique & Documentation. 1120 pages.

TEIXEIRA DE SALIVA., 2004. Mining the essential oil of the anthemideae, African journal of biotechnology 3(12), 706, 720.Tesche *et al.*, 2008.

TERZI V., TUMINO G., STANCA A.M., MORCIA C. 2014. Reducing the incidence of cereal head infection and mycotoxins in small grain cereal species. *Journal of Cereal Science*, 59, 284-293.

TESCHE, S; METTERNICH F, 2008. The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. results of a double-blind, randomised, controlled trial. *arch. otorhinolaryngo.* 1265 (11) :1355-1359.

TOHIDPOUR A, SATTARI M, OMIDBAIGI R et al. 2010. antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against methicillin-resistant staphylococcus aureus (mrsa).*phytomedicine.* 17(2): 142-5. Tome 2.6ième édition. AFNOR, Paris.

- VERDRAGER J., 1978.** Ces médicaments qui nous viennent des plantes, Ed. Maloine S.A.
- YAHYAOU N, 2005.** Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata* L. sur *Rhyzoperlhu dominicu* (F.) (*Coleoptera, Bostrychidae*) et *Tribolium confusm* (Duv) (*Coleoptera, Tenebrionidae*). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach, Algérie.
- ZAIKA, L. L. 1988.** "Spices and Herbs - Their Antimicrobial Activity and Its determination" Journal of Food Safety, pp 97-118.
- ZERGOUN Y., 1994.** Bioécologie des peuplements Orthoptérologique de trois stations : palmeraies, cultures maraîchères et non cultivés, Beni- Izguen et Ghardaïa. Thèse Mag. Agr .Inst. Agr. El HARRACH, 110p.

Références électroniques

Elec 01 : <https://sites.google.com/site/medicinalesplantes/historique-des-plantes-medicinales>

Elec 02 : Peirrick Horde, 2014. Santé –médecine.net

Elec 03 : <http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Les+fiches+pratiques/fusaculmo>

Annexes

Annexe I



Séparation d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*



Huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*



Préparation des disques mycéliens



la hotte



Autoclavage des milieux de culture



Tween

Annexe II

		72 h	96h	120 h	144h	168h
<i>Fusarium graminearum</i>	Témoin	27.2	25	34.4	51.5	64.6
	60 µl	1	11.5	18.6	23	24
	120 µl	0	5	8	8	10
	240 µl	0	0	0	0	0
<i>Fusarium culmorum</i>	Témoin	31.3	60.2	80	80	80
	60 µl	1	12.8	13.3	14.8	25.8
	120 µl	0	0	0	0	0
	240 µl	0	0	0	0	0

Croissance mycélienne (mm) du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* en fonction du temps (h) d'incubation et de la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* (µl)

Annexe III

	60 μl	120 μl	240 μl
<i>Fusarium graminearum</i>	59.6	80	100
<i>Fusarium culmorum</i>	61.2	100	100

Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* en fonction du temps d'incubation et de la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* (μ l)

	Témoin	60 μl	120 μl	240 μl
<i>Fusarium graminearum</i>	0.54	0.20	0.08	0
<i>Fusarium culmorum</i>	0.88	0.22	0	0

Vitesse de la croissance mycélienne (mm/h) du *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* en fonction du temps d'incubation et de la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* (μ l)

Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur l'activité bactérienne et fongique

Résumé : L'objectif de notre étude est de tester l'huile essentielle des feuilles de la plante *Eucalyptus camendulensis*, extraites par la méthode d'hydrodistillation comme des biobactéricides et biofongicides.

L'efficacité d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* pour différentes concentrations (5, 2.5, 1.25 µl), sur quatre souches bactériennes à savoir (*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc*, *Enterobacter cloacae*), et a des concentrations (60, 120, 240 µl), sur deux souches fongiques à savoir : *Fusarium graminearum* et *Fusarium colmurum*, est estimée par la détermination du taux d'inhibition des bactéries et des champignons testés.

Les résultats montrent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* possède une faible activité contre les souches bactériennes avec les différentes concentrations, dont les diamètres d'inhibition ne dépassent pas (5mm), par contre il a un bon effet antifongique par ce qu'elle a montré une dose inhibitrice totale de 240 µl.

Mots clés : *Eucalyptus camendulensis*, Huile essentielle, Activité antibactérienne, Activité antifongique, Extraction.

Effect the essential oil of *Eucalyptus camendulensis* on bacterial and fungal activity

Abstract : The aim of our study is to test essential oil of the leaves of the plant *Eucalyptus camendulensis*, it Was extracted by the extraction method as bio bactericides and biofungicides pathogens.

The effectiveness of each essential oil of *Eucalyptus camendulensis* at different concentrations (5, 2.5, 1.25 µl), on four bacterial strains belong to :(*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc*, *Enterobacter cloacae*), and has concentrations (60, 120, 240 µl), on two the fungal strains belong to: (*Fusarium graminearum* et *Fusarium colmurum*. was estimated by determining the rate of growth inhibition of bacteria and of the fungus tested.

Our study indicates the lowliness activity of essential oil of *Eucalyptus camendulensis* against bacterial strains with all different concentrations, in which inhibition diameter do not exceed (5 mm), However a good antifungal effect manifested by a the total inhibitory dose of 240 µl.

Key words : *Eucalyptus camendulensis*, Essential oil, Antibacterial activity, Antifungal activity, Extraction.

تأثير الزيت الأساسي لنبات الكاليتوس *camendulensis* على النشاط البكتيري و الفطري

المخلص : نهدف خلال دراستنا من استخدام الزيت الأساسي المستخلص من أوراق نبات الكاليتوس *camendulensis* بواسطة التقطير البخار إلى كيفية تأثيرها كمبيدات حيوية ضد بعض من أنواع البكتيريا والفطريات الممرضة.

تم اختبار الزيت الأساسي لنبات الكاليتوس *camendulensis* بتركيزات مختلفة (5, 2.5, 1.25 µl) على أربع سلالات بكتيرية و المتمثلة في : (*Staphylococcus vitilincus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus blanc*, *Enterobacter cloacae*)، وبتراكيز (60, 120, 240 µl)، على نوعين من الفطريات و المتمثلة في : *Fusarium colmurum*, *Fusarium graminearium*. تم تقدير فعالية كل تركيز من خلال قياس النمو الفطري عند نبات الكاليتوس *camendulensis* ثم حساب نسبة تثبيط نمو كل من البكتيريا و الفطريات.

أظهرت النتائج أن الزيت الأساسي لنبات الكاليتوس *camendulensis* لديه نشاط ضعيف ضد السلالات الأربع من البكتيريا مع جميع التراكيز المختلفة موضحة بنسبة تثبيط لا تتجاوز 5 مم، بالمقارنة مع النشاط المضاد للفطريات فنجد فعالية تامة عند التركيز 240 µl.

الكلمات الدالة : *camendulensis* الكاليتوس، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، استخلاص.